

红曲霉有效成分应用研究进展

张徐兰¹, 吴天祥¹, 李 鹏²

(1. 贵州大学化学工程学院, 贵州, 贵阳 550003; 2. 莱阳农学院食品学院, 山东 青岛 266003)

摘 要: 红曲霉(*monascus*)是我国最早应用于食品加工的有益真菌之一, 主要集中应用在传统酒曲、制醋、着色、防腐等领域, 国外红曲霉主要应用于肉品加工及其他食品着色方面。红曲霉可产生淀粉酶、糖化酶、蛋白酶、酯化酶、果胶酯酶、麦芽糖酶等酶类; 其药理活性物质可抑制胆固醇活性、降血压物质和麦角固醇。利用红曲霉可生产纯红曲及添加红曲提取物的胶囊、红曲口服液以及酒、醋、酱油、腐乳以及食品添加剂和饲料等。(孙悟)

关键词: 红曲霉; 有效成分; 研究进展

中图分类号: TQ925.7 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2006)09-0078-04

Research Progress in the Use of Effective Constituents of *Monascus*

ZHANG Xu-lan¹, WU Tian-xiang¹ and LI Peng²

(1. Chemical Engineering Department of Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550003; 2. Food Science Engineering Department of Laiyang Agriculture College, Qingdao, Shandong 266003, China)

Abstract: *Monascus* is one of the earliest beneficial fungi used in food processing in China. It is mainly used in the field of traditional starter production, vinegar production, coloring and antiseptics etc. *Monascus* is mainly used abroad in meat processing and food coloring etc. *Monascus* could produce amylase, saccharifying enzyme, protease, esterifying enzyme, pectinesterase and maltase etc. and its pharmacological active substances could inhibit cholesterol activity and ergosterol. *Monascus* could be used to produce pure red starter or as auxiliary materials to produce liquor, vinegar, sauce, bean curd, food additives and feeding stuff etc.

Key words: *monascus*; effective constituents; research progress

红曲霉(*monascus*)是我国最早应用于食品加工的有益真菌之一, 应用历史悠久, 主要集中应用在传统酒曲、制醋、着色、防腐等领域, 而在国外红曲霉主要应用于肉品加工及其他食品的着色上。直到 1979 年远藤章从红曲霉中分离出胆固醇合成抑制剂后, 红曲霉的研究方向逐渐扩大到生理活性并渗入其安全性方面。

1 红曲霉的分类及生理特性

按 Ainsworth 分类系统, 将红曲霉归属于真菌界, 真菌门, 子囊菌亚门, 不整子囊菌纲, 散囊菌目, 红曲科, 红曲霉属。红曲霉的命名在分类上尚不完备, 国际上未形成统一标准, 对某些独立的种仍存在异议。红曲霉种类很多, 布谷昭 1988 年分离出约 20 种红曲霉, 中科院微生物保藏管理委员会正式收编的主要红曲霉菌种有: 紫红曲霉(*M. purpureus*)、安卡红曲霉(*M. anka*)、红色红曲霉(*M. ruber*)、巴克红曲霉(*M. bakeri*)、烟色红曲霉(*M.*

fuliginosus)、发白红曲霉(*M. albidus*)、锈色红曲霉(*M. rubiginosus*)、变红红曲霉(*M. serotrubescens*)。

红曲霉为腐生真菌, 在谷物、淀粉、枯枝、泥土、橡胶、鱼干、落叶等物质上曾有发现。红曲霉的生长温度为 26~42℃, 最适生长温度为 32~35℃, 最适 pH3.5~5, 能耐 pH3.5, 嗜乳酸, 耐 10% 酒精。红曲霉中含有丰富的酶系, 并且自身能合成生长素, 无需外源供给。

邢旺兴等试验证明红曲霉所有的菌种都能利用有机态氮而不能利用亚硝基态氮和脲作为氮源, 能利用大部分糖类而不能利用乳糖醛酸作为碳源, 且指出碳源和氮源等生理特性有望作为红曲霉分类的生化指标^[1]。

2 红曲霉的有效成分研究

2.1 酶类

在生长过程中红曲霉产生多种酶类: 淀粉酶、糖化酶、蛋白酶、酯化酶、果胶酯酶、麦芽糖酶等, 对调味食品

收稿日期: 2006-05-25

作者简介: 张徐兰(1980-), 女, 山东烟台人, 在读硕士, 贵州大学蔡家关校区化工学院, 方向: 生物转化。

的加工和制药起着重要作用。

不同种类菌株产酶的类型和品种及产量有所差异。红曲霉中含有的葡萄糖淀粉酶能将淀粉百分之百水解为葡萄糖,工业上利用红曲霉这一特性代替了酸水解法生产葡萄糖,具有水解率高、节约粮食、降低成本、提高产品质量的特性。20世纪70年代以来,中国科学院研究所主要开展红曲霉葡萄糖淀粉酶方面的理论研究。红曲霉的蛋白酶活性较高,故可用以盐渍鱼肉、豆腐等高蛋白食品。安田和昭等从红曲霉中提取了高纤维蛋白酶并研究了豆腐乳成熟过程中使用红曲霉菌后的化学成分变化^[2],为红曲霉的应用提供了理论依据。红曲霉中糖化酶也是酿造业所应用的重要酶类之一,如在豆豉生产中应用糖化酶增加其色泽和风味,提高氨基酸态氮和蛋白质的含量^[3]。此外,红曲霉某些菌种能分泌直接催化己酸和乙醇合成己酸乙酯的胞外酶,例如从烟色红曲霉中可筛选得酯化酶活性较强的酯化红曲,有效提高了大曲的糖化力、发酵力和酯化力,从而影响白酒中的乙酸乙酯、乳酸乙酯、己酸乙酯和丁酸乙酯等风味物质的含量,同时,因其耐酸性较强,可将有机酸转化成相应的酯,解除了酸对细胞的毒害作用,且产生的蛋白酶丰富了酒的香味成分,因此成为影响浓香型大曲的重要酶系。杜礼泉等对红曲霉酯化酶的酯化特性进行了试验,认为:烟色红曲霉产生的酯化酶活性较高,且其最适催化温度为40℃,最适催化酒精度为12%Vol,最适催化pH为3.0^[4]。谢国排运用超强己酸溶液和红曲酯化酶进行夹层发酵提高浓香型大曲酒优级品率达42.9%,提高出酒率达12.4%^[5]。

2.2 红曲色素

红曲色素是一种天然可食用色素,是由化学结构不同、性质相近的黄、红、紫3类不同色谱组成的混杂色素物质都为Arphilone类有机物。红曲色素主要包括两种黄色素(Monascin, Ankaflavin),两种红色素(Rubropunctatin, Monascorubin),两种紫色素(Rubropunctamine, Monascorubramine),这些都为脂溶性色素,另外还存在水溶性色素成分,结构待定。

经研究,红曲色素在乙醇浓度为82%或醋酸浓度为78%时溶解性最佳,在中性或碱性溶液中溶解性较好。红曲色素是由红曲霉发酵产生的次级代谢产物,傅亮认为红曲色素在红曲霉代谢中有特殊的生理功能,当培养基条件良好时,红曲色素作为一种能量储存物质,但当营养缺乏时,则同化色素,可延缓细胞衰老和自溶过程^[6]。

与其他天然色素相比,红曲色素具有热稳定性好、蛋白着色力强、色调柔和、pH稳定等特点,尤其是它能

耐100~140℃的高温特性使其在烹饪、高温灭菌、焙烤时拥有其他色素无法比拟的优势。在日光下红曲色素较稳定,但在日光直射下色泽会减弱,在食品中不受金属离子影响,在稀释100倍的红曲溶液中加入0.01mol/L的钙离子、镁离子、铜离子,经48h后其红色色素残留率均超过97%^[3]。动物性试验表明,使用红曲色素及其制品的食物均未发现急、慢性中毒现象。红曲色素在肉制品中广泛应用,在高达130℃的生产温度时其颜色不发生明显变化。此外,红曲色素是目前肉制品中亚硝酸盐的最好替代品,除赋予良好的肉红色外,还能减少60%的亚硝酸盐用量,增加安全性,提高香肠颜色对光和氧气的稳定性,国内外一直致力于此方面的研究。

红曲的防腐抗菌作用自古就有记载,《天工开物》中就记载了用红曲保存肉夏日10日不腐。董明盛等对食品中14种易污染的微生物进行抑菌试验证明:红曲色素对蜡状芽孢杆菌、霉菌、枯草杆菌、金黄葡萄球菌、荧光假单胞杆菌有较强的抑制作用。王柏琴等研究红曲色素对肉毒梭状芽孢杆菌的抑制作用,证明其提取物可使肉毒梭状芽孢杆菌的营养体细胞产生裂痕,在肉品生产中意义重大^[7]。1995年,王柏琴等试验证明了红曲色素对肉毒梭状芽孢杆菌又有抑制作用^[8]。有报道说,红曲色素的抗菌活性是由Monascorubin和Rubropunctamine两种色素产生的。

2.3 药理活性物质

对于红曲的药用价值我国自古就有活血化瘀、健胃消食之用,但对于红曲及红曲霉发酵产物的作用机理和其他药理活性的研究是从20世纪70年代开始的,近年来随着对红曲霉次生代谢产物研究的细化和深入,逐渐开发出红曲的一系列药用价值。

2.3.1 抑制胆固醇活性

1979年,远藤章教授从红曲霉中分离出胆固醇合成抑制剂Monacolin K后又分离出一系列相似的活性成分:M.L, M.X, M.J,这类M类物质对HMG-CoA还原酶有高效特异抑制作用,其中以M.K活性最高。

HMG-CoA还原酶(3-羟基-3-甲基-戊二酸辅酶A)是胆固醇合成中的一个限速酶。胆固醇是乙酰CoA通过多步酶促反应合成的,竞争性抑制HMG-CoA还原酶可以有效阻断胆固醇的生物合成。据报道,这类物质在血液中浓度只要达到0.001~0.005μg/mL就可以使胆固醇的合成受阻^[9]。

另外,Monacolin K的酯构型弱碱化可形成其碱土金属盐、土族金属盐等,研究发现这类盐具有预防和治疗胆结石、前列腺肿大和肿瘤作用,能降低胆结石形成指数,改善前列腺肥大程度,使排尿恢复正常,还能降低

肿瘤增值率,其中以钠、钙、镁盐效果最佳^[3]。

红曲中的 Monacolin K 是世界公认的降胆固醇的理想药物,具有高效、低毒、安全的特点。1988 年我国的何壁梅首次从 MH- 2688 的变异菌株中提取了 M.K^[9]; 1994 年,韩梅用红曲米提取液治疗高血脂大鼠,血清量明显降低^[10]。

Monacolin K 与默克公司从土曲中分离出的 Mivonolin 结构相同,为同一类活性物质,国际上将这两种物质统一命名为洛伐他汀(Lovastatin)。据报道,他汀类化合物具有抗骨质疏松的功效,且是目前唯一发现的通过增强骨细胞中的骨形成蛋白基因的表达来增加骨骼密度的一类物质,可逆转骨质疏松的过程。

现有的红曲霉的生产大多都是采用液态深层发酵,但 Lovastatin 是胞内产物,其细胞的积累速率基本上与生长同步,因此非常适合固态发酵,固态发酵产物可直接入药,无须提取,节约成本而且降低纯药品的毒副作用,魏培莲等初步考察了 Lovastatin 固态发酵的可行性,并对培养条件进行了初步优化^[11]。

2.3.2 降血压物质

1987 年,小滨靖弘等研究发现红曲霉能够产生降血压物质—— γ -氨基丁酸和乙酰胆碱。1992 年,迁启生等对红曲霉的降血压作用机制进行了初步研究,结果表明,随红曲霉的增加其降血压作用也随之增加,菌体量愈多作用愈强,并证明红曲霉的降血压效果与葡萄糖胺之间成比例关系^[12]。

2.3.3 麦角固醇

麦角固醇是维生素 D₂ 的前体,受紫外线照射后即转化为维生素 D₂,维生素 D₂ 是一种重要的药品,能防治婴幼儿的佝偻病,促进孕妇和老人对钙、磷的吸收。普通食品中维生素 D₂ 的含量有限,需要外源补充。目前,国内外麦角固醇的生产仅限于酵母菌。

1995 年,陈松生发现许多红曲霉菌株都能不同程度地产生麦角固醇。不同菌株产生麦角固醇的高峰期不一致,且麦角固醇量与色素盐量成正比^[13]。

3 红曲霉的安全性

桔霉素(Citrinin)是由真菌产生的次生代谢产物,对肾有毒害作用。桔霉素能减少肾皮质和肝细胞中线粒体磷酸化的效率,抑制与呼吸链有关的几种酶系的活性,减少线粒体基质中的钙离子水平,影响膜转移和氧化还原系统,可引起肾脏肿、尿量增多、肾小管扩张、上皮细胞变性坏死等症状,也称为肾毒素,属于中等偏剧毒性毒素。

红曲霉中代谢产物产生桔霉素的研究始于 20 世纪 90 年代。1981 年, Hinchungwang 等从红曲霉中分离出

一种抑菌因子,定名为 Monascidin A。1993 年始,法国 Blank 教授对其进行结构测定和定性分析,证明是桔霉素,此后,法、美、日等国先后开展研究肯定了红曲霉中存在桔霉素的可能性。

根据同位素跟踪,红曲中的桔霉素是在红曲霉发酵晚期产生的次生代谢产物,桔霉素与红曲色素的合成开始于同一途径:1 分子的乙酰辅酶 A 与 4 分子的丙二酰辅酶 A 经缩合反应生成戊酮,然后开始分支,一条途径是戊酮和丙二酰辅酶 A 缩合生成合成己酮,最后生成红曲色素;另一途径是经甲基化缩合、还原等反应生成桔霉素。

据 P.J.Blank 小组的研究报道,红曲霉在液态深层培养时,供氧量对桔霉素的生成有很大影响,随着供氧量的增加,红曲色素和桔霉素生成量比值降低。另有报道,添加 C₆~C₁₈ 碳的脂肪酸或甲基酮类物质可明显降低桔霉素的生成量,同时不影响色素的形成^[14]。

赖卫华等通过对红曲菌产桔霉素规律的研究发现,同一株红曲霉菌种在不同培养基上产生桔霉素的时期不同,提示培养基中桔霉素的含量可能是红曲菌种产桔霉素相关基因差异表达的结果,提出通过差异基因的筛选,找出与红曲霉产桔霉素相关的基因。此外,有人提出通过多种微生物混合发酵、改变氮源等方法来解决桔霉素问题^[15]。

目前,红曲霉中桔霉素的检测方法有高压液相色谱法、双向薄层层析法、荧光检测分析法、反相色谱检测法及酶联免疫法等。但是,各国须制定统一的检测标准,才能对红曲霉进行客观公正的评价。

4 红曲的应用现状及研究展望

功能性红曲的主要市场是在美国、欧洲和东南亚。我国是红曲主要生产国,红曲色素主要以外销为主,而日本却大量进行红曲保健食品的开发,包括纯红曲及添加红曲提取物的胶囊、红曲口服液以及酒、醋、酱油、腐乳、以及食品添加剂和饲料等,相比之下我国保健红曲的应用范围有着巨大的空间和潜力。

日本对红曲的研究最为深入,研发能力雄厚,深层发酵的红曲产品质量高,其论文和专利有目共睹,推动了红曲产业的纵深发展。我国目前的优势在于固态发酵,主要是用于酒曲、酯化曲、色曲的红曲米及功能性红曲米。我国的红曲米生产成本低,具有一定的竞争优势,加上我国丰富的红曲霉资源,如果能有效结合遗传学进行基因改造,可以更深入地开发其潜能。

目前,红曲霉生产以发酵为主,水溶性红曲色素和功能性红曲的生产主要是液态发酵,从种子培养到制曲发酵都是在液态环境下进行的,发酵周期短,色价高,产

品纯度好, 获得率高, 还有规模大、自动化程度高、生产过程易控制、杂菌污染率低等特点, 但是, 液态发酵的设备一次性投入量大、分离提取有效成分过程复杂、成本高, 人们又重新考虑固态发酵的实践性, 中国酒曲的固态发酵为此提供了应用基础, 但是, 如何缩短固态发酵的周期、有效控制其环境条件、减少杂菌污染是目前限制固态发酵的主要因素。另外, 可以通过工艺条件的变动如添加酵母处理液提高产 Monacolin K 菌的菌体量和改善红曲霉的代谢, 提高所需成分的产量^[16]。同时可利用工艺条件阻断桔霉素的生物途径, 使有效成分易于分离提取, 降低成本。虽然目前应用现代生物技术对红曲霉进行了较广泛的研究, 但实际生产中仍有许多问题, 如缺少优良红曲霉高产菌株。如何通过原生质体操作技术、基因诱变、基因重组等生物技术选育出各种活性物质及有效成分的高产菌株, 并减少桔霉素的生成, 并获得安全高产的菌株是目前研究的热点及方向之一。

参考文献:

- [1] 邢旺兴, 等. 几种常见红曲霉的生理学特性研究[J]. 药学实践, 2001, (4): 231- 233.
- [2] Masaaki. production, purification and properties of acid proteinase from Genus Monascus[J]. 日本食品工业学会志, 1991, (10): 954- 961.
- [3] 林祖申. 红曲霉的生产方法及其在调味品生产中的应用[J]. 中国酿造, 2005, (10): 1- 4.
- [4] 杜礼泉, 等. 红曲霉酯酶酯化特性的探讨[J]. 中国酿造, 2005, (1): 23- 24.
- [5] 谢国排. 酯化酶、超强己酸菌液在浓香型大曲酒生产中的应用[J]. 酿酒科技, 2006, (3): 72- 74.
- [6] 傅亮. 红曲色素在红曲霉发酵代谢中生理功能的探讨[J]. 食品科学, 1998, (4): 10- 12.
- [7] 董明盛, 等. 红曲霉抑菌作用的探讨[J]. 中国调味品, 1991, (1): 11- 12.
- [8] 王柏琴. 红曲色素在发酵香肠中代替亚硝酸盐发色的应用[J]. 食品与发酵工业, 1995, (3): 60- 61.
- [9] 何壁梅, 等. 血脂调节剂的研究[J]. 中国抗生素杂志, 1993, (2): 136- 138.
- [10] 韩梅, 等. 红色红曲霉提取液降胆固醇作用的研究[J]. 微生物学通报, 1994, (5): 279- 280.
- [11] 魏培莲, 等. 红曲霉固态发酵产 Lovastatin 的培养条件[J]. 食品与发酵工业, 2004, (4): 32- 35.
- [12] 童群义. 红曲霉产生的生理活性物质研究进展[J]. 食品科学, 2003, (1): 163- 167.
- [13] 陈松生, 等. 红曲霉麦角固醇的研究[J]. 食品与发酵工业, 1995, (6): 18- 23.
- [14] Philippe J. Blanc. Occurrence of citrinin in the production of the red pigments of Monascus[J]. International Symposium on Oriental Monascus, 2000.
- [15] 赖卫华, 等. 应用抑制性消减杂交法筛选与红曲菌产桔霉素相关的基因[J]. 食品科学, 2005, (3): 63- 65.
- [16] 赵树欣, 等. 添加酵母破壁液提高红曲霉 Monacolin K 产率[J]. 食品科学, 2004, (4): 119- 121.
- [17] 周立平. 红曲霉在中国的生产及应用(下)[J]. 中国酿造, 2004, (10): 5- 7.
- [18] 信春晖. 浅谈红曲霉、根霉在浓香型大曲酒中的应用[J]. 酿酒科技, 2004, (4): 39- 40.
- [19] 马艳荣. 红曲霉在白酒生产中应用研究现状[J]. 酿酒科技, 2004, (4): 53- 54.
- [20] 邢旺兴, 等. 关于红曲霉分类地位的认识[J]. 解放军药学学报, 2004, (4): 119- 121.
- [21] 陈旭峰, 等. 红曲霉所产桔霉素及其检测与控制[J]. 酿酒, 2004, (4): 113- 116.
- [22] 赖卫华, 等. 关于红曲霉产桔霉素规律的初步探讨[J]. 中国酿造, 2004, (2): 12- 15.
- [23] 付海平. 红曲霉中 Monacolin K 的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2003, (6): 50- 54.
- [24] 郭红珍, 等. 红曲霉的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2003, (3): 61- 63.
- [25] 成剑峰. 红曲霉限温生长的最适条件[J]. 山西食品工业, 2003, (1): 6- 8.
- [26] 洪智勇, 等. 红曲霉降胆固醇有效成分的研究[J]. 中国调味品, 2002, (6): 6- 8, 13.
- [27] 路秀玲, 等. 红曲霉的应用研究现状与展望[J]. 食品科技, 2001, (1): 43- 46.
- [28] 陈义光, 等. 红曲及红曲霉的研究与应用[J]. 湖北农学院学报, 2000, (2): 188- 191.

水井坊销售收入可望超过 8 亿

本刊讯: 当前表现强劲的白酒股主要集中在产品以中高档白酒为主的知名品牌白酒股上, 例如贵州茅台、G 五粮液、G 老窖、G 汾酒等。这些白酒股价均高高在上。相对来看, 同样是知名白酒的 G 全兴涨幅相对靠后, 目前只有 7 元多的价格给人以巨大升值想象空间, 其后期表现潜力值得期待。公司的“水井坊”被誉为“中国白酒第一坊”, 目前水井坊产能达到 2100 千升左右。有专家预计, 未来水井坊的销售收入可望达到 8 亿~10 亿元。此外, 公司成功推出的“全兴大曲虹彩装”、“全兴大曲祥云装”两款优质产品, 有望迅速扩大规模, 形成新的利润增长点。(容)