

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240726003

# 曲霉液态发酵制备藜麦肽及其抗氧化活性研究

李钰洋, 叶春江\*, 王元秀\*

(济南大学生物科学与技术学院, 济南 250022)

**摘要:** **目的** 研究曲霉液态发酵条件对藜麦肽得率的影响, 通过单因素实验和正交实验优化藜麦肽发酵液制备工艺, 并对优化后的藜麦发酵液进行抗氧化活性研究。**方法** 以藜麦为原料, 经过糖化、液化后, 采用单因素实验考察黑曲霉和米曲霉的接种比例、接种量、发酵时间、料液比对藜麦发酵液中肽得率的影响, 通过正交实验以发酵液藜麦肽得率为指标, 对藜麦肽的发酵工艺进行优化, 并对优化后的藜麦发酵液进行 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基清除、羟自由基清除以及超氧阴离子清除能力的研究。**结果** 制备藜麦肽发酵液的最佳条件为黑曲霉与米曲霉接种比例为 1:2、接种量 8%、料液比 7%、发酵时间 48 h, 在此条件下藜麦发酵液中多肽得率为 37.73%±0.70%, 其中藜麦肽发酵液对羟自由基清除率的半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)为 89.02 μg/mL, 对 DPPH 自由基清除率的 IC<sub>50</sub> 为 403.2 μg/mL, 对超氧阴离子自由基清除率的 IC<sub>50</sub> 为 568.44 μg/mL, 其清除率分别为 92.34%、87.56%、67.50%。**结论** 经过曲霉发酵有利于藜麦大分子的降解和小分子的转化, 可得到富含小肽并具有抗氧化功能的藜麦产品, 为以后藜麦发酵产品的开发提供数据参考。

**关键词:** 藜麦; 藜麦发酵液; 藜麦肽; 曲霉

## Preparation of *Chenopodium quinoa* Wild peptide by *Aspergillus* liquid fermentation and study on its antioxidant activity

LI Yu-Yang, YE Chun-Jiang\*, WANG Yuan-Xiu\*

(School of Biological Science and Technology, University of Ji'nan, Ji'nan 250022, China)

**ABSTRACT: Objective** To study the effects of liquid fermentation conditions of *Aspergillus* on the yield of *Chenopodium quinoa* Wild peptides, to optimize the preparation process of *Chenopodium quinoa* Wild fermentation broth by one-way and orthogonal tests, and to investigate the antioxidant activity of the optimized *Chenopodium quinoa* Wild fermentation broth. **Methods** *Chenopodium quinoa* Wild was used as raw material, after saccharification and liquefaction, a single factor experiment was used to investigate the effects of inoculation ratio, inoculation amount, fermentation time and solid-liquid ratio of *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae* on the polypeptide content in *Chenopodium quinoa* Wild fermentation broth. The orthogonal experiment was used with the polypeptide yield of *Chenopodium quinoa* Wild fermentation broth as an indicator to optimize the fermentation process

**基金项目:** 山东省重点研发计划项目(2018YYSP028)

**Fund:** Supported by the Key Research and Development Program of Shandong Province (2018YYSP028)

\*通信作者: 叶春江, 副教授, 主要研究方向为生物技术与应用。E-mail: chm\_yecj@ujn.edu.cn

王元秀, 教授, 主要研究方向为生物活性物质制备。E-mail: chm\_wangyx@ujn.edu.cn

\*Corresponding author: YE Chun-Jiang, Associate Professor, School of Biological Science and Technology, University of Ji'nan, No.336, South Xinzhuang West Road, Shizhong District, Ji'nan 250022, China. E-mail: chm\_yecj@ujn.edu.cn

WANG Yuan-Xiu, Professor, School of Biological Science and Technology, University of Ji'nan, No.336, South Xinzhuang West Road, Shizhong District, Ji'nan 250022, China. E-mail: chm\_wangyx@ujn.edu.cn

of *Chenopodium quinoa* Wild peptide, the optimized *Chenopodium quinoa* Wild fermentation broth was also studied for 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine (DPPH) radical scavenging, hydroxyl radical scavenging, and superoxide anion scavenging capacity. **Results** The optimal conditions for preparing *Chenopodium quinoa* Wild peptide fermentation broth were an inoculation ratio of 1:2 between *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae*, an inoculation amount of 8%, a feed to liquid ratio of 7%, and a fermentation time of 48 hours. Under these conditions, the peptide yield in *Chenopodium quinoa* Wild fermentation broth was  $37.73\% \pm 0.70\%$ , and the half maximal inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) of *Chenopodium quinoa* Wild peptide fermentation broth was  $89.02 \mu\text{g/mL}$  for hydroxyl radical scavenging,  $403.2 \mu\text{g/mL}$  for DPPH radical scavenging, and  $568.44 \mu\text{g/mL}$  for superoxide anion radical scavenging, with scavenging rates of 92.34%, 87.56%, and 67.50%, respectively. **Conclusion** After *Aspergillus* fermentation is conducive to the degradation of *Chenopodium quinoa* Wild macromolecules and the transformation of small molecules, *Chenopodium quinoa* Wild products rich in small peptides and antioxidant function can be obtained, providing data reference for the development of *Chenopodium quinoa* Wild fermentation products in the future.

**KEY WORDS:** *Chenopodium quinoa* Wild; *Chenopodium quinoa* Wild fermentation broth; *Chenopodium quinoa* Wild peptide; *Aspergillus*

## 0 引言

藜麦(*Chenopodium quinoa* Wild), 苋科藜属植物, 原产于南美洲安第斯山脉高原地区, 具有大约 5000~7000 年的种植历史<sup>[1]</sup>。藜麦是全谷全营养完全蛋白碱性食物, 与小麦、水稻等传统粮食作物相比富含优质蛋白、多不饱和脂肪酸、膳食纤维、维生素和矿物质<sup>[2-4]</sup>, 是联合国粮农组织推荐的唯一全营养食品<sup>[5]</sup>。藜麦蛋白质的氨基酸组成接近于酪蛋白, 是优质的植物蛋白资源<sup>[6]</sup>, 几乎不含各类麸质成分, 使藜麦成为一种良好的无麸质替代品<sup>[4]</sup>, 适合乳糖患者食用<sup>[7]</sup>。此外, 藜麦还含有多酚、黄酮、皂苷、植物甾醇等多种功能活性成分, 因此藜麦种子具有一系列生物活性, 如抗氧化、降血糖、免疫调节、降血脂等功能<sup>[8-11]</sup>。

研究表明, 以藜麦蛋白制备的藜麦肽具有抗氧化、抗菌、免疫调节、降血压以及血糖调节等功能。王雷等<sup>[12]</sup>采用乳酸菌对藜麦粉进行发酵并鉴定出氨基酸序列为 LENS GDKKY 的抗氧化肽。周浩纯等<sup>[13]</sup>经液相色谱-质谱法 (high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS) 鉴定筛选出藜麦肽段 MMFPH, 在质量浓度为  $0.5 \text{ mg/mL}$  时淀粉酶抑制活性为 66.41%, 具有明显的降血糖作用。VILCACUNDO 等<sup>[14]</sup>从体外模拟藜麦蛋白消化物中分离出 17 种具有抗癌生物活性的肽, 另外采用胃蛋白酶对藜麦进行体外模拟消化后检测得到的藜麦肽含有 38.87% 的疏水性氨基酸, 能够有效抑制血管紧张素转化酶 (angiotensin I-converting enzyme, ACE) 的活性。此外藜麦水解肽在抗炎、降胆固醇等方面均表现出积极作用<sup>[15-16]</sup>。

微生物发酵能够有效地分解和转化生物大分子并产生酶和各种次级代谢产物, 通过降解抗营养物质、产生有益的成分来改善食品的营养特性<sup>[17]</sup>。且微生物发酵法工艺简单、价格低廉, 更易实现工业化大规模生产<sup>[18]</sup>, 可产生

酒精、乳酸等风味物质, 能直接掩盖苦味。研究表明, 通过微生物发酵法制备的小肽产品的颜色、风味、适口性及营养均优于酶解法制备的产品<sup>[19]</sup>。藜麦富含碳水化合物和蛋白质这一特性可使藜麦本身作为发酵原料, 目前常用的发酵菌种有枯草芽胞杆菌、乳酸菌、曲霉菌等。王姣琳等<sup>[20]</sup>、俞瑜媛等<sup>[21]</sup>采用混合发酵藜麦制备藜麦 ACE 抑制肽, 经过对发酵条件的优化后 ACE 抑制率分别可达 83.13% 和 64.22%。延莎等<sup>[22]</sup>对比了不同菌种(酵母菌、植物乳杆菌及其混合菌)发酵对藜麦蛋白质水解及脂质变化的影响, 为藜麦发酵食品的开发提供理论参考。李帅等<sup>[23]</sup>探究利用益生菌发酵藜麦制备 ACE 抑制肽, 其抑制率可达  $90.41\% \pm 0.16\%$ , 通过分离纯化得到两条 ACE 抑制肽 NIFRPFAPEL 和 AALEA-PRILNL, 可用于降血压功能食品或者药品的开发。

黑曲霉和米曲霉是国际公认的美国食药局评价食品添加剂安全性指标(generally recognized as safe, GRAS)菌株, 具有极强的糖化酶和蛋白酶生成能力<sup>[24]</sup>, 除此之外还可以产生淀粉酶、糖化酶、纤维素酶、植酸酶等, 因此被广泛用于干腌食品加工与发酵过程<sup>[25-27]</sup>。发酵过程中曲霉所产生的物质可以将原料中的大分子物质降解为葡萄糖、麦芽糖、低肽、氨基酸等小分子类物质<sup>[28-29]</sup>, 也丰富了藜麦发酵液中的营养物质成分。近年来, 藜麦因其具有较高的营养价值和健康功效, 得到众多专家学者的青睐, 但目前对于曲霉菌发酵藜麦制备藜麦肽的相关报道较少。本研究以藜麦为原料, 在糖化、液化处理之后, 利用米曲霉和黑曲霉单独和混合发酵以及酵母发酵来制备肽含量相对较高的藜麦发酵液, 并以肽得率为指标用单因素实验和正交实验进行藜麦发酵工艺的优化, 最后对最优发酵条件下的藜麦发酵液进行抗氧化活性分析, 为以后藜麦发酵产品的开发提供数据参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

藜麦种子购于山东藜源食品有限责任公司; 黑曲霉和米曲霉购于济宁玉园生物科技有限公司; 活性干酵母购于安琪酵母股份有限公司。

葡萄糖(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 酵母粉(OXOID)、蛋白胨(OXOID)、马铃薯浸粉、3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)试剂、福林酚试剂(生物试剂, 上海源叶生物科技有限公司); 琼脂粉(生物试剂, 北京索莱宝科技有限公司); 中温  $\alpha$ -淀粉酶(3700 U/g)、糖化酶(100000 U/g)(北京奥博星生物技术有限责任公司); 考马斯亮蓝(分析纯, 济南朋远生物科技有限公司); 磷酸、水合茚三酮(分析纯, 上海麦克林生化科技股份有限公司); 三氯乙酸(分析纯, 天津市北联精细化学品开发有限公司); 无水乙醇(分析纯, 天津富宇试剂有限公司); 磷酸二氢钾、七水硫酸镁(分析纯, 上海国药集团化学试剂有限公司); 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基清除能力试剂盒、羟自由基测定试剂盒、抑制与产生超氧阴离子自由基测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

### 1.2 仪器与设备

ZHTY-50S 振荡培养箱(上海知楚仪器有限公司); DXL60A 全自动高压蒸汽灭菌锅(山东德祥仪器有限公司); DRHH-S4 数显恒温水浴锅(上海双捷实验设备有限公司); UV-5100B 型紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司); iCEN-24 高速冷冻离心机(杭州奥盛仪器有限公司); GZX-9023MBE 电热鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂); 1510-01653 酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); JYJ-C022E 九阳料理机(济南九阳股份有限公司); FA1104 型电子天平(精度 0.0001 g, 上饶市鸿翔实业有限公司); MVS-1 漩涡混合器(北京金北德工贸有限公司)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 藜麦基本成分的测定

水分采用 GB 5009.3—2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》中直接干燥法测定; 蛋白质参照 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中凯氏定氮法测定; 淀粉参照 GB 5009.9—2016《食品安全

国家标准 食品中淀粉的测定》中酸水解法测定; 脂肪参照 GB 5009.6—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》中索氏提取法测定。

#### 1.3.2 培养基

黑曲霉、米曲霉均使用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar medium, PDA), 配制如下: 马铃薯浸粉 1 g, 葡萄糖 2 g, 磷酸二氢钾 0.3 g, 七水硫酸镁 0.15 g, pH 6.0±0.2 (25 °C)溶于 100 mL 水, 121 °C、20 min 灭菌后使用。

面包酵母使用酵母浸出粉胨葡萄糖培养基(yeast extract peptone dextrose medium, YPD), 配制如下: 酵母浸粉 1 g, 蛋白胨 2 g, 溶于 90 mL 水, 121 °C、20 min 灭菌, 葡萄糖 2 g, 溶于 10 mL, 115 °C、30 min 灭菌后与上述培养基混合。

#### 1.3.3 菌种活化

曲霉菌活化: 将黑曲霉和米曲霉的斜面保藏菌种分别转接到液体培养基中, 放入转子在磁力搅拌器上搅拌 3 h 打散孢子, 之后于 28 °C、200 r/min 条件下振荡培养 24~48 h 得到活化的菌液用于发酵<sup>[30-31]</sup>。

活性干酵母活化: 取 1 g 活性干酵母, 用 50 mL 浓度为 2% 的蔗糖溶液在 30 °C 条件下恒温活化 30 min 后, 按照 10% 的接种量接入 YPD 液体培养基于 28 °C、180 r/min 条件下振荡培养 24~48 h, 得到活化的菌液用于发酵。

#### 1.3.4 藜麦预处理

选用颗粒饱满、无病变、无虫害、无杂味、没有霉变的藜麦米, 以免影响发酵液的风味, 然后挑除藜麦米中的杂质, 用粉碎机粉碎后过 60 目筛备用。

#### 1.3.5 藜麦发酵液的制备

称取粉碎后的藜麦粉 5 g 放入 250 mL 锥形瓶中并加入 100 mL 蒸馏水后充分混匀, 调节最适 pH, 添加藜麦质量分数 1% 的  $\alpha$ -淀粉酶于 60 °C 水浴酶解 40 min 后升温至 100 °C, 灭酶 10 min, 待酶解液冷却后添加藜麦质量分数 1% 的糖化酶, 继续在 60 °C 水浴中酶解 40 min, 酶解后发酵液经高温高压灭菌, 随后接种黑曲霉与米曲霉, 置于 180 r/min 摇床中 30 °C 恒温振荡发酵一定时间, 发酵结束后 121 °C 灭菌 20 min, 待发酵液冷却后接种 10% 酵母菌液, 于 180 r/min 摇床 30 °C 培养一定时间, 最后再进行高温高压灭菌处理, 取冷却后发酵液于 10000 r/min 离心 10 min, 保留上清液, 并储存在 4 °C 备用。藜麦发酵流程图详见图 1。

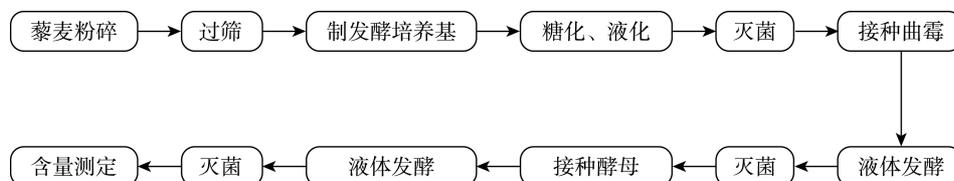


图 1 藜麦发酵流程图

Fig.1 *Chenopodium quinoa* Wild fermentation flow chart

## 1.4 藜麦发酵工艺单因素实验

选取接种量(0%、4%、6%、8%、10%、12%)(固定水平为 10%)、发酵时间(24、36、48、60、72、84 h)(固定水平为 72 h)、接种比例(黑曲霉单独发酵、米曲霉单独发酵、黑曲霉与米曲霉接种量比例: 1:2、1:1、2:1)(固定水平为黑曲霉与米曲霉接种量比例=1:2)、料液比(1%、3%、5%、7%、10%)(固定水平为 5%) 4 个因素的各个水平进行单因素实验, 通过对各个条件下制备的藜麦发酵液的肽含量进行测定, 计算肽得率选取较优的条件进行正交实验。

## 1.5 藜麦发酵工艺条件的正交优化实验

在单因素实验基础上, 以发酵时间、接种量、接种比例、料液比为考察因素, 选取 4 个实验因素中各自较优的 3 个水平, 以藜麦发酵液肽得率为评价指标, 采用  $L_9(3^4)$  正交实验设计, 确定最佳发酵工艺, 因素水平见表 1。

表 1 正交实验因素水平表  
Table 1 Orthogonal test factor level table

水平	因素			
	A(接种量) /%	B(料液比) /%	C(接种比例)	D(发酵时间) /h
1	6	5	黑曲霉	48
2	8	7	黑曲霉:米曲霉=1:1	60
3	10	10	黑曲霉:米曲霉=1:2	72

## 1.6 计算

### 1.6.1 肽含量测定

采用三氯乙酸沉淀结合福林-酚法<sup>[32]</sup>并稍作修改测定肽含量。取 2.5 mL 样品溶液, 加入 2.5 mL 10% 的三氯乙酸水溶液, 于漩涡混合仪上混合均匀, 静置 10 min, 然后在 4000 r/min 下离心 15 min, 取上清稀释一定倍数后, 取 1 mL 稀释液, 加入 5 mL 碱性铜溶液混匀, 室温静置 10 min, 加入 0.5 mL 福林酚试剂, 混匀后置于 30 °C 水浴 30 min, 在 500 nm 下测定吸光值。以牛血清蛋白为标准品制作标准曲线, 从标准曲线求出可溶性肽浓度并计算肽得率(%) [公式(1)]:

$$\text{肽得率}/\% = \frac{c \times v}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中:  $c$ -上清液中肽的质量浓度, mg/mL;  $v$ -溶解样品提取肽所用蒸馏水体积, mL;  $m$ -原料测定样品质量, g。

### 1.6.2 蛋白酶活测定

采用 GB/T 23527—2009《蛋白酶制剂》测定蛋白酶活[公式(2)]:

$$\text{蛋白酶活}/(\text{U/mL}) = \frac{A \times V \times 4 \times n}{m \times 10} \quad (2)$$

式中:  $A$ -由标准曲线得出的样品最终稀释液的活力, U/mL;  $V$ -溶解样品所使用的容量瓶的体积, mL;  $4$ -反应试剂的总

体积, mL;  $n$ -样品的稀释倍数;  $m$ -样品的质量, g;  $10$ -反应时间, min。

### 1.6.3 抗氧化活性的研究

#### (1) DPPH 自由基清除能力的测定

配制不同质量浓度的藜麦发酵液、不同质量浓度的维生素 C (vitamin C, VC) 溶液(200、268、400、800、1000 μg/mL), DPPH 自由基清除率的测定参照试剂盒说明书步骤进行, 在 517 nm 处测定吸光值并计算 DPPH 自由基清除率[公式(3)]:

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{A_{\text{空白}}}\right) \times 100\% \quad (3)$$

式中:  $A_{\text{测定}}$ -样品组吸光值;  $A_{\text{对照}}$ -对照组吸光值;  $A_{\text{空白}}$ -空白组吸光值。

#### (2) 羟自由基清除能力的测定

配制不同质量浓度的藜麦发酵液、不同质量浓度的 VC 溶液(80、100、130、200、400 μg/mL), 羟自由基清除率的测定参照试剂盒说明书步骤进行, 在 550 nm 处测定吸光值并计算羟自由基清除率[公式(4)]:

$$\text{羟自由基清除率}/\% = \frac{B_{\text{对照}} - B_{\text{测定}}}{B_{\text{对照}} - B_{\text{空白}}} \times 100\% \quad (4)$$

式中:  $B_{\text{对照}}$ -对照组吸光值;  $B_{\text{测定}}$ -样品组吸光值;  $B_{\text{空白}}$ -空白组吸光值。

#### (3) 超氧阴离子自由基清除能力的测定

配制不同质量浓度的藜麦发酵液、不同质量浓度的 VC 溶液(80、200、400、800、1000 μg/mL), 超氧阴离子自由基清除率的测定参照试剂盒说明书步骤进行, 在 550 nm 处测定吸光值并计算超氧阴离子自由基清除率[公式(5)]:

$$\text{超氧阴离子清除率}/\% = \frac{C_{\text{对照}} - C_{\text{测定}}}{C_{\text{对照}}} \times 100\% \quad (5)$$

式中:  $C_{\text{对照}}$ -对照组吸光值;  $C_{\text{测定}}$ -样品组吸光值。

## 1.7 数据处理

采用 SPSS Statistics 26.0 软件进行统计学分析, 用 Origin 2019 软件绘制相关图表。

## 2 结果与分析

### 2.1 藜麦基本成分含量分析

由表 2 可知, 藜麦蛋白含量为 14.00%±0.14%, 正如报道中所说藜麦的蛋白质含量远高于大麦(11.00%)、水稻(7.50%)和玉米(13.40%), 与牛肉蛋白质含量(15.40%)相当, 是优质的植物蛋白来源<sup>[33]</sup>。藜麦脂肪含量为 6.75%±0.21%, 与燕麦相近, 报道中表明藜麦中脂肪主要分布在胚乳和胚, 且饱和脂肪酸占脂肪酸的 84.83%~89.42%<sup>[34]</sup>, 由于富含不饱和脂肪酸, 藜麦油脂类似于玉米和大豆油, 因此可被

视为高质量的油料原料, 具有潜在应用价值。藜麦淀粉含量占  $66.20\% \pm 2.14\%$ , 藜麦淀粉具有出色的加工品质, 在食品工业中具备广阔的发展前景。并且研究表明藜麦粉中含量较多且丰富的微量元素例如镁、钾、锌等, 因此, 藜麦是一种安全且营养丰富的谷物产品。

表 2 藜麦基本成分含量(%)

Table 2 Basic component content of *Chenopodium quinoa* Wild (%)

成分	蛋白质	脂肪	水分	淀粉
藜麦	$14.00 \pm 0.14$	$6.75 \pm 0.21$	$3.65 \pm 0.21$	$66.20 \pm 2.14$

## 2.2 蛋白酶酶活测定结果分析

表 3 是黑曲霉与米曲霉单独发酵藜麦 48 h 时所测蛋白酶酶活, 与未接种曲霉的藜麦料液相比, 接种曲霉的发酵液中蛋白酶酶活均有所提高, 表明藜麦料液在接种曲霉后有利于曲霉菌产生蛋白酶。发酵过程中, 黑曲霉与米曲霉均可以产生酸性蛋白酶、中性蛋白酶和碱性蛋白酶, 其中碱性蛋白酶呈现最高活性, 分别是  $334.67 \text{ U/mL}$  和  $215.23 \text{ U/mL}$ , 说明曲霉菌在发酵藜麦时能够释放具有不同活性的蛋白酶, 且不同菌种及其混合比例会进一步影响蛋白酶的活性, 从而有利于藜麦蛋白的发酵酶解。

表 3 蛋白酶酶活(U/mL)

Table 3 Protease activity (U/mL)

蛋白酶酶活	酸性蛋白酶酶活	中性蛋白酶酶活	碱性蛋白酶酶活
未接种	0	0	0
米曲霉	$28.53 \pm 1.56$	$40.63 \pm 1.90$	$215.23 \pm 3.50$
黑曲霉	$52.17 \pm 1.50$	$99.07 \pm 1.30$	$334.67 \pm 1.60$

## 2.3 藜麦发酵工艺单因素实验结果分析

### 2.3.1 曲霉接种比例对肽得率的影响

由图 2 可知, 黑曲霉单独发酵后的藜麦发酵液中肽得率最高为 31.35%, 黑曲霉与米曲霉接种比例为 1:1 时, 藜麦发酵液中肽得率为 25.19%, 其次由黑曲霉与米曲霉接种比例为 1:2 和 2:1 发酵而成的藜麦发酵液中肽得率分别为 23.37%、23.36%, 其中藜麦发酵液肽得率最低为 20.84%, 是由米曲霉单独发酵所得。由于黑曲霉所产蛋白酶的酶活比米曲霉所产蛋白酶酶活较高, 因此对蛋白的水解能力强, 由黑曲霉单独或者混合发酵效果比米曲霉效果好。综上选择黑曲霉单独发酵、黑曲霉与米曲霉接种比例为 1:1 以及黑曲霉与米曲霉接种比例为 1:2 此 3 个因素进行正交实验优化。

### 2.3.2 曲霉接种量对肽得率的影响

由图 3 可知, 藜麦发酵液的肽得率随着曲霉接种量的增加呈现逐渐上升又下降的趋势, 在曲霉接种量为 10% 时, 藜麦发酵液中肽得率达到最大值为 22.97%。与未接种的藜麦料液相比, 接种曲霉有利于藜麦发酵液中肽的产生和累

积, 丰富了发酵液中的成分, 菌种接种量的增加使菌体数量增多, 会产生更多酶对藜营养物质进行降解从而产生更多的肽以及降解物, 因此, 确定菌种接种量 6%、8%、10% 作为正交实验的 3 个水平。

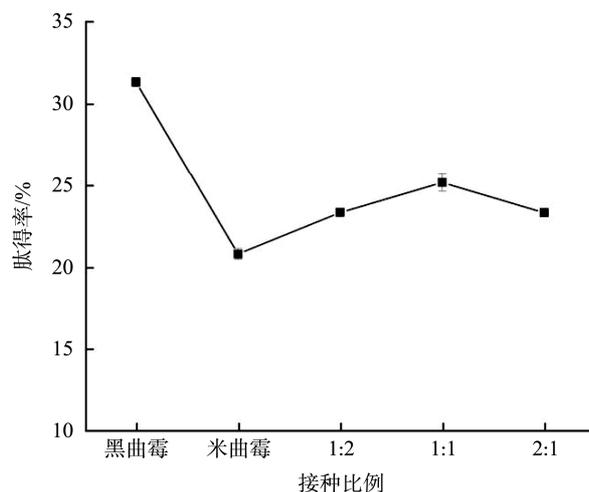


图 2 接种比例对肽得率的影响

Fig.2 Effects of inoculation ratio on the yield of peptides

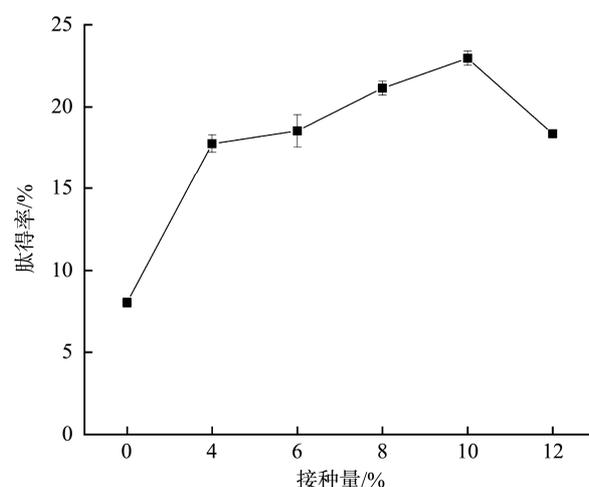


图 3 接种量对肽得率的影响

Fig.3 Effects of inoculum amount on the yield of peptides

### 2.3.3 藜麦料液比对肽得率的影响

如图 4 所示, 随着藜麦料液比的增加, 藜麦发酵液中肽得率呈现先上升后下降的趋势, 料液比为 7% 时, 发酵液中肽得率最高为 25.85%, 之后随着料液比增加后, 发酵液的肽得率呈缓慢下降趋势。当料液比较低时, 藜麦原料较少, 营养物质不足以供菌体利用, 不利于菌体生长繁殖, 曲霉产酶量较少, 同时水添加量较多, 使营养物质浓度较低, 故肽含量低; 当料液比较高时, 发酵基质含水量较少, 曲霉生长需要水分, 因此不利于菌的生长繁殖, 如果料液比过低水分供应就会不足, 且料液黏稠度增加, 通气量也会受影响, 而曲霉生长是好氧气的, 由此曲霉生长会受到抑

制进而影响发酵结果,肽含量会下降<sup>[35]</sup>。由此选择料液比5%、7%、10%作为正交实验优化水平。

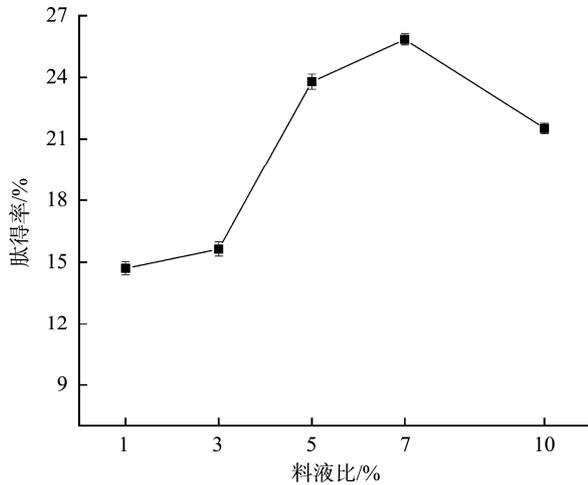


图4 料液比对肽得率的影响

Fig.4 Effects of material liquid ratio on the yield of peptides

#### 2.3.4 藜麦发酵时间对肽含量的影响

如图5所示,随着曲霉发酵时间的增加,藜麦发酵液中肽得率呈现上升又下降的趋势,在曲霉发酵72 h时,藜麦发酵液的肽得率最高为27.81%,而发酵24 h时,藜麦发酵液肽得率呈最低为18.6%。发酵初期时间较短,曲霉菌生长不充分,次级代谢产物合成量较低<sup>[2]</sup>,肽含量较低,随着发酵时间的延长,曲霉菌数量增多,可充分利用藜麦料液中碳水化合物和蛋白质等营养成分,产生一部分肽、氨基酸和氨基酸代谢物,丰富了发酵液中活性成分<sup>[36]</sup>。因此选择发酵时间48、60、72 h作为正交实验的3个水平。

#### 2.4 藜麦发酵工艺正交实验结果分析

根据单因素实验结果,以藜麦发酵液肽得率为评价指标,对接种量、料液比、接种比例、发酵时间进行4因

素3水平的正交实验设计,正交实验结果见表4和表5,如表5所示,基于藜麦发酵液肽得率建立的模型 $P<0.01$ ,表明该模型显著,说明该模型拟合程度较好,根据结果表明,4个因素对藜麦发酵液肽得率均有显著影响。按极差大小顺序或 $F$ 大小顺序排出各因素对藜麦发酵液肽得率的影响顺序为: $D>C>B>A$ ,即发酵时间>接种比例>料液比>接种量,由 $k$ 值得到藜麦发酵工艺最优组合条件为: $A_2B_1C_1D_1$ 。结合实验结果, $A_2B_2C_3D_1$ 和 $A_2B_1C_1D_1$ 均可作为最优水平组合。

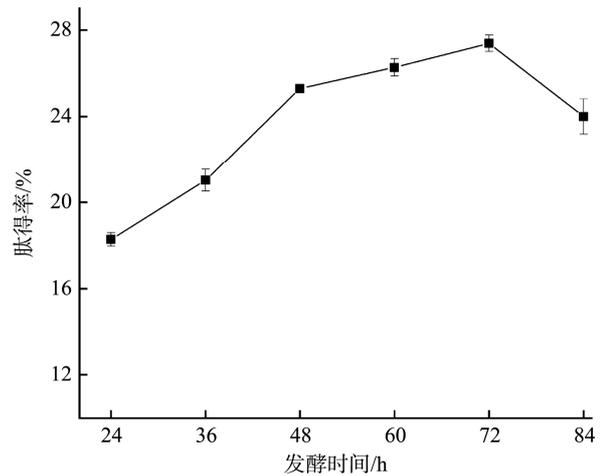


图5 发酵时间对肽得率的影响

Fig.5 Effects of fermentation time on the yield of peptides

通过对两个最优组合的发酵条件进行验证实验,结果发现 $A_2B_2C_3D_1$ 和 $A_2B_1C_1D_1$ 的肽得率分别为 $37.73\% \pm 0.70\%$ 和 $36.33\% \pm 0.65\%$ ,故选取 $A_2B_2C_3D_1$ 作为最优藜麦发酵条件,即接种量8%、料液比7%、黑曲霉与米曲霉接种比例为1:2、发酵时间48 h。

表4 正交实验直观分析表  
Table 4 Orthogonal experiment visual analysis table

实验号	A	B	C	D	肽得率/%
1	1	1	1	1	36.48
2	1	2	2	2	16.80
3	1	3	3	3	24.06
4	2	1	2	3	27.31
5	2	2	3	1	37.54
6	2	3	1	2	23.12
7	3	1	3	2	22.62
8	3	2	1	3	28.47
9	3	3	2	1	26.03
$k_1$	25.780	28.803	29.357	33.350	
$k_2$	29.323	27.603	23.380	20.840	
$k_3$	25.707	24.403	28.073	26.613	
R	3.616	4.400	5.977	12.502	

表 5 正交实验方差分析表  
Table 5 Orthogonal test analysis of variance table

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F	显著性
校正模型	1004.833	8	125.604	389.301	<0.001
截距	19656.296	1	19656.296	60923.232	<0.001
A	68.393	2	34.197	105.990	<0.001
B	90.097	2	45.048	139.624	<0.001
C	165.672	2	82.836	256.744	<0.001
D	6880.671	2	340.336	1054.845	<0.001
误差	5.808	18	0.323		
总计	20666.937	27			
修正后总计	1010.641	26			

注:  $R^2=0.994$ (调整后  $R^2=0.9920$ )。

## 2.5 藜麦发酵液抗氧化活性分析

### 2.5.1 DPPH 自由基清除能力

DPPH(二苯代苦味酰自由基)在有机溶剂中是一种稳定的自由基<sup>[37]</sup>, 深紫色, 在 517 nm 有强吸收。有自由基清除剂存在时, DPPH 的单电子被配对, 而使其颜色变浅, 最大吸收波长处的吸光度变小, 且这种颜色变浅的程度与配对电子数是成化学计量关系的。因此, 用该波长处的吸收可检测自由基的清除情况, 从而评价实验样品的抗氧化能力。抗氧化剂清除 DPPH 的清除率越高表明其抗氧化性越强。由图 6 可知, 在一定范围内藜麦发酵液的质量浓度与 DPPH 自由基清除率呈线性关系, 当藜麦发酵液质量浓度为 1000  $\mu\text{g/mL}$  时 DPPH 自由基清除能力最强, 为 87.56%, VC 对 DPPH 自由基清除率的半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration,  $\text{IC}_{50}$ )为 40.12  $\mu\text{g/mL}$ , 藜麦发酵液对 DPPH 自由基清除率的  $\text{IC}_{50}$  为 403.2  $\mu\text{g/mL}$ 。由此可知, 藜麦料液经曲霉发酵后具有清除 DPPH 自由基的能力。

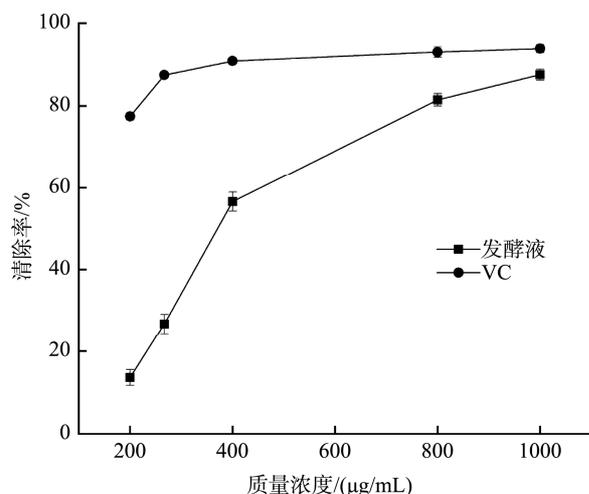


图 6 DPPH 自由基清除率  
Fig.6 Scavenging rates of DPPH radical

### 2.5.2 羟自由基清除能力

羟自由基是最活泼的自由基, 细胞内的  $\text{H}_2\text{O}_2$  能与  $\text{F}^{2+}$  或  $\text{Cu}^{2+}$  离子反应生成 OH, 另外, 紫外线也能使  $\text{H}_2\text{O}_2$  均裂生成羟自由基。同时, 羟自由基也是毒性最大的自由基, 它可与活细胞中的任何分子发生反应而造成损害, 且反应速度快<sup>[38]</sup>。由图 7 可知, 在一定范围内藜麦发酵液的质量浓度与羟自由基清除率呈线性关系。VC 及藜麦发酵液在 100~300  $\mu\text{g/mL}$  范围内, 藜麦发酵液的抗氧化活优于 VC。当藜麦发酵液质量浓度为 400  $\mu\text{g/mL}$  时羟自由基清除能力最强, 为 92.34%, VC 对羟自由基清除率的  $\text{IC}_{50}$  为 94.37  $\mu\text{g/mL}$ , 藜麦发酵液对羟自由基清除率的  $\text{IC}_{50}$  为 89.02  $\mu\text{g/mL}$ , 最终藜麦发酵液表现出比 VC 更强的羟自由基清除能力, 这与文献中报道的藜麦蛋白经过酶解后可成为具有较强的抗氧化性的藜麦多肽结果一致<sup>[39]</sup>, 其对 DPPH 自由基、羟基自由基的清除率能力较强。

### 2.5.3 超氧阴离子自由基清除能力

超氧阴离子自由基是生物体内常见的一种自由基, 它在机体衰老和各种疾病中扮演着重要角色<sup>[40-41]</sup>。因此,

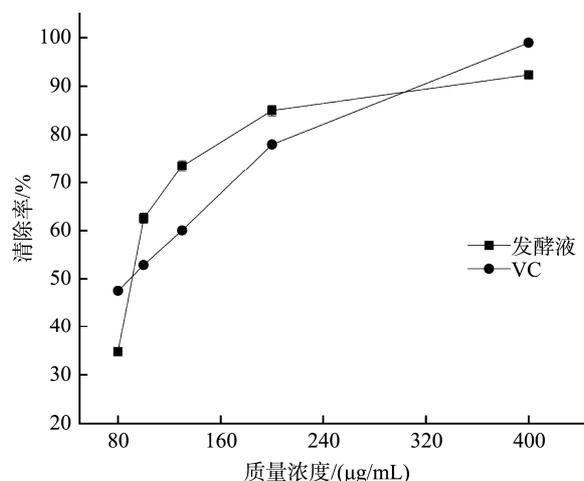


图 7 羟自由基清除率  
Fig.7 Scavenging rates of hydroxyl radical

测定物质对超氧阴离子自由基的清除能力是评估其抗氧化能力的重要指标。由图 8 可知, 藜麦发酵液具有清除超氧阴离子自由基的能力, 在一定范围内藜麦发酵液的质量浓度与超氧阴离子自由基清除率呈线性关系。藜麦发酵液及 VC 抗氧化活性在 80~1000  $\mu\text{g/mL}$  范围内, 其抗氧化活性逐渐升高, 当藜麦发酵液质量浓度为 1000  $\mu\text{g/mL}$  时超氧阴离子自由基清除能力最强, 为 67.50%。VC 溶液超氧阴离子自由基清除率的  $\text{IC}_{50}$  为 71.12  $\mu\text{g/mL}$ , 藜麦发酵液对超氧阴离子自由基清除率的  $\text{IC}_{50}$  为 568.44  $\mu\text{g/mL}$ , 具有较好的抗氧化能力。

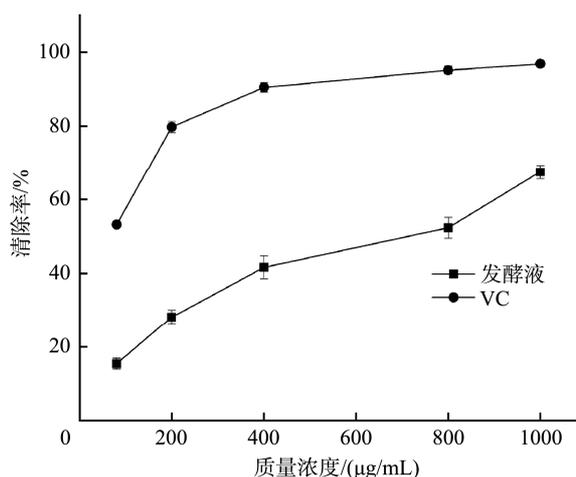


图 8 超氧阴离子自由基清除率  
Fig.8 Scavenging rates of superoxide anion radical

### 3 结 论

本研究以藜麦为原料, 探究了曲霉液态发酵条件对藜麦肽得率的影响, 通过单因素实验和正交实验优化藜麦肽发酵液的制备工艺, 并对优化后的藜麦发酵液进行抗氧化活性研究。实验表明, 曲霉在液体发酵过程中, 能够产生具有活性的蛋白酶, 对藜麦蛋白进行酶解制备藜麦肽发酵液, 通过正交优化后得出藜麦肽发酵液的最佳制备条件为: 接种量 8%、料液比 7%、黑曲霉与米曲霉接种比例为 1:2、发酵时间 48 h, 在此条件下藜麦发酵液肽得率为  $37.73\% \pm 0.70\%$ 。经过活性实验表明藜麦肽发酵液对羟基自由基的清除能力明显优于 DPPH 自由基和超氧阴离子自由基的清除能力, 且存在一定的量效关系, 在一定浓度范围内藜麦发酵液对羟基自由基的清除能力强于 VC。藜麦肽发酵液对羟自由基、DPPH 自由基和超氧阴离子自由基的清除率  $\text{IC}_{50}$  值分别为 89.02、403.2 和 568.44  $\mu\text{g/mL}$ , 其最高清除率分别可达 92.34%、87.56% 和 67.50%, 具有较好的抗氧化能力。曲霉发酵不仅促进了藜麦中大分子营养物质的降解, 还有利于小分子活性成分的转化, 如肽类物质、糖类物质及氨基酸代谢物等, 这些成分共同丰富了藜

麦发酵液的生物活性。并且, 通过曲霉发酵获得的藜麦产品不仅富含小肽, 还具备显著的抗氧化功能, 为藜麦发酵产品的开发提供数据参考, 未来对于藜麦肽的活性功能还需进一步研究。

### 参考文献

- [1] 顾娟, 黄杰, 魏玉明, 等. 藜麦研究进展及发展前景[J]. 中国农学通报, 2015, 31(30): 201–204.
- [2] GU X, HUANG J, WEI YM, *et al.* Research progress and development prospects of quinoa [J]. Chin Agric Sci Bull, 2015, 31(30): 201–204.
- [3] 江慧斌, 聂攀, 吕玮, 等. 藜麦与黑大麦复合谷物发酵富集多酚和黄酮工艺优化及其生物有效性研究[J/OL]. 食品工业科技, 1-17. [2023-10-02]. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023050312
- [4] JIANG HB, NIE P, LV W, *et al.* Optimization of fermentation enrichment process for polyphenols and flavonoids in quinoa and black barley compound grains and study on its biological efficacy [J/OL]. Sci Technol Food Ind, 1-17. [2023-10-02]. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023050312
- [5] PEREIRA E, ENCINA ZC. Chemical and nutritional characterization of *Chenopodium quinoa* Willd (quinoa) grains: A good alternative to nutritious food [J]. Food Chem, 2019, 280: 110–114.
- [6] DAKHLI S, ABDOLALIZADEH L, HOSSEINI SM, *et al.* Quinoa protein: Composition, structure and functional properties [J]. Food Chem, 2019, 299: 125161.
- [7] NVRUZ-VARLI S, SANLIER N. Nutritional and health benefits of quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) [J]. J Cere Sci, 2016, 69: 371–376.
- [8] FAN X, MA X, MAIMAITIYIMING R, *et al.* Study on the preparation process of quinoa anti-hypertensive peptide and its stability [J]. Nutr Food Sci Technol, 2022, 9: 1119042.
- [9] GUO HM, HAO YQ, RICHEL A, *et al.* Antihypertensive effect of quinoa protein under simulated gastrointestinal digestion and peptide characterization [J]. J Sci Food Agric, 2020, 100(15): 5569–5576.
- [10] ABBASI S, MOSLEHISHAD M, SALAMI M. Antioxidant and alpha-glucosidase enzyme inhibitory properties of hydrolyzed protein and bioactive peptides of quinoa [J]. Int J Biol Macromol, 2022, 213: 602–609.
- [11] ATEFI M, MIRZAMOHAMMADI S, DARAND M, *et al.* Meta-analysis of the effects of quinoa (*Chenopodium quinoa*) interventions on blood lipids [J]. J Herb Med, 2022, 34: 100571.
- [12] ZHANG Y, MA Z, CAO H, *et al.* Effect of germinating quinoa flour on wheat noodle quality and changes in blood glucose [J]. Food Biosci, 2022, 48: 101809.
- [13] COMAI S, BERTAZZO A, BAILONI L, *et al.* The content of proteic and nonproteic (free and protein-bound) tryptophan in quinoa and cereal flours [J]. Food Chem, 2007, 100: 1350–1355.
- [14] 王雷, 董吉林, 申瑞玲. 藜麦蛋白的提取及功能性质与生物活性概述[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(7): 188–194.
- [15] WANG L, DONG JL, SHEN RL. Overview of extraction, functional

- properties, and biological activity of quinoa protein [J]. *J Chin Cere Oils Ass*, 2020, 35(7): 188–194.
- [13] 周浩纯, 曹金诺, 张健, 等. 藜麦  $\alpha$ -淀粉酶抑制活性肽的分离及其机理探究[C]. 中国食品科学技术学会. 中国食品科学技术学会第十八届年会摘要集, 2022.
- ZHOU HC, CAO JN, ZHANG J, *et al.* Isolation and mechanism exploration of  $\alpha$ -amylase inhibitory peptides from quinoa [C]. *Chinese Society for Food Science and Technology. Summary of the 18th Annual Meeting of the Chinese Society for Food Science and Technology*, 2022.
- [14] VILCACUNDO R, MARTINEZ-VILLALUENGA C, HERNANDEZ-LEDESMA B. Release of dipeptidyl peptidase V,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory peptides from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) during in vitro simulated gastrointestinal digestion [J]. *J Funct Food*, 2017, 35: 531–539.
- [15] MUDGIL P, KILARIB P, KAMALH, *et al.* Multifunctional bioactive peptides derived from quinoa protein hydrolysates: Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase, dipeptidyl peptidase-IV and angiotensin I converting enzymes [J]. *J Cere Sci*, 2020, 96: 103130.
- [16] NONGONIERMAA B, LE MS, DUBRULLE C, *et al.* Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) protein hydrolysates with *in vitro* dipeptidyl peptidase Ln (DPP-IV) inhibitory and antioxidant properties [J]. *J Cere Sci*, 2015, 65: 112–118.
- [17] SHARMA R, GARG P, KUMAR P, *et al.* Microbial fermentation and its role in quality improvement of fermented foods [J]. *Fermentation*, 2020, 6(4): 106.
- [18] ZHAO HM, GUO XN, ZHU KX. Impact of solid state fermentation on nutritional, physical and flavor properties of wheat bran [J]. *Food Chem*, 2017, 217: 28–36.
- [19] 孙东伟, 刘军. 小肽营养及生产工艺的研究进展[J]. *江苏调味副食品*, 2010, 27(1): 6–9.
- SUN WD, LIU J. Research progress on nutrition and production process of small peptides [J]. *Jiangsu Cond Subsid Food*, 2010, 27(1): 6–9.
- [20] 王姣琳, 岳田利, 袁亚宏. 红曲霉与乳酸菌混合发酵藜麦制备降压肽[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(21): 217–224.
- WANG JL, YUE TL, YUAN YH. Preparation of antihypertensive peptides from quinoa by mixed fermentation of *Monascus purpureus* and lactic acid bacteria [J]. *Food Ferment Ind*, 2021, 47(21): 217–224.
- [21] 俞瑜媛, 周青青, 周柳莎, 等. 藜麦源 ACE 抑制糖肽制备、结构表征及体外稳定性研究[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(12): 18–28.
- YU YY, ZHOU QQ, ZHOU LS. Preparation, structural characterization, and *in vitro* stability study of ACE inhibitory glycopeptides derived from quinoa [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2023, 44(12): 18–28.
- [22] 延莎, 邢洁雯, 王晓闻. 不同菌种发酵对藜麦蛋白质特性及脂质构成的影响[J]. *中国农业科学*, 2020, 53(10): 2045–2054.
- YAN S, XING JW, WANG XW. The effect of different strains of fermentation on the protein characteristics and lipid composition of quinoa [J]. *Agric Sci China*, 2020, 53(10): 2045–2054.
- [23] 李帅, 袁亚宏, 岳田利. 益生菌发酵藜麦制备 ACE 抑制肽[J]. *食品与机械*, 2022, 38(8): 14–21.
- LI S, YUAN YH, YUE TL. Preparation of ACE inhibitory peptides from fermented quinoa with probiotics [J]. *Food Mach*, 2022, 38(8): 14–21.
- [24] 刘玉春, 郭超, 王超. 玉米皮纤维发酵培养黑曲霉(*Aspergillus niger*)和肉原毛革菌(*Phanerochaete carnosae*)的产酶分析[J]. *食品科学*, 2023. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20230207-067
- LIU YC, GUO C, WANG C. Enzyme production analysis of *Aspergillus niger* and *Phanerochaete carnosae* in corn husk fiber fermentation culture [J]. *Food Sci*, 2023. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20230207-067
- [25] ZHOU CY, XIA Q, DU LH, *et al.* Recent developments in off-odor formation mechanism and the potential regulation by starter cultures in dry-cured ham [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2023, 63(27): 8781–8795.
- [26] SUZUKI S, OHMORI H, HAYASHIDA S, *et al.* Lipase and protease activities in Koji cheeses surface-ripened with *Aspergillus strains* [J]. *Food Sci Technol Res*, 2021, 27(3): 543–549.
- [27] LAI CY, HOU CY, CHUANG PT, *et al.* Microbiota and mycobiota of soy sauce-supplied lactic acid bacteria treated with high pressure [J]. *Fermentation*, 2022, 8(7): 338.
- [28] 文博. 藜麦复合黄酒酿造工艺优化及品质评价[D]. 晋中: 山西农业大学, 2022.
- WEN B. Optimization of brewing process and quality evaluation of quinoa compound yellow wine [D]. Jinzhong: Shanxi Agricultural University, 2022.
- [29] 陈亮亮. 黄酒麦曲制曲工艺的优化研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013.
- CHEN LL. Optimization study on the koji making process of Huangjiu wheat koji [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013.
- [30] 周德庆. 微生物学教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002.
- ZHOU DQ. Microbiology tutorial [M]. Beijing: Higher Education Press, 2002.
- [31] 武汉大学, 复旦大学生物系微生物学教研室编. 微生物学[M]. 北京: 人民教育出版社, 1990.
- Wuhan University, Compiled by the Microbiology Teaching and Research Office of the Department of Biology, Fudan University. Microbiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 1990.
- [32] CHO YJ, GETACHEW AT, PAARK JS *et al.* Influence of temperature on decomposition reaction of compressed hot water to valorize *Achatina fulica* as a functional material [J]. *Food Bioprod Proc*, 2020, 122: 89–97.
- [33] 刘永江, 覃鹏. 藜麦营养成分及应用研究进展[J]. *黑龙江农业科学*, 2020(3): 123–127.
- LIU YJ, QIN P. Research progress on nutritional functional components and applications of quinoa [J]. *Heilongjiang Agric Sci*, 2020(3): 123–127.
- [34] 卢宇, 张美莉. 藜麦生物活性物质研究进展[J]. *农产品加工*, 2015, 393(19): 58–62.
- LU Y, ZHANG ML. Research progress on bioactive substances in quinoa [J]. *Farm Prod Proc*, 2015, 393(19): 58–62.
- [35] 严鹤松. 黑曲霉发酵豆粕的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.

- YAN HS. Research on the fermentation of soybean meal by *Aspergillus niger* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012.
- [36] GÄNZLE MG. Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation [J]. *Food Microbiol*, 2014, 37(2): 2–10.
- [37] 孙雪婷, 蒋玉蓉, 袁俊杰, 等. 响应面法优化提取藜麦种子黄酮及抗氧化活性[J]. *中国食品学报*, 2017, 17(3): 127–135.
- SUN XT, JANG YR, YUAN JJ, *et al.* Optimization of extraction of quinoa seed flavonoids and antioxidant activity by response surface methodology [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2017, 17(3): 127–135.
- [38] 熊春华, 周苏果, 沈忱, 等. 响应面法优化提取菊米黄酮及抗氧化活性研究[J]. *中国食品学报*, 2014, 14(7): 118–123.
- XIONG CH, ZHOU SG, SHEN C, *et al.* Optimization of chrysanthemum flavonoid extraction and antioxidant activity by response surface methodology [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2014, 14(7): 118–123.
- [39] 郭浩彬, 张陆燕, 赵宇, 等. 藜麦水解蛋白肽制备及其抗氧化活性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(21): 7073–7082.
- GUO HB, ZHANG LY, ZHAO Y, *et al.* Preparation of hydrolyzed protein peptides from quinoa and study of their antioxidant activity [J]. *J Food Qual Saf*, 2022, 13(21): 7073–7082.
- [40] XIE Z, HUANG J, XU X, *et al.* Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate [J]. *Food Chem*, 2008, 111(2): 370–376
- [41] QUAN VV, NGUYEN TH, NGUYEN MT, *et al.* The hydroperoxyl and

superoxide anion radical scavenging activity of anthocyanidins in physiological environments: Theoretical insights into mechanisms and kinetics [J]. *Phytochemistry*, 2021, 192: 112968.

(责任编辑: 于梦娇 安香玉)

## 作者简介



李钰洋, 硕士研究生, 主要研究方向为生物活性物质制备。

E-mail: 2386851902@qq.com



叶春江, 副教授, 主要研究方向为生物技术与应用。

E-mail: chm\_yecj@ujn.edu.cn



王元秀, 教授, 主要研究方向为生物活性物质制备。

E-mail: chm\_wangyx@ujn.edu.cn