

紅麴菌二級代謝物中紅麴色素與膽固醇合成抑制劑共存性之探討

黃育輝、張耀南

E-mail: 9015654@mail.dyu.edu.tw

摘要

本研究利用回應曲面法 (RSM)，探討紅麴菌 *MONASCUS RUBER* CCRC 31535 最適培養基 (白米粉、PEPTONE、甘油與葡萄糖) 之濃度影響，以了解紅麴菌產生孢內與孢外紅色色素與膽固醇合成抑制劑之共存性，其結果經由 RSM 試驗顯示，發現 PEPTONE 與甘油添加對孢內 MONACOLIN K 產量有顯著影響；此外，白米粉、PEPTONE 與葡萄糖添加濃度加倍分別對其產量亦有顯著影響；相對地，白米粉、PEPTONE 與葡萄糖添加對孢外 MONACOLIN K 產量則有顯著影響；而且白米粉-葡萄糖交互作用對其產量有顯著影響；對孢內紅色色素產量而言，白米粉、PEPTONE 與甘油添加對其產量有顯著影響，並發現白米粉-甘油及 PEPTONE-甘油交互作用明顯影響其產量，另外，甘油添加濃度加倍對孢內紅色色素有顯著影響；對孢外紅色色素產量而言，白米粉、PEPTONE 與甘油添加對其產量顯著影響，並發現白米粉-PEPTONE 交互作用有明顯影響其產量。本研究發現紅麴菌二級代謝物 (MONACOLIN K 與紅色色素) 孢內產量較孢外產量為高，並由回應曲面法尋求較合適培養基組成成分為 34.4 G/L 白米粉、10.8 G/L PEPTONE、36.4 ML/L 甘油、129.2 G/L 葡萄糖、2 G/L KNO₃ 及 1 G/L MGSO₄·7H₂O。以此培養基，經過十天搖瓶培養後，得到目前本研究最高孢內 MONACOLIN K 產量約為 0.157 MG/ML、而孢外 MONACOLIN K 產量為 0.33 G/ML；孢內紅色色素產量則為 3.488 MG/ML，而孢外紅色色素產量僅有 0.113 MG/ML 濃度。

關鍵詞：紅麴菌、膽固醇合成抑制劑、紅麴色素、回應曲面法

目錄

第一章 緒論--P1 第二章 文獻回顧--P6 2.1 紅麴菌簡介與起源--P6 2.2 紅麴菌的形態與分類--P6 2.3 紅麴菌的代謝產物--P8 2.4 紅麴的色素--P8 2.5 膽固醇合成抑制劑--P17 2.6 其他紅麴菌的代謝產物--P25 2.7 紅麴菌在機能性食品上的開發與用途--P28 2.8 紅麴菌的培養--P29 2.9 其他有關紅麴菌之研究--P30 2.10 色差儀--P32 2.11 回應曲面實驗設計法--P37 2.12 二水準因子設計--P39 2.13 陡升路徑法--P43 2.14 中心混成設計--P45 2.15 回應曲面模式適切性之統計檢驗--P45 2.16 因子影響效應之分析--P46 第三章 研究步驟--P49 3.1 前言--P49 3.2 材料與方法--P50 3.2.1 試驗材料--P50 3.2.2 試驗之儀器與設備--P50 3.2.3 培養方法--P51 3.2.4 膽固醇合成抑制劑 (monacolin K) 之 HPLC 定量分析...--P53 3.2.5 紅麴菌的紅色色素之分光光度儀定量分析--P55 3.2.6 紅麴菌的紅色色素之色差儀分析--P59 3.3 回應曲面法之實驗設計--P59 3.3.1 部分因子之設計實驗--P60 3.3.2 陡升路徑之實驗設計--P60 3.3.3 中心混成設計之實驗--P62 3.3.4 回應曲面模式適切性之統計檢驗--P62 3.4 結果與討論--P66 3.4.1 部分因子設計實驗--P66 3.4.2 陡升路徑實驗--P77 3.4.3 中心混成設計實驗--P85 3.4.4 回應曲面模式適切性之統計檢驗--P154 第四章 結論與展望--P162

參考文獻

1. 雲萍、張永吉 (1996) 文明產物 - 降血脂劑 LOVASTATIN。化工資訊, 10 (4) :53-57。
2. 李昌憲、洪哲穎、熊光濱 (1992) 利用回應曲面法進行以 *STREPTOCOCCUS FAECALIS* 生產酪氨酸脫竣 酵素之培養基最適化研究。中國農業化學會誌, 31:28-34。
3. 李昭蓉 (1997) 漫談紅麴菌。食品工業月刊, 29 (2) :86-89。
4. 李琇鈴、周正俊、吳淳美 (1993) 利用回應曲面法尋求 *STREPTOCOCCUS FAECALIS* 產生 γ -DECALACTO -NE 之最適條件。中國農業化學會誌, 31:28-34。
5. 林俊宏 (1999) 製備含紅麴菌膽固醇合成抑制劑 MONACOLIN K 健康之研究。國立東華大學生物技術研究所碩士論文, 花蓮縣壽豐鄉。
6. 林讚峰 (1982) 紅麴菌研究發展之演進。製酒科技專論彙編, 4:66-77。
7. 林讚峰 (1983 A) 紅麴菌之鑑定及實用分類法。製酒科技專論彙編, 5:104-113。
8. 林讚峰 (1983 B) 改良紅麴製造方法之探討。酒類試驗所研究71年報, 159-172。
9. 林讚峰 (1985) 紅麴菌的次級代謝物聚克叻代謝。製酒科技專論彙編, 7:170-187。
10. 林讚峰 (1986) 紅麴菌級代謝物的經濟性評估及增產策略。製酒科技專論彙編, 8:81-99。
11. 林讚峰 (1987) 利用紅麴菌產生膽固醇合成抑制劑。酒類試驗所研究年報76年度, 157-164。
12. 林讚峰 (1992 A) 紅麴菌在保健食品上的新用途。食品工業, 24 (10) :41-45。
13. 林讚峰 (1992 B) 紅麴菌研究發展之演進。科學農業, 40 (3-4) :193-198。
14. 林讚峰、黃正財 (1983) 紅麴菌釀造性質之研究 (一) 澱粉水解酵素。酒類試驗所研究年報72年度, 157-167。
15. 邱建人 (1977) 紅麴色素之各種性質及其應用。食品科學文摘, 第五卷, 11:8-14。
16. 施國琛 (1985) 色差分光分析原理與應用。食品科學文摘, 5 (1) :32-36。
17. 洪哲穎 (1998) 回應曲面品質工程技術。工業局八十八年度人才培訓計畫研習班, 1998年11月, 私立義守大學, 高雄縣大樹鄉。
18. 洪哲穎、陳國誠 (1992) 回應曲面實驗設計法在微生物酵素生產上之應用。中國化學工程學會會刊, 39 (2) :3-18。
19. 張耀南 (1997) 利用紅麴菌以固-液態培養方式產生膽固醇合成抑制劑。八十六年度國科會化學門 專題研究計劃成果報告, 生化工程 (I) 專輯, 25-28。
20. 陳昭姿 (1996) 降低

血膽固醇藥再添新兵。當代醫學，23(11):937-939。21.黃顯宗(1985)紅麴菌研究之回顧與展望。真菌學之最近發展(曾聰徹、陳瑞青主編)，109-124。國科會生物科學研究中心專刊第十二集，台北。22.劉繼賢、廖啟成(1994)利用回應曲面法尋求以CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM生產苯丙氨酸之培養基之最適化研究。中國農業化學會誌，32(2):149-155。23.蕭明熙(1985)真菌代謝物之最新研究趨勢。真菌學之最近發展(曾聰徹、陳瑞青主編)，163-183。國科會生物科學研究中心專刊第十二集，台北。24.蕭明熙(1994)降膽固醇與抗動脈粥狀硬化藥物。中國化學會誌，52(4):442-453。25.謝鳳龍、黃育輝、張耀南、曾耀銘(1998)利用紅麴菌(MONASCUS PILOSUS)生產膽固醇合成抑制劑之固-液態培養條件探討。第三屆生化工程研討會，P133-136，1998年6月27-28日，國立東華大學，花蓮縣壽豐鄉。26.謝鳳龍、黃育輝、陳亮尹、張耀南、曾耀銘(1997)利用紅麴菌(MONASCUS PILOSUS)產生膽固醇合成抑制劑之搖瓶培養條件探討。中國化學會86年年會，NO.P-2-BI-010，P240。27.ALBERT, A. W., C. CHEN, G. KURON, V. HUFF, C. HOFFFMAN, J. ROTHROCK, M. LOPEZ, H. JOSHU -A, E. HARRIS, A. PATCHETT, R. MONAGHAN, S. CURRIE, E. STAPLEY, G. ALBERTS-SCHONBERG, O. HENSENS, J. HIRSHFIELD, K. HOOGSTEEN, J. LIESCH AND J. SPRINGER (1980) MEVINOLIN: A HIGHLY POTENT COMPETITIVE INHIBITOR OF HYDROXYMETHYL-GLUTARYL-COENZYME A REDUCTASE AND A CHOLESTEROL-LOWERING AGENT. PROC. NATI. ACAD. SCI., USA, 77 : 3957-3961. 28.BOX, G. E. P. AND WILSON, K. B. (1951) ON THE EXPERIMENTAL ATTAINMENT OPTIMUM CONDITION -S. J. ROY. STANT. SOC., B13:1-45 29.BROWN, M. S. AND J. L., GOLDSTEIN (1984) HOW LDL RECEPTORS INFLUENCE CHOLESTEROL AND AT -HEROSCLEROSIS. SCIENTIFIC AMERICAN, 251(5) : 52-60. 30.BUCHANAN, R. L. AND J. G. PHILIPS (1990) RESPONSE SURFACE MODEL FOR PREICTING THE EFFEC -TS OF TEMPERATURE, PH, SODIUM CHLORIDE CONTENT, SODIUM NITRITE CONCENTRATION AND ATMO -SPHERE ON THE GROWTH OF LISTERIA MONOCUTOGENES. J. FOOD PROTECT., 53 : 370-376. 31.CHAN, J. K., R. N. MOORE, T. T. NAKASHIMA AND J. C. VEDERAS (1983) BIOSYNTHESIS OF MEVI -NOLIN (SPECTRAL ASSIGNMENT BY DOUBLE-QUANTUM COHERENCE NMR AFTER HIGH CARBON-13 IN COR -PORATION), J. AM. CHEM. SOC., 105:3334-3335. 32.DOUGLAS C. MONTGOMER (1997) DESIGN AND ANALYSIS OF EXPERIMENTS. JOHN WILEY AND SONS, INC.,575-641 33.ENDO, A. (1979) MONACOLIN K, A NEW HYPOCHOLESTEROLEMIC AGENT PRODUCED BY MONASCUS SPECI -ES. THE J. ANTIBIOTICS, 32 : 852-854. 34.ENDO, A., K. HASUMI AND S. NEGISHI (1985) MONACOLINS J AND L, NEW INHIBITORS OF CHOLEST -EROL BIOSYNTHESIS PRODUCED BY MONASCUS RUBER. THE J. ANTIBIOTICS, 38: 420-422. 35.ENDO, A., D. KOMAGATA AND H. SHIMADA (1986) MONACOLIN M, A NEW INHIBITOR OF CHOLESTEROL BIOSYNTHESIS. THE J. ANTIBIOTICS, 39: 1670-1673. 36.FEARS, R. (1983) PHARMACOLOGICAL CONTROL OF 3-HYDROXY-3-METHYLGLUTARYL COENZYME A REDUC -TASE. IN 3-HYDROXY-3-METHYLGLUTARYL COENZYME A REDUCTASE, SABINE, J. R., ED, 189-208, CRC PRESS, INC., BOCA RATON. 37.HALTRICH, D., M. PRESS AND W. STEINER (1993) OPTIMIZATION OF A CULTURE MEDIUM FOR INCRE -ASED XYLANASE PRODUCTION BY A WILD STRAIN OF SCHIZOPHYLLUM COMMUNE. ENZYME MICROB. TE -CHNOL., 15 : 854-860. 38.HAWKSWORTH, D. L. AND J. I. PITT (1983) A NEW TAXONOMY FOR MONASCUS SPECIES BASED ON CULTURAL AND MICROSOPICAL CHARACTERS. AUST. J. BOT., 31 : 51-61. 39.HEBER D., L. YIP, J. M. ASHELY, ELASHOFF DA, ELASHOFF RM, GO VLW. (1998) CHOLESTEROL -LOWERING EFFECTS OF PROPRIETARY CHINESE RED YEAST DIETARY SUPPLEMENT. FASEB JOURNAL, 12 (4) : 206. 40.JOSEPH, L. GOLDSTEIN AND MICHAEL S. BROWN (1990) REGULATION OF THE MEVALONATE PATHWAY, NATURE, 343:425-430. 41.JUZLOVA, P., L. GOLDSTEIN AND MICHAEL S. BROWN (1990) REGULATION OF THE MEVALONATE PATH -WAY. NATURE, 343:425-430. 42.JUZLOVA, P., L. MARTINKOVA AND V. KREN (1996) SECONDARY METABOLITES OF THE FUNGS MONAS -CUS:A REVIEW. J. IND. MICROBIOLOGY, 16:163-170. 43.JOHN, M. D. M. (1976) COLOR. PRINCIPLES OF FOOD CHEMISTRY, WESTPORT, CONN., 203-241. 44.KAUTOLA, H. AND Y. Y. LINKO (1989) FUMARIC ACID PRODUCTION FROM XYLOSE BY IMMOBILIZED RHIZOPUS ARRHZISUS CELLS. APPL. MICROBIOL. BIOTECHNOL., 31 : 448-452. 45.KIMURA, KOMAGATA, MURAKAWA AND ENDO (1990) BIOSYNTHESIS OF MONACOLINS:CONVERSION OF MO -NACOLIN J TO MONACOLIN K (MEVIOLIN). J. ANTIBIOTICS, 43 (12):1621-1622. 46.LIN, T. F., K. YAKUSHIJIN, G. H. BUCHI AND A. L. DEMAIN (1992) FORMATION OF WATER-SOLU -BLE MONASCUS PIGMENTS BY BIOLOGICAL AND SEMI-SYNTHETIC PROCESSES. J. IND. MICROBIOLOGY, 9:173-179. 47.LIN, T. F., A. L. DEMAIN (1994) LEUCINE INTERFERENCE IN THE PRODUCTION OF WATER-SOLUBLE RED MONASCUS PIGMENTS ARCH MICROBIOL, 162:114-119. 48.MADDOX, I. S. AND S. H. RICHERT (1977) PRODUCTION OF GIBBERELLIC ACID USING A DAIRY WA -STE AS THE BASAL MEDIUM. APPL. ENVIRON. MICROBIOL., 33 : 201-202. 49.MUDAHAR, S., R. T. TOLEDO, J. D. FLORES AND J. J. JEN, (1989) OPTIMIZATION OF CARROT DE -HYDRATION PROCESS USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY. J. FOOD SCI., 54 : 714-719. 50.NIL (1995 A) SSRI: UNPRECEDENTED US GROWTH, SCRIP, 2024 : 23. 51.NIL (1995 B) YEN EFFECT ON JAPAN'S PHARMA MARKET, SCRIP, 2023 : 22. 52.NIL (1996) TOP 10 DRUGS IN EUROPE, SCRIP, 2120 : 23. 53.PRAPULLA, S. G., S. JACOB, N. CHAND, D. RAJALAKSHMI AND N. G. KARANTH (1992) MAXIMIZAT ON OF LIPID PRODUCTION BY RHODOTROULA GRACILIS CFR-A USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY. BIOTECH. BIOENG., 40 : 965-969. 54.SHIAO, M. S. AND H. S. DON, (1987) BIOSYNTHESIS OF MEVINOLIN, A HYPOCHOLESTEROLEMIC FUNGAL METABOLITE, IN ASPERGILLUS TERRUES. PROC. NATL. SCI. COUNC. B. ROC., 11 (3): 223-231. 55.SU, Y. C. (1978) FEREMENATIVE PRODUCTION OF ANKA-PIGMENT (MONASCUS-PIGMENT) . PROCEED -INGS OF THE ORIENTAL FERMENTED FOODS.

FOOD INST. RES. DEVEL., HSINCHU, TAIWAN, R. O. C. 56. SWEENEY, J. G., H. C. ESTRADA-VALDES, G. A. IACOBUCCHI, H. SATO, AND S. SAKAMURA (1981) PHOTOPROTECTION OF THE RED PIGMENTS OF MONASCUS ANKA IN AQUEOUS MEDIA BY 1,4,6-TRIHYDROXYNAPHTHALENE. J. AGRIC. FOOD CHEM., 29 : 1189-1193. 57. THOMSON, D. (1982) RESPONSE SURFACE EXPERIMENTATION. J. FOOD PROCESSING PRESERVATION, 6:155-188. 58. YONGSMITH, B., S. KRAIRAK AND R. BAVAVODA (1994) PRODUCTION OF YELLOW PIGMENTS IN SUBMERGED CULTURE OF A MUTANT OF MONASCUS SPP. J. FERMENTATION AND BIOENGINEERING, 78(3) :223-228.