

红曲霉的研究进展

侯敏, 周端珉, 王艳新, 唐帅, 金海如* (浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江金华 321004)

摘要 红曲霉是我国重要的微生物资源, 被广泛应用于食品及药品等方面。对红曲霉的营养成分开发利用及最新研究进展进行综述, 并指出红曲霉研究中存在的问题及今后研究的主要方向。

关键词 红曲霉; 色素; 洛伐他汀; 桔霉素

中图分类号 S188 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)11-03382-03

Research Progress of *Monascus purpureus* Went

HOU Min, JIN Hai-ru et al (College of Chemistry and Life Science, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004)

Abstract *Monascus purpureus* as the important filamentous fungus has been widely used in food, medicine, etc. The development and utilization of nutrients of *Monascus purpureus* and the latest research progress WERE summarized, the existing problems in the research of *Monascus purpureus* and the main direction of future research were pointed out.

Key words *Monascus purpureus*; Pigment; Lovastatin; Citrinin

红曲霉(*Monascus purpureus* Went)别名红曲等, 在我国的生产和使用已有1 000多年历史, 为真菌门子囊菌纲真子囊菌亚纲红曲霉属。古籍中对它的特殊功效及在食品上的应用早有记载。《本草纲目》记载:“红曲主治消食活血, 健脾燥胃。治赤白痢, 下水谷, 跌打扑伤损, 治女人血气痛及产后恶露不尽”。而近代中医药理论把红曲的药用功能主要概括为“除湿痰, 化血化瘀, 健脾消食, 治赤白痢, 下水谷”等^[1]。红曲霉有库曲、轻曲、色曲3个品种。库曲主要酿制黄酒、果酒和药酒; 轻曲用于腐乳、酱菜、果酒、药酒及食品着色; 色曲用于食品着色^[2]。红曲霉能够产生多种对人体有益的代谢产物, 如胆固醇合成抑制剂、抗生素、麦角固醇和中药成分等。随着国内外学者对红曲霉产生的有效生理活性物质的深入研究, 越来越多具有药用价值、营养价值的代谢产物被发现。笔者就红曲霉的国内外研究进展进行综述^[3]。

1 红曲霉及其相关产品的应用

红曲霉是一种小型丝状腐生真菌, 主要种类有红曲霉(*M. anka*)、红色红曲霉(*M. ruber*)、烟色红曲霉(*M. fuliginosus*)、发白红曲霉(*M. albidus*)、锈色红曲霉(*M. rubigi-nosus*)、变红红曲霉(*M. serorubescens*)和紫色红曲霉(*M. purpureus*)等^[4]。红曲霉能够产生醇、酸、酯等多种芳香物质(初级代谢产物)和多种水解酶类如淀粉分解酶、蛋白质分解酶、半乳糖分解酶、核糖核酸分解酶等, 使食品在发酵过程中产生优质香气和甘甜味道; 而它的次级代谢产物如色素、抗菌素、胆固醇抑制剂、中药成分等更是近年来人们研究的热点^[5]。在红曲菌菌丝体中, 蛋白质、氨基酸总量和必需氨基酸含量都很高。红曲霉产品作为一种天然色素, 在国内应用广泛, 在食品方面用做果味水糖果、糕点、熟肉制品等的着色剂; 在药品

方面红曲霉中的洛伐他汀具有降胆固醇、降血脂的作用; 在工业上, 红曲霉产生的莫纳斯汀A(Monascidin A)、安卡内酯(Ankalactone)、几丁质酶和糖肽类物质等可以开发应用为安全的食品防腐剂^[6]。

1.1 红曲霉及红曲色素 红曲色素以粮食为原料, 是红曲菌培养过程的代谢产物, 一般情况下, 以大米为原料, 生产红曲米的回收率可达50%~60%, 红曲米的色素含量可达5%~10%, 而其他天然色素在原料中的含量则大多在3%以下^[7]。红曲色素结构有10种, 其中6种为醇溶性的色素, 另外4种为水溶性色素^[8]。红曲霉发酵所产生红曲色素有20%~30%分泌到发酵液中(即胞外色素), 70%~80%在菌体内(胞内色素)。胞内色素多为醇溶性色素, 而胞外色素多为水溶性色素。对红曲霉发酵液中红曲色素的提取可以采用活性炭(粉状)吸附法、等电点共沉淀法等。活性炭吸附法是先利用活性炭吸附发酵液中的色素, 然后用乙醇进行洗脱。研究发现, 以粉状活性炭吸附后, 以95%的乙醇在50℃洗脱30 min效果较好, 但活性炭吸附的色素不易洗脱, 色素回收率较低。等电点共沉淀法是通过调节发酵液的pH到豆蛋白的等电点, 从而使与豆蛋白结合的水溶性色素一起沉淀下来, 然后将发酵液离心沉淀, 浓缩后获水溶性红曲色素。该方法在pH 3.1~3.5范围内沉淀效果较好, 对色素的提取率较活性炭吸附法较高。菌体内红色素提取主要是浸提法。但湿菌体直接用有机溶剂浸提的效果不够理想, 浸提液中色素含量很低, 且对浸提液进行浓缩时, 因水含量过高, 有机溶剂蒸发慢。对菌体进行烘干处理后进行色素提取的效果更好, 菌体烘干后有机溶剂对色素的浸提速度明显高于湿菌体, 浸提液色价高, 且缩短了浓缩时间, 避免了红曲色素发生部分聚合反应, 以及提取液的沉淀变性。菌体内色素大多为醇溶性色素, 乙醇和丙酮提取率较高, 但从经济和毒性方面考虑, 乙醇较为适宜, 且易回收, 便于色素的干燥浓缩, 其中以60%的乙醇于60℃恒温处理1 h获得了最大的菌体色素提取率。在用乙醇提取菌体色素的同时, 加入一定量的钠盐、钙盐或其混合物, 均可以提高提取效果, 可能是由于2种金属离子的存在改变了细胞膜的通透性, 从而使色素提取率

基金项目 国家自然科学基金项目(41371291); 浙江省自然科学基金项目(LY12C01002); 浙江省重中之重学科现代农业生物技术与作物病害防控开放基金项目。

作者简介 侯敏(1989-), 女, 湖北武汉人, 硕士研究生, 研究方向: 植物生物技术。*通讯作者, 教授, 博士, 从事AM真菌的生态及生物肥料技术研究。

收稿日期 2014-03-01

提高^[9-10]。

1.2 红曲霉及桔霉素 1995 年,法国学者 Blanc 发现某些红曲霉菌株代谢会产生对人畜有害的真菌毒素——桔霉素,从而引起了人们对红曲霉中桔霉素问题的关注。桔霉素有显著的肾脏毒性,毒性较明显,能引起试验动物的肾脏肿大、尿量增多、肾小管扩张和上皮细胞变性坏死等症状,并有致癌性而且还能引发基因突变^[11]。但是,并非所有的红曲菌都会产生桔霉素,例如日本用红色红曲霉、毛红曲霉、紫色红曲霉可以生产出不含桔霉素的产品,而且桔霉素的生产与否和生产方法有关,生产工艺条件决定桔霉素的含量。我国有关红曲色素产品的国家标准有 3 个,即 2005 年颁布的 GB15961-2005《红曲红色素》、2008 年颁布的 GB4926-2008《红曲米(粉)》和 2009 年 3 月 1 日正式实施的 GB T5009.222-2008《红曲类产品中桔青霉素的测定》,另外还有一个功能性红曲的轻工行业标准 QB/T2847-2007。但是现有的 2 个红曲色素产品的国家标准中,均没有提及色素产品中桔霉素的限量指标^[12]。对于桔霉素的检测,因为在红曲产品中含量较低,而且受其他物质干扰严重,测定的难度较大。目前,桔霉素的检测方法有:高效液相色谱法、酶联免疫法、抑菌圈法、薄层层析法。其中,HPLC 测定桔霉素含量具有灵敏度高、检测时间快速、定性定量准确可靠的特点。李志强等应用 HPLC 方法在桔霉素浓度为 0.005 mg/L 时仍可检出,而在 0.002 mg/L 时检测不到桔霉素,因此确定 HPLC 方法对桔霉素的最低检出限为 0.005 mg/L^[13]。

1.3 红曲霉及洛伐他汀 洛伐他汀是最初从红曲霉菌中发现的生理活性物质,用于治疗高胆固醇症,能阻止动脉硬化发展,减少心肌梗塞等的发病危险^[14]。因为其可以针对病因,且具有疗效显著、毒副作用少、耐受性好等优点而受到广泛重视和好评。临床证明,该物质有明显的降低血清总胆固醇(TC)及血清中甘油三脂(TG)和升高血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的作用,该物质的特征为抗阻碍胆固醇合成系统中的限速酶 HMG-CoA (3-羟基-3-甲基-戊二酰 CoA)、还原酶(羟戊二酰辅酶 A),且抑制作用最高^[15]。虽然红曲霉洛伐他汀的产量较低,但由于红曲菌在食品方面的安全性,所以研究如何提高红曲菌洛伐他汀的发酵水平具有现实意义。一般可以通过选育高产洛伐他汀菌株和改善发酵工艺条件 2 种途径来实现。在菌种选育方面,刘月等利用种间双亲活化原生质体融合选育的融合株,以甘油为原料液,洛伐他汀产量达到 1 752.46 mg/L^[16];张良利用紫外-LiCl 复合诱变方法得到的菌株洛伐他汀的产量为 250.54 μg/g^[17]。目前,发酵生产洛伐他汀多采用液体深层发酵工艺,红曲霉为丝状真菌专性好氧,由于菌丝发达其游离细胞在搅拌罐中进行深层发酵时,在罐中易形成菌丝团,引起氧气及其他营养物质的传递困难,或由于菌丝缠绕于搅拌叶上,使搅拌阻力增加,从而使产品产率低于传统固态发酵。王克明等采用聚乙烯醇和海藻酸钠双载体固定红曲菌细胞,采用气升式生物反应器发酵洛伐他汀,产量高达 2.59~2.68 mg/ml^[18]。Bo-Bo Zhang 等利用 4 mm×4 mm×4 mm 的琼脂块作为固体发

酵的载体,洛伐他汀产量达到 2 047.0 mg/ml^[19]。

1.4 红曲霉及酶类物质 红曲霉在生长过程中产生如蛋白酶、淀粉酶、糖化酶、果胶酶、麦芽糖酶等多种酶类物质^[20]。红曲中的淀粉酶及糖化酶几乎能将淀粉完全水解成葡萄糖,利用红曲这一特性生产葡萄糖,比酸水解法生产葡萄糖具有原料利用率高、成本降低、产品质量高等突出优点。我国浙江、福建、台湾等省利用红曲中含有淀粉酶、糖化酶作为糖化发酵剂酿制红曲酒,十分有名^[21]。同时,红曲霉产生的蛋白酶可用来腌渍一些高蛋白食品。

2 红曲霉的利用

2.1 食品领域 传统的红曲霉主要用于酿醋、酿酒、食品着色及肉类保存等。红曲黄酒是以大米为主要原料、红曲为糖化发酵剂酿制而成的一种低度黄酒饮料,是我国南方特有的传统饮品。红曲黄酒就是先将糯米蒸煮,凉开水淋洗降温至室温,然后接种糖化菌和酵母,添加原料酒、红曲霉和水发酵后经压榨、澄清、储存、调配而成的。红曲霉代谢过程中产生的色素与其他天然色素相比具有热稳定性好、蛋白质着色力强、对酸碱稳定、色调柔和的特点,因此,在食品方面被广泛地用于糕点、糖果、果酱、果汁等的着色。红曲色素具有水溶性,而且在注射液和腌制液中具有良好的分散性,颜色也与天然肉色相近,易于调配,在烤肉、火腿肠、火腿等肉制品中也应用广泛。

2.2 医药领域 红曲霉发酵物以其降血脂、降血压、营养丰富等多种功效,同时还有副作用小、使用安全等多种优势,可制成保健食品或药物,具有极为广阔的应用前景。各国都相继以红曲发酵产物开发出各种治疗药物和保健食品。红曲中的洛伐他汀是医学界公认的降低人体胆固醇的理想药剂,具有低毒、高效、安全的特点。它能特异性对抗抑制胆固醇合成系统中的限速酶 HMG-CoA 还原酶的活性,通过增加 apoB. E(载脂蛋白)受体活性,从而降低 VLDL(极低密度蛋白)、LDL(低密度蛋白)及 IDL(中密度蛋白)的血浆脂蛋白浓度,代偿性地增高 LDL 受体的活性,最终促进血浆中 LDL 的清除,达到降低血浆中胆固醇浓度的目的。血液中洛伐他汀浓度只要达到 0.001~0.005 μg/ml,就可以使胆固醇合成受阻。洛伐他汀的碱金属盐和土族金属盐分别具有预防和治疗胆结石,前列腺肥大和肿瘤的作用,能够使胆结石形成指数下降;改善前列腺肥大程度,使排尿恢复正常;还能使肿瘤增殖率降低,延长患者的寿命^[22]。

3 红曲霉研究与生产状况及存在问题

红曲米的生产主要有固态发酵和液态发酵 2 种方法。固态发酵法具有工艺简单、耗能低、发酵条件较为粗放、设备投资及废物产生较少等特点,但是也存在一些问题,如占地面积大、产量低;操作技术繁琐、难度大;质量不稳定^[23]。与传统固态发酵生产相比,液态发酵法具有营养源选择范围广、培养条件易于调控、培养周期短、培养过程杂菌污染率低等优点。液体培养法因可实现自动化控制、掌握代谢途径的进行方向,有选择地大幅度提高特定代谢产物的产量。但同时,液体发酵存在产物杂质较多、色价低、色泽欠鲜艳、发酵

后产物提取成本高的问题。

红曲霉能够产生许多对人体有益的代谢产物,如色素、抗生素、莫那可林 K、麦角固醇和中药成分,且红曲菌菌丝体中,蛋白质、氨基酸总量和必需氨基酸含量都很高。其中,红曲色素、桔霉素和洛伐他汀具有相似的聚酮体结构,3 类物质的生物合成途径都起源于丙二酰辅酶 A 和乙酰辅酶 A 缩合得到二酮化合物,之后洛伐他汀的合成进入分支途径,而桔霉素和红曲色素的合成则是继续与丙二酰辅酶 A 缩合得到四酮化合物,然后合成途径开始分支^[10]。由于桔霉素有生理毒性,因此在如何提高其他生理活性物质含量的同时,控制桔霉素的含量是亟待解决的问题。

4 展望

目前,日本对红曲的研究最为深入,推动了红曲产业的纵深发展。我国的优势在红曲霉资源丰富,红曲米生产成本低。如果能够有效地结合代谢组学来进一步研究红曲霉菌株的各种代谢路径底物和产物的小分子代谢物,反映细胞在外界刺激下代谢应答的变化,红曲色素、洛伐他汀和桔霉素的产出规律,以及三者的代谢关系,以实现提高红曲色素和洛伐他汀的产出,降低桔霉素的含量,这样可以更加深入地开发其潜能。

参考文献

- [1] 郑丹. 红曲霉产色素及 Monacolin K 的固体发酵工艺研究[D]. 西安:陕西科技大学,2006.
- [2] 陶璐. 高产色素及 Monacolin K 的红曲霉菌固态发酵工艺研究[D]. 西安:陕西科技大学,2008.
- [3] 张慧娟. 红曲橙色素的研究[D]. 无锡:江南大学,2006.
- [4] 宫慧慧,陈慧惠音,高群玉. 红曲与红曲色素的研究进展[J]. 武汉工业学院学报,2002(1):22-24.

- [5] 方元超,杨柳. 红曲霉研究进展[J]. 江苏食品与发酵,1999(1):19-24.
- [6] 赵树欣,张建玲. 红曲抑菌物质研究的现状与展望[J]. 中国酿造,2011(3):5-8.
- [7] 甘纯儿,彭时尧,苏金为,等. 红曲色素资源的利用现状与开发展望[J]. 自然资源学报,1998,13(3):273-275.
- [8] 贾娟,张军. 红曲霉菌的应用研究[J]. 农产品加工,2005(1):25-28.
- [9] 石鹤,陈丹丹,胡雄. 红曲色素的提取研究[J]. 湖北师范学院学报:自然科学版,2004,24(4):69-72.
- [10] 李志强. 一株红曲霉的三类聚酮体代谢产物研究[D]. 成都:西华大学,2011.
- [11] 许毓荣. 浅谈红曲霉桔霉素[J]. 酿酒科技,1999(3):20-22.
- [12] 王永辉,张薄博,许毓荣,等. 红曲色素产品国家标准及红曲黄色素检测方法的探讨[J]. 国家食品添加剂,2013(2):158-164.
- [13] 李志强,袁永俊,张晓龙. 高效液相色谱法测定桔霉素[J]. 中国调味品,2011(4):72-75.
- [14] 李桂杭,朱碧云,李浩明. 土曲霉与红曲霉双灭活原生质体融合选育洛伐他汀高产菌株[J]. 食品与微生物技术报,2012,31(2):273-275.
- [15] 张凤瑞. 大规模培养红曲霉产生生理活性物质的研究[J]. 酿酒科技,2002(5):29-30.
- [16] 刘月,王璐,许毓荣. 种间双亲灭活原生质体融合选育高产 Monacolin K 红曲菌[J]. 工业微生物,2012,42(4):54-59.
- [17] 张良. 高产 Monacolin K 红曲菌的诱变选育及其固态发酵条件的优化[D]. 南昌:南昌大学,2010.
- [18] 王克明. 固定化细胞红曲霉生物反应器发酵洛伐他汀的研究[J]. 中国酿造,2007(11):40-47.
- [19] ZHANG B B, LU L P, XIA Y J, et al. Use of agar as carrier in solid-state fermentation for Monacolin K production by Monascus: A novel method for direct determination of biomass and accurate comparison with submerged fermentation[J]. Biochemical Engineering Journal, 2013, 80:10-13.
- [20] 张志刚,马歌丽. 红曲霉的应用现状及发展前景[J]. 食品加工,2007(3):36-29.
- [21] 王雅芬,傅月华. 红曲霉的有效生理活性物质及应用[J]. 杭州科技,2000(5):25-27.
- [22] 洪智勇,毛宁. 红曲霉降胆固醇有效成分的研究[J]. 海峡药学,2002,14(1):34-36.
- [23] 沈士秀. 红曲的研究、生产及应用[J]. 食品工业科技,2001,22(1):85-87.

(上接第 3381 页)

起;叶形较宽,叶尖部较锐,叶片结构尚疏松,身份稍厚,油分有,色度强。

4 成效验证

通过从部位、颜色、分级因素等方面学习,强化烟叶收购预检工作,不断加大烟农分级扎把培训班力度,不断提高收购人员业务素质,并进一步严肃收购纪律, C3F 等级入库烟叶等级合格率有明显提高。

从表 4 可以看出,6 个点 C3F 等级入库合格率平均达 71.9%,较 2011 年的 63.3% 提高 8.6 个百分点。其中合格率最高达到了 76.0%(E 点),特别是 6 个点混 C4F、C3L、X1F、B2F 明显下降。

从图 1 可以看出,2012 年度抽检的 6 个点 C3F 等级批次中,混 C4F、C3L、X1F、B2F 数量较 2011 年明显下降,特别是混 C4F 下降接近 1/2,可以看出通过分级标准的强化培训,无论是烟农还是预检、定级员对等级的区分更加清晰。

5 结论

从 2 年对相同站点抽检结果看,通过提高预检工作水平、严肃收购纪律和加强分级标准培训学习等途径,有效地提高了烤烟 C3F 等级收购合格率,对提高烤烟等级质量有较大意义。但是完全由烟农自家分级也存在一些不足,如使用

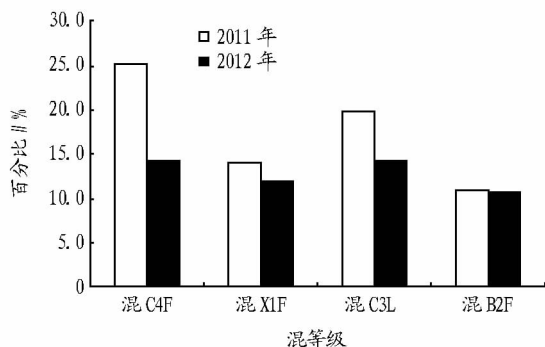


图 1 2011 与 2012 年度抽检混级量平均值比较

的预检员多、烟农分级水平之间存在差异,烟叶的纯度不高,要解决这些不足可以探索开展专业化分级,由烟草公司负责指导、开展分级技能培训,挑选培训能力强的人组成专业化服务队,可以有效地提高分级技能掌握率。同时由专业人员进行分级,不存在私心杂念,可有效提高烟叶纯度,提高分级效率,不失为一种行之有效的提高等级合格率的途径。

参考文献

- [1] 尹启生,陈江华,汪信民,等. 2002 年度全国烟叶质量评价分析[J]. 中国烟草学报,2003(B11):59-70.
- [2] 于华堂,冯国祯,王卫康,等. GB2635-1992,烤烟[S]. 北京:中国标准出版社,1992.
- [3] 程占省. 烟叶分级工[M]. 北京:中国农业科技出版社,2001:78-79.