

Gibberella intermedia WX12 产特异性糖苷酶的发酵工艺优化

杨南南, 李会, 吴燕, 张晓梅, 许正宏, 史劲松*

(江南大学药学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 赤霉菌(*Gibberella intermedia* WX12)糖苷酶能将黄姜薯蓣皂苷转化为薯蓣皂苷元。先后采用单因素实验和正交实验对 *G. intermedia* WX12 发酵产糖苷酶的培养基组分和发酵工艺进行了优化。确定最佳发酵工艺条件为: 葡萄糖 5 g/L, 酵母粉 25 g/L, NaCl 1.16 g/L, KH₂PO₄ 2.72 g/L, MgSO₄ 0.3 g/L, 培养基初始 pH 6.0, 接种量为体积分数 8%。*G. intermedia* WX12 在上述条件下, 于 220 r/min、30 ℃摇床培养 96 h, 糖苷酶活性达到 28.1 U/mL, 较优化前提高 4 倍。在此基础上利用粗酶液对黄姜薯蓣皂苷进行转化, 50 ℃条件下转化 12 h 后, 薯蓣皂苷元转化率可达到 60%。

关键词: 薯蓣皂苷元; 糖苷酶; 优化; 赤霉菌

中图分类号: Q 815 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2016)010—1028—07

Optimization of Culture Conditions for Specific Production of Glycosidase from *Gibberella intermedia* WX12

YANG Nannan, LI Hui, WU Yan, ZHANG Xiaomei, XU Zhenghong, SHI Jingsong*

(School of Pharmaceutical Science, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: A glycosidase from *Gibberella intermedia* WX12 could convert dioscin into diosgenin. Through the single factor and orthogonal experiments, the optimal fermentation medium was found to consist of 5 g/L glucose, 25 g/L yeast, 1.16 g/L NaCl, 2.72 g/L KH₂PO₄ and 0.3 g/L MgSO₄ and the culture parameters for dioscin-glycosidase production were temperature 30 ℃, rotation speed 220 r/min, initial pH 6.0 and inoculum size 8.0% (v/v). With these conditions, the enzyme production had a similar trend to that of cell growth curve, and the highest activity of glycosidase reached 28.1 U/mL after fermentation for 96 h, which was 5 times higher than that before optimization. A conversion rate of 60% was achieved when the obtained crude enzyme was used to convert dioscin from *Dioscorea zingiberensis* C.H. Wright into diosgenin at 50 ℃ for 12 h.

Keywords: diosgenin, glycosidase, optimization of fermentation conditions, *Gibberella intermedia* WX12

收稿日期: 2015-03-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(21206055); 国家 863 计划项目(2011AA02A211)。

* 通信作者: 史劲松(1971—), 男, 江苏泗阳人, 工学博士, 教授, 主要从事生物技术制药研究。E-mail: shijs@163.com

薯蓣皂苷元为 Δ^5 -异螺旋甾烯-3 β -醇,是异螺旋甾烷的衍生物^[1-2],俗称薯蓣皂素。薯蓣皂苷元是合成多种甾体激素和甾体避孕药的重要医药原料,被誉为“药中黄金”^[3]。我国是黄姜的主要生产国,薯蓣皂苷元年产量约为3 000 t,占世界总产量的60%^[3-4],具有显著的资源优势。但工业生产上通常利用浓酸高温水解黄姜根茎制备薯蓣皂苷元^[5-6],该方法不仅资源利用率低,而且容易造成严重的环境污染^[7],因此亟需发展以生物转化法为代表的绿色生产工艺。2015年1月底,国家科技部社会发展司在湖北十堰市召开黄姜产业清洁生产论证会,会议认为我国黄姜清洁化生产技术尚待深入开发和全面推广,应创新发展生物技术,发展清洁生产技术,提高黄姜资源的综合利用率。薯蓣皂苷元在植物中极少以游离态形式存在,主要通过薯蓣皂苷的C3位皂苷键与其糖链配基相连(图1),进而与植物细胞壁紧密结合^[1,3]。一般的糖苷酶不能水解黄姜薯蓣皂苷的糖苷键3-O- α -L-(1 $\rightarrow$ 4)-Rha、3-O- α -L-(1 $\rightarrow$ 2)-Rha以及3-O- β -D-Glu而生成薯蓣皂苷元,因此需筛选高效、特异性的糖苷酶,才能够实现薯蓣皂苷元的清洁生产。

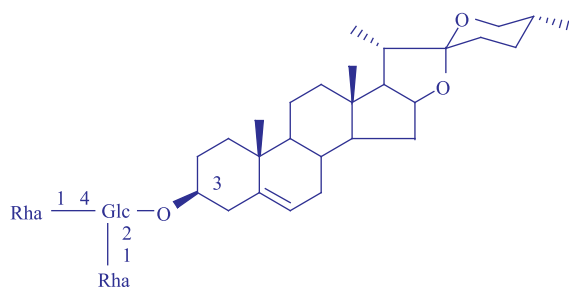


图1 薯蓣皂苷的结构式

Fig. 1 Chemical structure of dioscin

目前关于黄姜薯蓣皂苷元生物转化的研究主要有以下3种:1)直接微生物转化法,如采用哈茨木霉、新月弯孢菌对甾体皂苷进行转化^[8-9]。该法利用微生物代谢过程中产生的某个或某一系列酶对底物进行催化,但其转化周期长,每批次需要约5~7 d;2)酶法水解转化,主要采用单一纤维素酶或者复合酶对黄姜薯蓣皂苷进行转化^[10-11]。此法与微生物转化相比,省掉培养微生物所需的相关设备,解除了染菌和生产菌变异的问题。但存在特异性差,转化效率较低等弊端;3)酶法水解和微生物转化相结合^[5-6],即先利用生物酶对黄姜进行预处理,再采

用微生物对水解所得的皂苷前体进行转化。该法具备酶法和生物转化法的优点,在缩短转化周期的基础上,提高薯蓣皂苷的转化率。在生物转化法合成薯蓣皂苷元的过程中,糖苷酶活性会直接影响最终薯蓣皂苷元的得率,因此薯蓣皂苷酶发酵工艺的优化具有较大的研究价值。目前关于薯蓣皂苷水解糖苷酶的研究多集中在分离纯化以及酶学性质的研究,见表1。而且与传统的酸水解生产薯蓣皂苷元的方法相比,生物转化方法还有一定的差距。

表1 不同特异性糖苷酶的比较

Table 1 Comparison of different specific glycosidases

糖苷酶	相对分子质量/kDa	pH	最适温度/℃	参考文献
Dioscin-a-L-rhamnosidase	47	7	42	[12]
Dioscin-glycosidase	55	5	40	[13]
β -glucosidase	113	3.6~5.0	50~90	[14]
Glucosylase	66	4	50	[15]

在前期的实验研究中发现,赤霉菌(*Gibberella intermedia* WX12)产生的薯蓣皂苷糖苷酶能将黄姜薯蓣皂苷转化为薯蓣皂苷元^[16-17],但其糖苷酶产量不高。因此,以此菌株为目的菌株,通过单因素优化以及正交试验分析了菌株发酵产糖苷酶的最适培养基组分及培养条件,以期提高该菌株的产酶能力,进而提高其对薯蓣皂苷的转化效率。

1 材料与方法

1.1 菌种

赤霉菌(*G. intermedia* WX12),作者所在实验室筛选保藏^[17]。

1.2 培养基

1.2.1 种子培养基(g/L) 蔗糖 20,NaNO₃ 2.0,KH₂PO₄ 1.0,(NH₄)₂SO₄ 2,MgSO₄·7H₂O 1.0,KCl 0.5,FeSO₄ 0.01;pH 7.0。

1.2.2 初始产酶培养基(g/L) 葡萄糖 20,酵母粉 5,NaCl 1.16,KH₂PO₄ 2.72;pH 7.0。

1.3 材料与仪器

黄姜,湖北省郧西县地产;薯蓣皂苷元标准品(HPLC纯度98%),上海源叶生物科技有限公司制品;UV-2100型紫外分光光度计,上海尤尼可仪器有限公司制造;酶标仪,上海精密科学仪器有限公司制造;台式高速冷冻离心机,Eppendorf公司制造;

Ultimate 3000 型高效液相色谱仪,美国 Dionex 公司制造。

1.4 方法

1.4.1 菌体粗酶液制备 发酵液于 12 000 r/min, 4 ℃离心 15 min 后,取上清液为粗酶液。

1.4.2 糖苷酶活性测定 采用 pNPG 作为底物进行酶活测定^[17]。酶活力单位(U):在 40 ℃,pH 6.0 条件下,每分钟产生 1.0 μmol 对硝基苯酚,定义为一个活力单位。

1.4.3 发酵产酶单因素优化 采用单因素实验方法,分别改变发酵过程中的碳源种类及浓度、氮源种类及浓度、无机盐、初始 pH,以及接种量等条件进行发酵。比较发酵结束酶活,选择对酶活影响较大的因素进行后续的正交试验。

1.4.4 发酵产酶正交试验设计 将筛选出的对产酶影响较大的碳源、氮源以及初始 pH 3 个因素进行正交实验分析(表 2),确定发酵产酶的最佳培养工艺。

表 2 正交实验结果分析

Table 2 Result of the $L_9(3^3)$ orthogonal array design

实验号	A 葡萄糖质量 浓度/(g/L)	B 酵母粉质量 浓度/(g/L)	C 初始 pH	酶活/ (U/mL)
1	5	15	5.0	17.41±0.24
2	5	20	6.0	19.90±0.21
3	5	25	7.0	18.19±0.17
4	10	15	6.0	15.34±0.22
5	10	20	7.0	12.43±0.25
6	10	25	5.0	19.03±0.28
7	15	15	7.0	16.99±0.11
8	15	20	5.0	14.04±0.18
9	15	25	6.0	18.18±0.24
k_1	18.50	16.58	16.83	
k_2	15.60	15.46	17.81	
k_3	16.41	18.47	15.87	
R	2.90	3.01	1.94	

1.4.5 赤霉菌 WX-12 对薯蓣皂苷的转化 将 100 g 干黄姜进行预处理,去除其中的淀粉和纤维素,得到含有薯蓣皂苷的粗皂苷^[18]。取 1.0 g 粗皂苷置于锥形瓶中,添加粗酶液 30 mL,充分混匀,分别于 30、40、50 ℃转化 10~20 h。转化结束后用石油醚萃取 3 次,每次用量 30 mL,合并石油醚,浓缩至干,再用 2 mL 乙腈溶解,即为薯蓣皂苷元样品,用于后续分析。

1.4.6 薯蓣皂苷元测定 将转化后的薯蓣皂苷元

样品用 0.45 μm 的有机膜过滤,采用 HPLC 进行检测。色谱柱采用 Agilent TC-C18(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相为 V(乙腈):V(水)=90:10,体积流量 1 mL/min;柱温为 30℃;紫外检测波长 203 nm,进样量 20 μL。

2 结果与讨论

2.1 优化前产酶曲线

将赤霉菌 WX-12 以体积分数 5%的接种量接入初始产酶培养基,定时取样,测定上清液中的粗酶活以及相应的菌体生物量。从图 2 中可以看出,在 48~96 h,菌体生长较快,生物量出现了大幅的增长,酶活在 96 h 时达到最大值 5.6 U/mL,可以看出生物量与酶活之间存在一定生长偶联关系,因此选择 96 h 作为最佳的发酵时间。

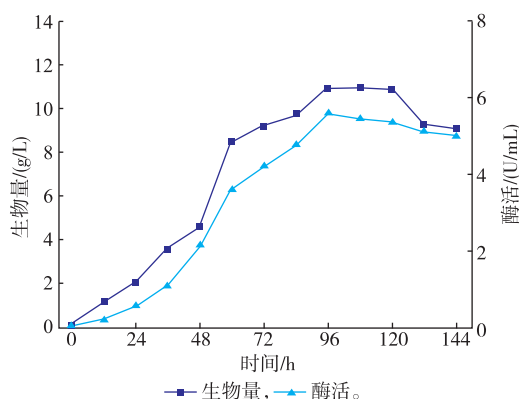


图 2 *G. intermedia* WX-12 优化前生长曲线和产酶曲线

Fig. 2 Growth and enzyme production curves of *G. intermedia* WX-12 before optimization

2.2 发酵培养基组分的优化

2.2.1 最佳碳源及其质量浓度的确定 碳源是菌体生长的重要因素,同时对产酶也有重要的影响。在初始发酵培养基中,分别添加 20 g/L 葡萄糖、蔗糖、鼠李糖、木糖、果糖、麦芽糖、环糊精、糊精、淀粉作为碳源,发酵 96 h 后测定糖苷酶酶活,结果见图 3。结果表明,以葡萄糖为碳源时,菌体产酶效果最佳,酶活达到最大,其次是麦芽糖和糊精。分析原因,葡萄糖作为可溶性碳源,在发酵初期,极易被菌体利用,对产酶有一定的促进作用。由此仍然采用葡萄糖为最佳碳源。随后,在 5~30 g/L 范围内考察了不同葡萄糖质量浓度对酶活的影响。由图 4 可知,在葡萄糖质量浓度为 10 g/L 时酶活最高,当葡萄糖质量浓度超过 10 g/L 时,酶活力下降。葡萄糖

作为培养基中唯一碳源,需要充足提供以被菌体利用。有研究发现,在一定的范围内,培养基内的糖初始质量浓度和酶产量呈正比关系,但如果糖质量浓度过高,则会降低产酶量。因此确定产酶的最佳葡萄糖质量浓度为 10 g/L。

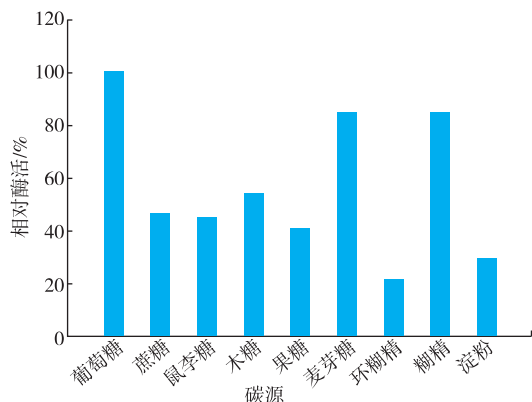


图 3 碳源种类对酶活的影响

Fig. 3 Effect of carbon sources on glycosidase activity

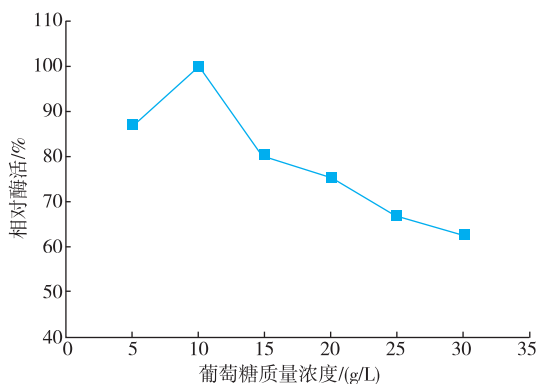


图 4 葡萄糖质量浓度对酶活的影响

Fig. 4 Effect of glucose concentrations on glycosidase activity

2.2.2 最佳氮源及其质量浓度的确定 氮源主要用于构成菌体的细胞物质和含氮代谢物。分别用 5 g/L 的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NaNO_3 、尿素、酵母粉、蛋白胨、豆粕粉、胰蛋白胨、牛肉膏作为氮源对赤霉菌 WX-12 进行培养(图 5)。结果发现与有机氮源相比,无机氮源均不利于菌体产酶。在有机氮源中,酵母粉的作用最为显著,蛋白胨其次,分析其原因,可能由于酵母粉不仅可以为微生物提供有机氮源,还提供一定的维生素、生长素等其他营养物质。因此仍采用酵母粉为最佳氮源。在发酵产酶培养基中加入不同质量浓度的酵母粉,测定酵母粉质量浓度对酶活的影响,结果见图 6。在酵母粉质量浓度为 20 g/L 时,相对酶活最高,之后随着酵母粉质量浓度的增大,菌

丝体增长迅速,后期营养不良,而不利产酶,糖苷酶酶活开始降低。由此选择酵母粉质量浓度为 20 g/L。

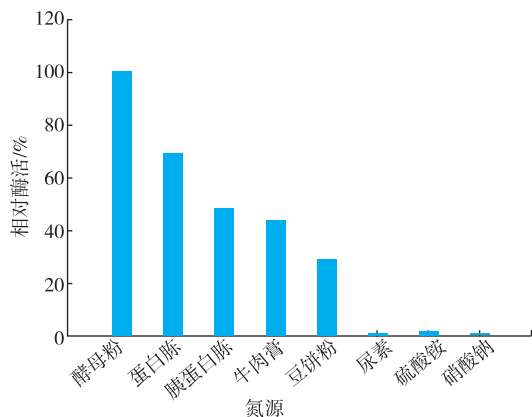


图 5 氮源种类对酶活的影响

Fig. 5 Effect of nitrogen sources on glycosidase activity

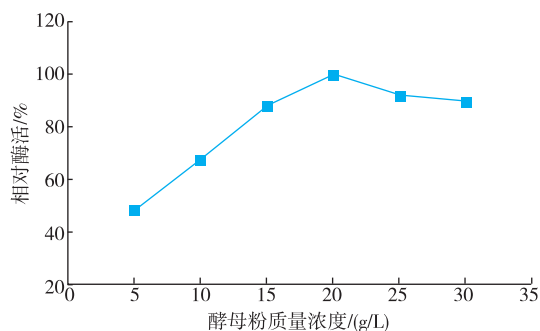


图 6 酵母粉质量浓度对酶活的影响

Fig. 6 Effect of concentrations of yeast extracts on glycosidase activity

2.2.3 无机盐对生长和产酶的影响 在发酵培养基中添加 0.05 g/L 的金属离子,其对糖苷酶酶活的影响如表 3 所示。

表 3 不同金属离子对菌株 WX-12 生长和产酶的影响

Table 3 Effect of metal ions on growth and enzyme activity from WX-12

金属离子	相对酶活/%	生物量/(g/L)	作用结果
对照	100±0.27	11.89±0.021	
ZnSO ₄	97.78±2.10	4.45±0.001	-
MnSO ₄	69.84±0.10	6.46±0.045	-
FeSO ₄	80.68±0.21	7.93±0.007	-
Fe ₂ (SO ₄) ₃	90.28±0.71	7.53±0.012	-
AlCl ₃	93.12±0.43	7.4±0.004	-
MgSO ₄	136.03±0.55	13.36 ±0.096	+
CaCl ₂	109.06±0.94	11.88±0.018	+
CuSO ₄	57.97±0.52	10.56±0.007	-

注:“+”表示促进作用;“-”表示抑制作用。

结果表明, Mg^{2+} 对糖苷酶的激活作用最为显著, 相对酶活达到 136%, 其次 Ca^{2+} 也对糖苷酶表现出促进作用, 而其余几种金属离子均表现出不同程度的抑制, 因此最终选择在培养基中添加 $MgSO_4$ 。鉴于 $MgSO_4$ 对酶活的影响比较显著, 随后又考察不同质量浓度的 $MgSO_4$ 对酶活的影响。如图 7 所示, 在一定质量浓度范围内, 酶活随着 $MgSO_4$ 质量浓度的增加而增加, 当镁离子的添加质量浓度为 0.3 g/L 时, 酶活达到最大。但当镁离子质量浓度超过 0.3 g/L 后, 酶活开始下降, 这可能由于高质量浓度金属离子对微生物生长代谢产生了抑制, 并影响了糖苷酶的表达, 从而总体上表现出酶活性的降低。

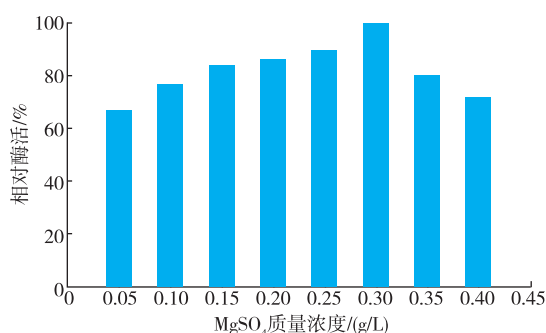


图 7 Mg^{2+} 对酶活的影响

Fig. 7 Effect of Mg^{2+} concentrations on glycosidase activity

2.3 发酵培养条件的优化

2.3.1 初始 pH 的影响 培养基的初始 pH 一方面通过改变菌体的细胞膜电荷、膜渗透性及营养物质离子化程度, 从而影响菌体对养分的吸收。另一方面, 不同的 pH 对酶的活性也有一定程度的影响。在研究中将发酵培养基初始 pH 分别调至 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0 和 8.5 (图 8), 考察其对糖苷酶酶活的影响。当初始 pH 5.0 时, 糖苷酶的活性最高, 随后酶活随着 pH 的增大而显著下降。该结果与前期研究中发现的该糖苷酶为酸性糖苷酶的结果一致。

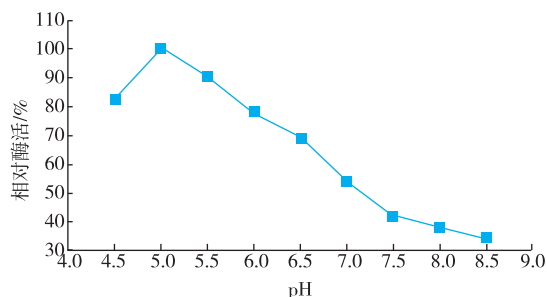


图 8 初始 pH 对酶活的影响

Fig. 8 Effects of the initial pH on glycosidase activity

2.3.2 接种量的影响 按照体积分数 2%、5%、8%、10%、12%、15% 接种, 考察不同的接种量对酶活的影响。如图 9 所示, 在体积分数 2%~8% 的接种量条件下, 酶活都维持在 90% 左右, 接种量体积分数 8% 时酶活达到最大, 接种量持续增加酶活开始下降。当接种量过低时, 菌株生长的延滞期较长, 且营养过剩, 对后期的生长和产酶产生较大影响; 接种量过高, 菌丝体生长过快, 发酵液黏度增大, 也不利于产酶。赤霉菌 WX-12 对于接种量有较宽的适应能力, 在体积分数 2%~8% 的接种量条件下酶活几乎持平, 这说明菌丝体在这个范围内的生长情况对酶活影响不大。因此, 确定最佳接种量为 8%。

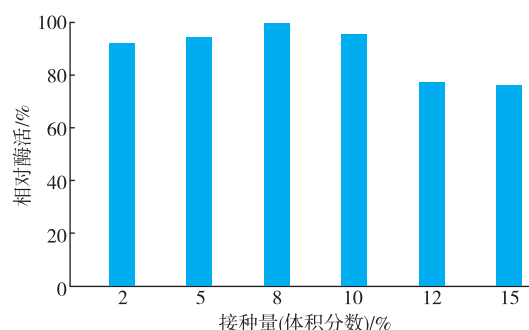


图 9 接种量对酶活和生物量的影响

Fig. 9 Effects of inoculum sizes on glycosidase activity

2.3.3 正交实验优化 根据单因素优化实验结果, 确定对赤霉菌 WX-12 糖苷酶酶活影响较大的因素为碳源、氮源及初始 pH。随后针对这 3 个因素, 设计三因素三水平的正交试验, 综合考察不同因素与水平对酶活的交互影响。表 2 结果显示, 在第 2 组试验条件下 (葡萄糖 5.0 g/L, 酵母粉 20 g/L, 初始 pH 6.0), 糖苷酶酶活最高, 达到 596.9 U/mL。在此基础上, 根据极差和方差分析 (表 2) 可知正交试验所选择的 3 个因素中, B (酵母粉质量浓度) 对酶活的影响最大, 其次是 A (葡萄糖质量浓度)。由此确定最适条件为: 葡萄糖 5 g/L, 酵母粉 25 g/L, 初始 pH 为 6.0。利用单因素实验和正交试验的分析结果, 将赤霉菌 WX-12 在最适条件下培养, 其糖苷酶酶活可达到 28.1 U/mL, 较优化前 (5.6 U/mL) 提高了 4 倍。

2.4 赤霉菌 WX-12 对薯蓣皂苷的转化

糖苷酶的最适温度通常在 42~60 °C 之间, 但该温度区间不利于微生物生长。将微生物在其适宜生长的温度下培养, 产酶量达到最大后提高培养温度, 使之接近糖苷酶的最适温度, 这样可以在短时

间迅速提高转化率。但若温度过高,会影响酶的稳定性、损失酶活。作者所在课题组在对赤霉菌 WX-12 所产的薯蓣皂苷糖苷酶的酶学性质研究中,进行了糖苷酶的最适温度和稳定性实验,发现此糖苷酶在 50 ℃ 时活性最高,高于 60 ℃ 酶活反而开始下降。

研究中尝试在不同温度下进行转化,结果如图 10 所示。

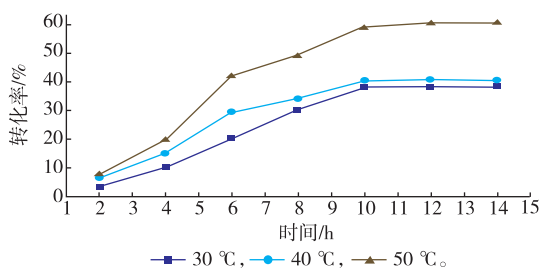


图 10 不同酶解温度对转化率的影响

Fig. 10 Effect of temperature on the conversion rate of diosgenin

在 30、40、50 ℃ 条件下,50 ℃ 时产物薯蓣皂苷元的得率明显高于 30、40 ℃,表明此糖苷酶在 50 ℃ 时活性最高,酶解 12 h 时转化率最高,达到 60% 左右。

3 结 语

通过单因素实验和正交实验对赤霉菌 WX-12 发酵产糖苷酶的培养基组分和培养条件进行了研究,最终确定最适产酶条件为葡萄糖 5 g/L,酵母粉 25 g/L, $MgSO_4$ 0.3 g/L, KH_2PO_4 2.72 g/L, NaCl 1.16 g/L, 初始 pH 6.0, 接种量体积分数 8%。赤霉菌 WX-12 在最适条件下培养 96 h, 酶活达到最大为 28.1 U/mL, 是优化前(5.6 U/mL)的 5 倍。通过产酶工艺的优化,糖苷酶酶活大幅度提高,为后续糖苷酶的分

离纯化及酶学性质研究奠定了基础。在研究中还利用粗酶液进行转化实验,结果表明,在 50 ℃ 条件下转化 12 h,薯蓣皂苷元转化率达到 60% 左右,与全细胞转化(5~7 d)相比,可以缩短反应周期,提高薯蓣皂苷元的得率。与此同时,在发酵工艺优化的过程中,发现利用氮源酵母粉的成本过高,不利于生产发展,可以考虑使用复合氮源来替代酵母粉。此外,作者所在课题组正在尝试构建工程菌,以便大量制备特异性的薯蓣皂苷糖苷酶,直接用于酶法转化。

参考文献:

- [1] 李辉,倪晋仁. 薯蓣皂苷元的研究进展[J]. 精细化工, 2010, 27(1): 60-65.
LI Hui, NI Jinren. Progress in studies of diosgenin[J]. *Fine Chemicals*, 2010, 27(1): 60-65. (in Chinese)
- [2] LIU L, DONG Y S, QI S S, et al. Biotransformation of steroidal saponins in *Dioscorea zingiberensis* C H Wright to diosgenin by *Trichoderma harzianum*[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 85: 933-940.
- [3] 朱余玲, 黄文, 刘巍, 等. 复合微生物发酵法从黄姜中提取皂素研究[J]. 南水北调与水利科技, 2009, 7(6): 442-446.
ZHU Yuling, HUANG Wen, LIU Wei, et al. Diosgenin extracting from dioscore zingiberensis Wright by compound microorganisms fermentation method[J]. *South-to-North Water Transfers and Water Science and Technology*, 2009, 7(6): 442-446. (in Chinese)
- [4] 王颖, 富瑶瑶, 刘廷强, 等. 发酵产薯蓣皂苷酶的反应条件[J]. 大连工业大学学报, 2010, 29(3): 157-160.
WANG Ying, FU Yaoyao, LIU Tingqiang, et al. Production and properties of dioscin-glycosidase [J]. *Journal of Dalian Polytechnic University*, 2010, 29(3): 157-160. (in Chinese)
- [5] ZHU Y L, HUANG W, NI J R, et al. Production of diosgenin from *Dioscorea zingiberensis* tubers through enzymatic saccharification and microbial transformation[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 85: 1409-1416.
- [6] ZHU Y L, HUANG W, NI J R. A promising clean process for production of diosgenin from *Dioscorea zingiberensis* C H wright[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2010, 18: 242-247.
- [7] 喻东, 沈竞, 高陪, 等. 微生物发酵转化黄姜生成薯蓣皂苷元的工艺研究 [J]. 四川大学学报 (自然科学版), 2009, 46(6): 1781-1786.
YU Dong, SHEN Jing, GAO Pei, et al. The microbial transformation technology of the *Dioscorea zingiberensis* C H wright generating the diosgenin[J]. *Journal of Sichuan University (Natural Science Edition)*, 2009, 46(6): 1781-1786. (in Chinese)
- [8] 刘琳. 哈茨木霉生物转化盾叶薯蓣中的皂苷及其产物提取分离[D]. 大连: 大连理工大学, 2010.

- [9] 冯冰. 甾体皂苷生物转化及其特异性糖苷酶的研究[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2005.
- [10] LIU W, HUANG W, SUN W L, et al. Production of diosgenin from yellow ginger (*Dioscorea zingiberensis* C H wright) saponins by commercial cellulase[J]. **World J Microbiol Biotechnol**, 2010, 26: 1171-1180.
- [11] 徐升运, 赵文娟, 陈卫锋. 应用生物酶法提取黄姜皂素的清洁工艺研究[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(2): 162-164.
XU Shengyun, ZHAO Wwnjuan, CHEN Weifeng. Application of complex enzyme in extraction of yam sapogenins [J]. **Environmental Science and Technology**, 2011, 34(2): 162- 164. (in Chinese)
- [12] QIAN S, YU H S. Purification and characterization of dioscin- α -L-rhamnosidase from pig liver [J]. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 2005, 53(8): 911-914.
- [13] FU Y Y, YU H S, TANG S H, et al. New dioscin-glycosidase hydrolyzing multi-glycosides of dioscin from Absidia strain[J]. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, 2010, 20(6): 1011-1017.
- [14] LEI J, NIU H, LI T, et al. A novel β -glucosidase from *Aspergillus fumigatus* releases diosgenin from spirostanosides of *Dioscorea zingiberensis* C H wright(DZW)[J]. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 2012, 28(3): 1309-1314.
- [15] FENG B, HU W, MA B, et al. Purification, characterization, and substrate specificity of a glucoamylase with steroidal saponin-rhamnosidase activity from *Curvularia lunata*[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2007, 76(6): 1329-1338.
- [16] 张佳佳, 李会, 李恒, 等. 高效转化黄姜皂苷为薯蓣皂苷元菌株的筛选及转化条件优化 [J]. 生物工程学报, 2013, 29(6): 848-852.
ZHANG Jiajia, LI Hui, LI Heng, et al. Screening and condition optimization of a strain for efficiently biotransformation of saponins in *Dioscorea zingiberensis* into diosgenin[J]. **Chinese Journal of Biotechnology**, 2013, 29(6): 848-852. (in Chinese)
- [17] 张佳佳. 黄姜薯蓣皂苷生物转化菌株的筛选、条件优化及其催化性质的初步研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013.
- [18] 李会, 张佳佳, 梁静怡, 等. 基于酶法辅提和微波酸解的黄姜薯蓣皂苷元清洁生产工艺[J]. 食品科学, 2012, 33(20): 94-98.
LI Hui, ZHANG Jiajia, LIANG Jingyi, et al. Clean production of diosgenin from *Dioscorea zingiberensis* C H wright based on enzymatic treatment and microwave-assisted acidolysis[J]. **Food Science**, 2012, 33(20): 94-98. (in Chinese)

科 技 信 息

欧盟评估植物油等食品加工过程中产生的甘油基污染物风险

据欧盟食品安全局(EFSA)消息, 2016年5月3日欧盟食品安全局就植物油等食品加工过程中产生的甘油基污染物对人构成的风险发布意见。

棕榈油等植物油在高温加工过程中会产生缩水甘油酯脂肪酸酯类物质(GE)、3-氯丙二醇(3-MCPD)、和2-氯丙二醇(2-MCPD)等有害物质, 欧盟食品安全局分别进行了风险评估。

欧盟食品安全局认为, 缩水甘油酯类具有致癌性, 因此不制定安全限量; 3-MCPD、2-MCPD的毒理学数据较少, 尚不能制定安全限量。

[信息来源] 食品伙伴网. 欧盟评估植物油等食品加工过程中产生的甘油基污染物风险 [EB/OL]. (2016-5-12). <http://news.foodmate.net/2016/05/378873.html>