

OPTIMIZATION OF MEDIUM COMPOSITION FOR MONACOLIN K PRODUCTION BY MONASCUS RUBER USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

黃壬章、張耀南

E-mail: 9018742@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

IN THIS STUDY, MONACOLIN K WAS PRODUCED BY MONASCUS RUBER CCRC 31535 IN FLASK CULTURE. IN PRELIMINARY STUDY, THE SUITABLE CONCENTRATION OF THE GLYCERIN CARBON SOURCE WAS INVESTIGATED. THE OPTIMUM CONCENTRATION OF GLYCERIN WAS FOUND AT 26.4 ML/L IN THE CULTURE OF 25 °C, PH 5.0 AND 25 ML OF THE RICE-GLYCERIN COMPLEX MEDIUM, AND 150 RPM IN THE SHAKER. THE AVERAGE YIELD OF MONACOLIN K WAS 0.131 MG/ML. IN ADDITION, RESPONSE SURFACE METHODOLOGY WAS USED TO OPTIMIZE THE CONCENTRATIONS OF THE RICE POWDER-GLYCERIN COMPLEX COMPOSITIONS AND TO EVALUATE THE EFFECTS OF THE COMPOSITION CONCENTRATIONS ON MONACOLIN K PRODUCTIVITY. THE ANALYSIS OF VARIANCE INDICATED THAT THE QUADRATIC TERMS OF FOUR COMPOSITIONS (RICE POWDER, PEPTONE, GLYCERIN, GLUCOSE) IN THE QUADRATIC MODEL WERE SIGNIFICANT. THE OPTIMUM COMPOSITION FOR MONACOLIN K PRODUCTION WAS FOUND TO BE 34.4 G/L RICE POWDER, 10.8 G/L PEPTONE, 26.4 ML/L GLYCERIN, 129.2 G/L GLUCOSE, 2 G/L KNO₃ AND 1 G/L MGSO₄·7H₂O. WITH THESE COMPOUNDS, THE AVERAGE MONACOLIN K PRODUCTION WAS 0.131 MG/ML AFTER 10 DAYS OF CULTIVATION, WHILE THE PREDICTED MAXIMUM PRODUCTION WAS 0.130 MG/ML. FOR THIS KIND OF COMPLEX MEDIUM, IT WOULD BE GOOD FOR MONACOLIN K PRODUCTION BY M. RUBER CCRC 31535.

Keywords : MONASCUS RUBER, MONACOLIN K, RICE-GLYCERIN COMPLEX MEDIUM, RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

Table of Contents

第一章 緒論--P1 第二章 文獻回顧--P8 2.1 紅麴菌簡介--P8 2.2 紅麴菌的代謝物--P9 2.2.1 紅麴色素--P9 2.2.2 膽固醇合成抑制劑--P13 2.2.3 其他紅麴代謝物--P22 2.3 紅麴菌在保健食品醫藥上的用途--P23 2.4 紅麴菌的培養--P24 2.5 其它有關紅麴菌的研究--P26 2.6 回應曲面法--P27 2.6.1 回應曲面法之原理--P28 2.7 二水準因子設計--P30 2.8 陡升路徑法--P33 2.9 中心混成設計--P36 2.10 回應曲面模式適切性之統計檢驗--P37 2.11 因子影響效應之分析--P38 第三章 利用回應曲面法尋求紅麴菌生產膽固醇合成抑制劑之培養基最適化--P40 3.1 前言--P40 3.2 材料與方法--P41 3.2.1 試驗材料--P41 3.2.2 儀器設備--P41 3.2.3 培養方法--P42 3.2.4 膽固醇合成抑制劑 (monacolin K) 之HPLC定量分析--P43 3.3 甘油濃度之測試--P46 3.4 回應曲面法之實驗設計--P46 3.4.1 部分因子之實驗設計--P48 3.4.2 陡升路徑之實驗設計--P48 3.4.3 中心混成實驗設計--P50 3.4.4 回應曲面模式適切性之統計檢驗--P50 3.5 回應曲面實驗設計法之結果與討論--P50 3.5.1 部分因子設計實驗--P54 3.5.2 陡升路徑實驗--P54 3.5.3 中心混成設計實驗--P57 3.5.4 回應曲面模式適切性之統計檢驗--P74 第四章 結論與展望--P77 參考文獻--P79 附錄--P87

REFERENCES

- 王雲萍、張永吉 (1996), 文明產物 - 降血脂劑LOVASTATIN。甲、化工資訊 , 10 (4):53-57。
- 王英凱、林仁混 (1999), 紅麴降血脂作用之探討與紅麴活性成分LOVASTATIN及天然藥物類黃素抗癌細胞轉移與引發細胞凋亡機制之研究。國立台灣大學生化學研究所博士論文。
- 李昌憲，洪哲穎，熊光濱 (1992)，利用回應曲面法進行以STREPTOCOCCUS FAECALIS生產酪氨酸脫羧酵素之培養基最適化研究。中國農業化學會誌 , 31:28-34。
- 李琇鈴，周正俊，吳淳美 (1993)，利用回應曲面法尋求STREPTOCOCCUS FAECALIS產生g-DECALAC-TONE之最適條件。中國農業化學會誌 , 31:28-34。
- 李昭蓉 (1997)，漫談紅麴菌。食品工業月刊 , 29(2):86-89。
- 杜姿瑩 (2000)，具調節血脂功能的機能性食品漫談。食品工業月刊 , 32(10):23-32。
- 林怡昌、張耀南 (1998)，紅麴菌生產膽固醇合成抑制劑搖瓶培養條件之探討。大葉大學食品工程研究所碩士論文。
- 林俊宏、曾耀銘 (1998)，備製含紅麴菌膽固醇合成抑制劑-MONACOLIN K健康酒之研究。國立東華大學生物技術研究所碩士論文。
- 林讚峰 (1982)，紅麴菌研究發展之演進。製酒科技專論彙編 , 第四期 , 66-77。
- 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。 11.林讚峰 (1983) , 紅麴菌之鑑定及實用分類法。製酒科技專論彙編 , 第五期 , 104-113。 12.林讚峰 (1985) , 紅麴菌的次級代謝物聚克咈代謝。製酒科技專論彙編 , 第7期 , 170-187。 13.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 , 第8期 , 81-99。 14.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。 15.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。 16.林讚峰 (1992 B) 紅麴菌研究發展之演進。科學農業 , 40 (3-4) :193-198。 17.邱健人 (1985) , 紅露酒之製法。食品科學文摘 , 5(7):41-42。 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 , 39 (2) :3-18。 19.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。 20.哈伯氏生物化學 (1999) , 藝軒圖書出版社 , 第22版:317-331。 21.陳彥霖 (2000) , 紅麴與高血壓。食品工業月刊 , 32(12):55-59。 22.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。 23.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。 24.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。 25.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。 26.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。 27.蘇遠志與黃世佑 (1999) , 微生物化學工程學。華香園出版社。 28.ALBERT, A. W., C. CHEN, G. KURON, V. HUFF, C. HOFFMAN, J. ROTHROCK, M. LOPEZ, H. JOSH -UA, E. HARRIS, A. PATCHETT, R. MONAGHAN, S. CURRIE, E. STAPLEY, G. ALBERTS-SCHONBERG, O. HENSENS, J. HIRSHFIELD, K. HOOGSTEE, J. LIESCH, AND J. SPRINGER, 1980, MEVINOLIN: A HIGHLY POTENT COMPETITIVE INHIBITOR OF HYDROXYMETHYL-GLUTARYL-COENZYME A REDUCTASE AND A CHOLESTEROLLOWERING AGENT. PROCEESINGS OF THE NATIONAL ACADEMIC SCIENCE, USA, 77 : 3957-3961. 29.BOTA, A., F. J. GELLA, AND F. CANALIAS, 2000, OPTIMIZATION OF ADENOSINE DEAMINASE ASSAY BY RESPONSE SURFACE METHODOLOGY. CLINICA CHIMICA ACTA 290: 145-157. 30.BOX, G. E. P., AND K. B. WILSON, 1951, ON THE EXPERIMENTAL ATTAINMENT OPTIMUM CONDITION -S. J. ROY. STANT. SOC., B13:1-45. 31.BROWN, M. S., AND J. L. GOLDSTEIN, 1984, HOW LDL RECEPTORS INFLUENCE CHOLESTEROL AND AT -HEROSCLEROSIS. SCIENTIFIC AMERICAN, 251(5) : 52-60. 32.BUCHANAN, R. L., AND J. G. PHILIPS, 1990, RESPONSE SURFACE MODEL FOR PREICTING THE EFFE -CTS OF TEMPERATURE, PH, SODIUM CHLORIDE CONTENT, SODIUM NITRITE CONCENTRATION AND ATM -OSPHERE ON THE GROWTH OF LISTERIA MONOCUTGENES. J. FOOD PTOTECT., 53 : 370-376. 33.CHAN, J. K., R. N. MOORE, T. T. NAKASHIMA, AND J. C. VEDERAS, 1983, BIOSYNTHESIS OF ME -VINOLIN (SPECTRAL ASSIGNMENT BY DOUBLE-QUANTUM COHERENCE NMR AFTER HIGH CARBON-13 IN CORPORATION). J. AM. CHEM. SOC., 105:3334-3335. 34.DULIU, O.V.G., M. FERDES, AND O. S. FERDES, 2000, EPR IDENTIFICATION OF IRRADIATED MON -ASCUS PURPUREUS RED PIGMENT. RADIATION PHYSICS AND CHEMISTRY 57: 97-101. 35.ENDO, A., 1979, MONACOLIN K, A NEW HYPOCHOLESTEROLEMIC AGENT PRODUCED BY MONASCUS SPECI -ES. THE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 32 : 852-854. 36.ENDO, A., K. HASUMI, AND S. NEGISHI, 1985A, MONACOLINS J AND L, NEW INHIBITORS OF CHOL -ESTEROL BIOSYNTHESIS PRODUCED BY MONASCUS RUBER. THE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 38: 420- 422. 37.ENDO, A., Y. NEGISHI, T. IWASHITA, K. MIZUKAWA, AND M. HIRAMA, 1985B, BIOSYNTHESIS OF ML-236B (COMPACTIN) AND MONACOLIN K. THE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 28: 444-448. 38.ENDO, A., D. KOMAGATA, AND H. SHIMADA, 1986, MONACOLIN M, A NEW INHIBITOR OF CHOLESTER -OL BIOSYNTHESIS. THE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 39: 1670-1673. 39.FEARS, R., 1983, PHARMACOLOGICAL CONTROL OF 3-HYDROXY-3-METHYL-甲、GLUTARYL COENZYME A REDUCTASE. IN 3-HYDROXY-3-METHYLGGLUTARYL COENZYME A REDUCTASE, SABINE, J. R., ED, 189 -208, CRC PRESS, INC., BOCA RATON. 40.GUERRERO, S., S. M. ALZAMORA, L. N. GERSCHENSON, 1996, OPTIMIZATION OF A COMBINED FACT -ORS TECHNOLOGY FOR PRESERVING BANANA PUREE TO MINIMIZE COLOUR CHANGES USING THE RESPO -NSE SURFACE METHODOLOGY. JOURNAL OF FOOD ENGINEERING 28:307-322. 41.HALTRICH, D., M. PRESS, AND W. STEINER, 1993, OPTIMIZATION OF A CULTURE MEDIUM FOR INCR -EASED XYLANASE PRODUCTION BY A WILD STRAIN OF SCHIZOPHYLLUM COMMUNE.ENZYME MICROB. TEC -HNOL. 15 : 854-860. 42.HAWKSWORTH D. L., AND J.I. PITT, 1983, A NEW TAXONOMY FOR MONASCUS SPECIES BASED ON CUL -TURAL AND MICROSCOPICAL CHARACTERS. AUST.J.BOT. 31 : 51-61. 43.JUZLOVA, P., L. GOLDSTEIN, AND M. S. BROWN, 1990, REGULATION OF THE MEVALONATE PATHWAY. NATURE, 343:425-430. 44.JUZLOVA, P., L. MARTINKOVA, AND V. KREN, 1996, SECONDARY METABOLITES OF THE FUNGUS MON -ASCUS:A REVIEW. J. IND. MICROBIOL., 16:163-170. 45.KAUTOLA, H., AND Y. Y. LINKO. 1989. FUMARIC ACID PRODUCTION FROM XYLOSE BY IMMOBILIZED RHIZOPUS ARRHZIZUS CELLS. APPL. MICROBIOL. BIOTECHNOL. 31 : 448-452. 46.KIMURA, K., D. KOMAGATA, S. MURAKAWA, AND A. ENDO, 1990, BIOSYNTHESIS OF MONACOLINS: CONVERSION OF MONACOLIN J TO MONACOLIN K (MEVIOLIN). J. ANTIBIOTICS, 43 (12):1621-1622. 47.MADDOX, I. S., AND S. H. RICHERT, 1977, PRODUCTION OF GIBBERELLIC ACID USING A DAIRY WASTE AS THE BASAL MEDIUM. APPL. ENVIRON. MICROBIOOL. 33 : 201-202. 48.MUDAHAR, S., R. T. TOLEDO, J. D. FLOROS, AND J. J. JEN, 1989, OPTIMIZATION OF CARROT DEHYDRATION PROCESS USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY. J. FOOD SCI., 54 : 714-719. 49.MONTGOMERY, D. C., 1997, DESIGN AND ANALYSIS OF EXPERIMENT (THE 4TH EDITION), JOHN

WILEY & SONS, NEW YORK, USA. 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 -ION OF LIPID PRODUCTION BY RHODOTROULU GRACILIS CFR-A USING RESPONSE SURFACE METHODOL -OGY. BIOTECH. BIOENG., 40 : 965-969. 54.SHIEH, C.J., C.C. AKOH, AND P.E. KOEHLER, 1996, FORMULATION AND OPTIMIZATION OF SUCROSE POLYESTER PHYSICAL PROPERTIES BY MIXTURE RESPONSE SURFACE METHODOLOGY. JAACS, 73(4): 455-460. WOJCIK, C., B. MARCIN, S. TOMASZ, AND G. ADAM, 2000, LOVASTATIN AND SIMVASTATIN ARE MODULATORS OF THE PROTEASOME. THE INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOCHEMISTRY & CELL BIO -LOGY, 32:957-965.