

一种抑菌性色素的分离表征 及合成条件的优化

董庆霖*, 管瑞静, 邢向英, 陈敬宇, 闫双印

(河北工业大学化工学院, 天津 300130)

摘要:利用液相色谱对淡紫拟青霉产生的色素进行分析, 确定其为单一物质(保留时间为 8.845 min), 从而建立色素相对含量的测定方法。在此基础上对色素的发酵条件进行优化, 并对色素的抑菌性能进行了初步研究。依据响应面法分析得到最佳发酵条件: NaNO_3 质量浓度为 0.53 g/L, K_2HPO_4 质量浓度为 0.41 g/L, Tween-80 体积分数为 0.17%, 在此条件下, 色素的产量是优化前的 1.95 倍。抑菌实验结果表明, 该色素对于细菌有广谱抑制作用, 对于部分真菌如头孢霉等也有很强的抑制作用。

关键词:淡紫拟青霉; 色素; 发酵; 优化; 抑菌

中图分类号: TQ920.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2016)08-0096-05

DOI: 10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2016.08.023

Optimization of pigment production from *Paecilomyces lilacinus* TD16 and its antimicrobial activities

DONG Qing-lin*, GUAN Rui-jing, XING Xiang-ying, CHEN Jing-yu, YAN Shuang-yin

(School of Chemical Engineering and Technology, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China)

Abstract: The pigment produced by *Paecilomyces lilacinus* TD16 is identified as a single substance with the retention time of 8.845 min on high-pressure liquid chromatography (HPLC). A quantitative method is established for determining the relative content of this pigment. Accordingly, the fermentation conditions for pigment production are also optimized based on Box-Behnken design (BBD). Under the optimized conditions, 0.53 g/L of NaNO_3 , 0.41 g/L of K_2HPO_4 and 0.17% (v/v) of Tween-80, the pigment yield is 1.95 times higher than that before optimization. Antimicrobial tests indicate that the pigment of TD16 can inhibit all the bacteria in this study, including part of the fungi such as *Cephalosporium*, which is of potential application in industries.

Key words: *Paecilomyces lilacinus*; pigment; fermentation; optimization; antimicrobial properties

真菌色素是一类重要的天然产物, 其化学结构多样(醌类、酸类、酮类等), 并具有特殊的生物活性^[1-2], 在生物化工方面有着广阔的应用前景。目前已发现能够合成色素的真菌主要是丝状真菌^[3-4]。曲霉属的红曲霉合成的红曲色素目前已在食品工业中得到广泛应用^[5]; 布拉氏霉菌属的三孢布拉氏霉和须霉属的布拉克须霉能够合成红色的 β -胡萝卜素^[6]; 此外青霉属的马尔尼菲青霉等也能合成深红色色素和类胡萝卜素^[7-8]。

拟青霉属产色素真菌相对较少, 主要有蝉拟青霉 *Paecilomyces sinclairii*^[9] 和紫拟青霉 *Paecilomyces purpureus*^[10]。淡紫拟青霉虽然在生物防治方面的研究较多^[11], 但对其特殊的淡紫色色素的研究则鲜有报道。Elbandy 等^[12]研究了从海洋中分离的淡紫拟青霉的色素, 然而其色素为黄色而不是淡紫色。笔者研究的淡紫拟青霉 TD16 是从被污染的蓝藻培养液中分离出来的, 属于淡紫拟青霉的 1 个变种^[13], 利用响应面法对淡紫拟青霉 TD16 产色素的

发酵条件进行优化, 最终得到较好的发酵培养基配比, 使得色素产量得到大幅度的提升, 初步探究了该色素的抑菌性。

1 材料和方法

1.1 菌种与培养方法

1.1.1 菌种与培养基

淡紫拟青霉 TD16 (*Paecilomyces lilacinus* TD16), 由本实验室分离保藏。

7 种指示菌选用金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、黄曲霉 (*Aspergillus flavus*)、头孢霉 (*Cephalosporium*), 以上菌种由河北工业大学生物工程系菌种保藏室提供。

保藏培养基: 马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA)。

发酵培养基: 改良的 Modified-BG-11 (BG-11 培养基加葡萄糖 18.0 g/L)^[14]。

指示菌固体培养基:PDA培养基、LB培养基、YPD培养基。

1.1.2 发酵方法

将菌株 TD16 划线接种于 PDA 斜面培养基上, 25℃ 培养 7 d。在无菌条件下配成孢子悬浮液后接种于液体 Modified-BG-11 培养基中, 摇床培养 24~36 h, 制成种子液。将种子液以 1% 的接种量在 25℃、130 r/min、装液量 80/250 mL 下置于发酵培养基中培养, 同时进行 2 组平行实验。

1.2 色素的分离纯化

发酵结束后, 将发酵液以 8 000 r/min 离心 10 min, 然后将上清液用 0.22 μm 的滤膜过滤, 取清液, 加入等体积无水乙醇, 充分搅拌, 静置 2 h, 离心, 除去析出的杂多糖与杂蛋白, 取上清液, 经低温真空旋蒸除去乙醇。将所得浓缩液加入等体积酸化的乙酸乙酯, 充分混匀, 静置得上层色素萃取液, 再经低温真空旋蒸, 得到高浓度的色素浓缩液, 并对其进行高效液相色谱分析。

1.3 色素的液相色谱分析

采用康诺 Com 6000 HPLC 系统进行分析。条件参数: C18 (Kromasil) 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 紫外-可见光检测器, 检测波长为 303 nm^[13]; 流速为 0.8 mL/min; 柱温为 38℃。在上述条件下分析确定色素分离和检测的最佳流动相。

1.4 色素发酵条件的研究

1.4.1 单因素实验

以 Modified-BG-11 培养基为基础培养基进行实验, 各因素的质量浓度梯度及条件如下:

葡萄糖: 6.0、12.0、18.0、24.0、30.0 g/L。

NaNO₃: 0.1、0.3、0.5、0.7、1.0、1.5、2.0、2.5 g/L。

MgSO₄·7H₂O: 0.025、0.05、0.075、0.15、0.225 g/L。

K₂HPO₄: 0.16、0.24、0.32、0.40、0.60 g/L。

pH: 5.0、7.0、9.0。

Tween-80 的体积分数: 0.01%、0.03%、0.05%、0.10%、0.15%、0.2%、0.3%。

1.4.2 响应面优化实验

综合单因素实验结果确定显著因素和最佳条件, 然后采用 Design-Expert 进行响应面中心复合设计 (Box-Behnken Design, BBD) 并进行响应曲面优化^[15]。

1.5 色素抑菌活性测定

实验测定了淡紫拟青霉色素对细菌和真菌的抑菌性。取分离的色素组分, 利用打孔法测定其抑菌活性, 以抑菌圈直径大小指示其抑菌活性^[16-17]。

2 结果与讨论

2.1 色素的 HPLC 分析

淡紫拟青霉发酵产生的紫红色素纯化溶液如图 1 所示。



图 1 淡紫拟青霉色素纯化液

色素纯化液的 HPLC 色谱图如图 2 所示。

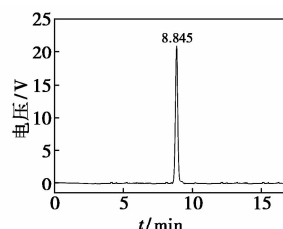


图 2 色素纯化液的 HPLC 色谱图

HPLC 分析过程中根据色素分子的极性选择合适的流动相。通过多次调整流动相及其组成, 最终确定乙腈-0.5% 甲酸水溶液 (体积比为 1:9) 的分离效果最好, 色素只有 1 个单峰, 保留时间为 8.845 min。分析结果表明, 该色素为单一物质, 因此可根据色素在特征吸收波长 303 nm 处的吸光度值作为色素的质量分数来优化色素的合成条件。

2.2 单因素结果与分析

2.2.1 碳源的影响

碳源对色素合成的影响如图 3 所示。由图 3 可知, 色素的合成量随着葡萄糖质量浓度的上升而提高, 当葡萄糖的质量浓度为 18.0 g/L 时, 色素的合成量达到最高值; 随着葡萄糖质量浓度升高, 色素的合成量下降, 说明高质量浓度的碳源抑制次级代谢

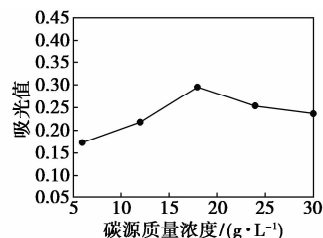


图 3 碳源对色素合成的影响

产物色素的合成。因此,葡萄糖的质量浓度保持原培养基的质量浓度为 18.0 g/L。

2.2.2 氮源的影响

氮源对色素合成的影响如图 4 所示。由图 4 可以看出,NaNO₃ 的质量浓度对色素的合成有显著影响,色素的合成量随着 NaNO₃ 质量浓度的上升而提高,当 NaNO₃ 的质量浓度为 0.5 g/L 时,色素的合成量达到最高值;而当 NaNO₃ 质量浓度高于 0.5 g/L 时,色素产量有大幅下降趋势,说明高质量浓度的氮源抑制色素的合成,低质量浓度的氮有利于色素的合成。因此,NaNO₃ 的质量浓度以 0.5 g/L 为宜。

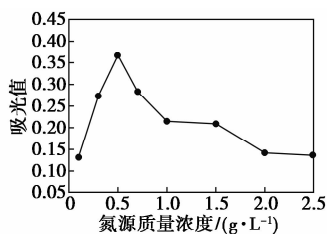


图 4 氮源对色素合成的影响

2.2.3 MgSO₄·7H₂O 的影响

镁离子对色素合成的影响如图 5 所示。由图 5 可以看出,随着 MgSO₄·7H₂O 质量浓度逐渐升高,色素的合成量有小幅度的下降趋势,即镁离子质量浓度过高对于色素的合成有抑制作用。综合来看,MgSO₄·7H₂O 质量浓度对该色素的合成影响较小。

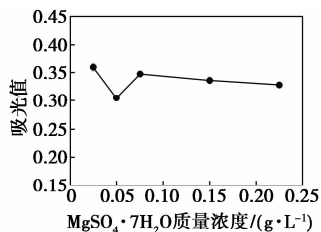


图 5 MgSO₄·7H₂O 对色素合成的影响

2.2.4 K₂HPO₄ 的影响

K₂HPO₄ 质量浓度对色素合成的影响如图 6 所示。

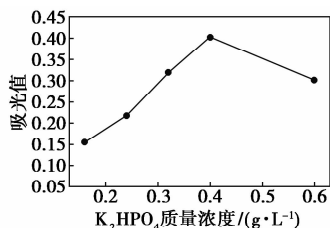


图 6 K₂HPO₄ 对色素合成的影响

由图 6 可知,K₂HPO₄ 对于色素的合成影响较

大,色素的合成量随着 K₂HPO₄ 质量浓度的上升而提高,当 K₂HPO₄ 质量浓度为 0.40 g/L 时,色素的合成量达到最高值;当其质量浓度高于 0.40 g/L 时,色素产量有大幅下降趋势,说明高质量浓度的 K₂HPO₄ 抑制了色素的合成。因此,K₂HPO₄ 质量浓度以 0.40 g/L 左右为宜。

2.2.5 初始 pH 的影响

初始 pH 对色素合成的影响如图 7 所示。由图 7 可以看出,色素的合成量受培养基初始 pH 影响比较小。当初始 pH 为 7 时,其色素质量分数基本达到最大值。由于培养基自然条件下的 pH 为 7.3 左右,接近中性,而 pH 总体来说对色素的合成影响比较小。

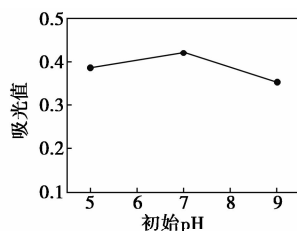


图 7 初始 pH 对色素合成的影响

2.2.6 表面活性剂的影响

Tween-80 体积分数对色素合成的影响如图 8 所示。

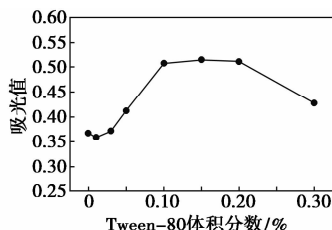


图 8 Tween-80 对色素合成的影响

由图 8 可知,色素的合成量随着 Tween-80 体积分数的上升而提高,当其体积分数在 0.10% ~ 0.20% 时,色素的合成量达到最高值;而当 Tween-80 体积分数高于 0.2%,色素的合成量反而逐渐下降,说明其对色素的合成产生了抑制。Tween-80 是一种温和型表面活性剂,其对色素合成的影响是因为改变了细胞膜的通透性,从而有利于胞内色素的分泌。此外,Tween-80 易氧化分解产生有毒成份,胁迫作用促进了次级代谢产物的合成^[18]。

2.3 响应面实验设计及结果

根据单因素实验结果,设置影响显著的 NaNO₃ 质量浓度(A)、K₂HPO₄ 质量浓度(B)、Tween-80 体积分数(C)(每组 3 个水平)为自变量,以色素吸光

值为检测指标进行实验设计并优化。因素水平如表1所示,Box-Behnken实验设计及结果如表2所示。

表1 Box-Behnken实验因素水平编码表

因素	编码	水平		
		-1	0	1
$\rho(\text{NaNO}_3)/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	A	0.30	0.60	0.90
$\rho(\text{K}_2\text{HPO}_4)/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	B	0.20	0.40	0.60
$\varphi(\text{Tween-80})/\%$	C	0.05	0.20	0.35

表2 Box-Behnken实验设计及结果

实验编号	$\rho(\text{NaNO}_3)$ (X_1)	$\rho(\text{K}_2\text{HPO}_4)$ (X_2)	$\varphi(\text{Tween-80})$ (X_3)	响应值
1	-1	-1	0	0.389
2	1	-1	0	0.343
3	-1	1	0	0.437
4	1	1	0	0.385
5	-1	0	-1	0.511
6	1	0	-1	0.486
7	-1	0	1	0.455
8	1	0	1	0.427
9	0	-1	-1	0.369
10	0	1	-1	0.402
11	0	-1	1	0.317
12	0	1	1	0.358
13	0	0	0	0.579
14	0	0	0	0.574
15	0	0	0	0.567
16	0	0	0	0.571
17	0	0	0	0.577

利用 Design Expert 8.0.6 软件,选用二阶经验模型对上述实验结果进行数学方程拟合,建立二次回归模型:

$$Y = -0.25 + 0.46A + 3.04B + 0.97C - 0.03AB - 0.02AC + 0.07BC - 0.43A^2 - 3.67B^2 - 2.91C^2 \quad (1)$$

式中, Y 是色素吸光值的预测值; A 为 NaNO_3 的质量浓度, g/L ; B 为 K_2HPO_4 的质量浓度, g/L ; C 为 Tween-80 的体积分数, %。

回归方程的方差分析结果如表3所示。由表3可知,整体模型为极显著($P < 0.01$);失拟项($P > 0.05$)表示失拟项相对于绝对误差是不显著的,说明回归方程与实验结果拟合较好。由表3可知,一次项 A 、 B 、 C 和二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 均达到极显著水平,而交互项 AB 、 AC 、 BC 均不显著,表明各个影响因素与响应值之间不是简单的线性关系。为了更直观地描述3因子对响应值的影响,作出了模型(1)

的响应面立体分析图,结果如图9和图10所示。从图9、图10可以看出,由于等高线形状近乎呈圆形或椭圆形,表明每2个自变量之间的交互效应较弱,对模型响应值的变化影响相对较复杂。利用 Design-Expert 8.0.6 对回归方程优化的结果为: NaNO_3 的质量浓度为 0.53 g/L , K_2HPO_4 的质量浓度为 0.41 g/L , Tween-80 的体积分数为 0.17% , 响应值达 0.579 。

表3 回归模型的方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	Prob > F	显著性
Mode (模型)	0.14	9	0.015	250.35	< 0.0001	* *
A	0.00285	1	0.00285	47.34	0.0002	* *
B	0.003362	1	0.003362	55.84	0.0001	* *
C	0.005565	1	0.005565	92.43	< 0.0001	* *
AB	0.000009	1	0.000009	0.15	0.7105	
AC	0.00000225	1	0.00000225	0.037	0.8522	
BC	0.000016	1	0.000016	0.27	0.6221	
A^2	0.006217	1	0.006217	103.26	< 0.0001	* *
B^2	0.091	1	0.091	1504.53	< 0.0001	* *
C^2	0.018	1	0.018	299.35	< 0.0001	* *
参差	0.00042145	7	0.00006021			
失拟项	0.00033025	3	0.00011008	4.83	0.0812	
纯误差	0.0000912	4	0.0000228			
所有项	0.22	16				

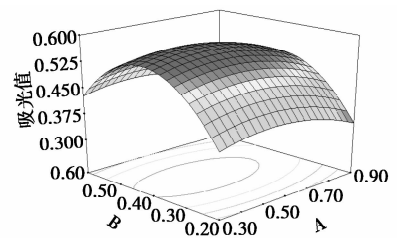


图9 NaNO_3 和 K_2HPO_4 交互影响的响应面图

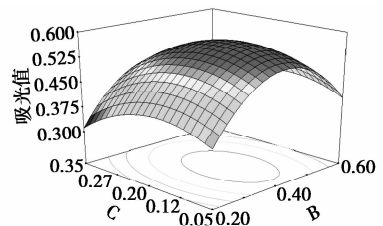


图10 K_2HPO_4 和 Tween-80 交互影响的响应面图

表4是该模型的可信度分析,由表4可知,模型的拟合系数 $R^2 = 0.9969$, 变异系数值较小 ($C.V. = 1.70\% < 10\%$), 表明实验的拟合度和精确度较高。

良好的拟合模型的建立为最优工艺条件的求解提供了先决条件^[19],此响应面拟合方程可用于色素合成的分析和预测。

表 4 模型可信度分析

平均值	0.46	决定系数	0.9969
精密性	43.853	调整决定系数	0.9929
C. V. /% (变异系数)	1.70	预测决定系数	0.9601

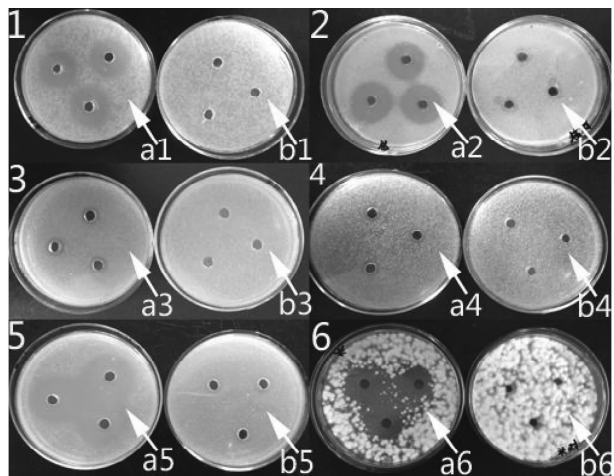
通过重复验证实验测得 TD16 菌株色素产量为 0.576,是优化前的 1.95 倍,与预测值接近,从而说明实验得到的数学拟合方程对工艺条件优化的预测较为准确可靠。

2.4 色素的抑菌活性

抑菌试验效果如表 5 和图 11 所示。结果表明,淡紫拟青霉色素对革兰氏阳性菌的抑制作用明显强于对革兰氏阴性菌;淡紫拟青霉色素对单细胞真菌酿酒酵母有微弱的抑制,对头孢霉和黄曲霉都有较强的抑制作用,对黑曲霉无抑制。

表 5 TD16 色素的抑菌作用

实验菌名称	抑菌圈直径/mm	
	对照组	实验组
金黄色葡萄球菌	7.0	17.2
大肠杆菌	7.0	12.2
枯草芽孢杆菌	7.0	25.0
黑曲霉	7.0	7.0
黄曲霉	10.7	30.0
酿酒酵母	7.0	10.3
头孢霉	7.0	24.0



1—金黄色葡萄球菌;2—枯草芽孢杆菌;3—大肠杆菌;
4—啤酒酵母;5—黄曲霉;6—头孢霉
注:a1~a6 为实验组;b1~b6 为对照组。

图 11 TD16 色素的抑菌实验

研究发现,一些真菌色素对细菌具有不同程度的抑制作用,如红曲色素对革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌有明显的抑制作用,对大肠杆菌抑制较弱,对真菌则无抑制^[20-21]。而 TD16 色素不仅能抑制所有的测试细菌,对致病真菌黄曲霉等有强烈的抑制作用,该研究将有助于其分子结构的表征,并对其作用机理的阐明提供依据。

3 结论

(1)通过对色素的纯化液进行液相色谱检测,得到色素的 HPLC 分析条件,并确定该色素为单一物质,从而建立了色素质量分数的测定方法。

(2)在 NaNO₃ 质量浓度为 0.53 g/L, K₂HPO₄ 质量浓度为 0.41 g/L, Tween-80 体积分数为 0.17% 的优化发酵条件下,色素产量是优化前的 1.95 倍,建立的模型合理可靠,拟合程度良好。

(3)内生真菌 TD16 色素对细菌有广谱抑制作用,尤其对于革兰氏阳性菌作用较强,对部分真菌如头孢霉、黄曲霉等也都有较强的抑制,因而在食品工业有潜在的应用价值。

参考文献

- [1] Mapari S A S, Meyer A S, Thrane U, et al. Identification of potentially safe promising fungal cell factories for the production of polyketide natural food colorants using chemotaxonomic rationale [J]. Microbial Cell Factories, 2009, 8(8): 1237.
- [2] Mapari S A S, Thrane U, Meyer A S. Fungal polyketide azaphilone pigments as future natural food colorants? [J]. Trends in Biotechnology, 2010, 28(6): 300-307.
- [3] Dufosse L, Fouillaud M, Caro Y, et al. Filamentous fungi are large-scale producers of pigments and colorants for the food industry [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2014, 26: 56-61.
- [4] 陈立立, 洪巧妹, 邱敏, 等. 一株银杏内生真菌红色素稳定性的研究 [J]. 中国食品添加剂, 2011, 3: 118-121.
- [5] Feng Y, Shao Y, Chen F. Monascus pigments [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 96(6): 1421-1440.
- [6] 曾强松, 童海宝, 徐静安. 三孢布拉霉发酵生产 β-胡萝卜素工艺研究 [J]. 工业微生物, 2002, 32(4): 7-10.
- [7] 黄长武, 李兴禄, 黄艺, 等. 马尔尼菲青霉菌的鉴定 [J]. 微生物学杂志, 2006, 26(1): 61-65.
- [8] 韩建荣, 徐军. 青霉 PT95 菌株固态发酵产生类胡萝卜素的研究 [J]. 微生物学报, 1999, 39(2): 148-153.
- [9] Cho Y J, Hwang H J, Kim S W, et al. Effect of carbon source and aeration rate on broth rheology and fungal morphology during red pigment production by Paecilomyces sinclairii in a batch bioreactor [J]. Journal of Biotechnology, 2002, 95(1): 13-23.

1.2 催化剂的制备

以 30 mL 水和一定量的乙醇为溶剂,在低温搅拌的条件下加入 1.384 g 四氯化钛、0.015 g PEG-4000、0.2 g 尿素,并加入超声分散好的 5 mg/mL 的 GO 分散液(改性 Hummers 法制备)^[7],搅拌 10 min,将溶液倒入聚四氟乙烯高压反应釜中,105℃ 水热晶化 6 h。之后将样品离心洗涤干燥,装入样品袋备用。

本实验中,制备了 4 组样品:1 号样(无尿素的纳米二氧化钛);2 号样(含有尿素的纳米二氧化钛);3 号样(无尿素的纳米二氧化钛与氧化石墨烯复合物);4 号样(含有尿素的纳米二氧化钛,之后加入 GO、PEG 二次水热)。取少许烘干样品研磨成粉末,装入自封袋用于 FT-IR 分析、XRD 测试及拉曼表征,取少量的粉末分散于乙醇中,用滴管移取少量液体滴在铜网上,待其自然风干后用于 TEM 观测。

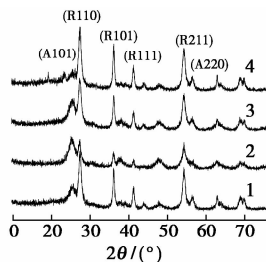
2 结果与讨论

2.1 催化剂表征

2.1.1 不同催化剂的 XRD 分析

不同催化剂 XRD 图谱如图 1 所示。由图 1 可以看出,合成的 4 个催化剂为锐钛矿/金红石型混晶结构,2 θ 为 25.3、37.9、48.1、62.7° 处的衍射峰为锐钛矿的(101)、(104)、(200)、(204)晶面。2 θ 为 27.3、36.0° 处的衍射峰为金红石的(110)、(101) 2 个主峰^[8]。掺杂了尿素之后,形成的混晶型 TiO₂ 中锐钛矿比例进一步增大,锐钛矿/金红石比例差进一

步缩小,其中锐钛矿的晶粒尺寸在 8.8 nm 左右,而金红石的直径在 15.4 nm 左右。加入 GO 没有加入尿素的样品亦为混晶结构,图中并没有看到 GO 的衍射峰,主要有 2 个原因:一是 GO 的衍射峰与锐钛矿(101)衍射峰较为接近,所以 GO 的碳峰被(A101)峰所掩盖;二是由于复合物中 GO 的含量很少。



1—TiO₂; 2—N-TiO₂; 3—TiO₂/GO; 4—N-TiO₂/GO

图 1 不同催化剂的 XRD 谱图

2.1.2 不同催化剂的透射电镜分析

4 组样品的 TEM 表征图如图 2 所示。由图(a)可以看出,样品非常稀疏地分散于铜网表面,TiO₂ 纳米粒子尺寸在 10 nm 左右。由如图(b)可以看出,TiO₂ 纳米粒子分布与未加尿素样品相比较为密集,且有少许纳米颗粒出现了团聚现象,TiO₂ 晶粒尺寸也在 10 nm 左右。由图 2(c)、图 2(d)可以看出,是否加入尿素对 TiO₂ 的分散有着较大的影响。图 2(c)与图 2(d)中 GO 呈折褶的棒状分布在体系中,这主要是由于经过超声分散后的 GO 剥落成了

(上接第 100 页)

- [10] 张延威,韩燕峰,刘讯,等. 紫拟青霉色素的提取[J]. 西南农业学报,2014,27(1):459-461.
- [11] Anastasiadis I A, Giannakou I O, Prophetou Athanasiadou D A, et al. The combined effect of the application of a biocontrol agent *Paecilomyces lilacinus*, with various practices for the control of root-knot nematodes[J]. Crop Protection, 2008, 27(3):352-361.
- [12] Elbandy M, Shinde P B, Hong J, et al. α -Pyrones and yellow pigments from the sponge-derived fungus *Paecilomyces lilacinus*[J]. Bull. Korean Chem Soc, 2009, 30(1):188-192.
- [13] Dong Qinglin, Wang Huarui, Xing Xiangying, et al. Identification and characterization of a special species of *Paecilomyces*[J]. Annals of Microbiology, 2012, 62(4):1587-1592.
- [14] Hughes E O, Gorham P R, Zehnder A. Toxicity of a unialgal culture of *Microcystis aeruginosa*[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1958, 4(3):225-236.
- [15] Su W T, Tsou T Y, Liu H L. Response surface optimization of microbial prodigiosin production from *Serratia marcescens*[J]. Journal of

the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2011, 42(2):217-222.

- [16] Suryawanshi R K, Patil C D, Borase H P, et al. Studies on production and biological potential of prodigiosin by *Serratia marcescens*[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, 173(5):1209-1221.
- [17] 董庆霖,陈博,邢向英,等. 一株蓝藻内生真菌的鉴定及其产物抑菌活性[J]. 化工学报, 2011, 62(6):1656-1661.
- [18] Chiu S W, Poon Y K. Submerged production of *Monascus* pigments[J]. Mycologia, 1993:214-218.
- [19] Im J K, Cho I H, Kim S K, et al. Optimization of carbamazepine removal in O₃/UV/H₂O₂ system using a response surface methodology with central composite design[J]. Desalination, 2012, 285:306-314.
- [20] 童群义,高孔荣,周正宏. 红曲色素抑菌作用的研究[J]. 食品工业科技, 1997, 5(2):5-6.
- [21] 后家衡,叶砚,徐晓波,等. 红曲霉产色素发酵条件优化及抑菌性能的测定[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2009, 27(4):363-367. ■