

红曲霉菌株生物学特性的研究

魏培莲¹,周立平²,徐 晖¹

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程系,浙江 杭州 310012;

2. 浙江工业大学 生物与环境工程学院,浙江 杭州 310014)

摘 要: 对降脂红曲霉的生物学特性进行了研究.通过研究发现降脂红曲霉菌株具有特定的形态特征,其最适生长温度为30~35℃,孢子萌发和菌丝生长的最适pH值为4.0~5.5,菌株的耐酒精能力较高,体积分数可达15%.

关键词: 红曲霉;生物学特性;降血脂

中图分类号: Q93-33

文献标识码: A

文章编号: 1671-8798(2002)03-0012-04

在中国,红曲霉在食品和医药上的应用至少有千年的历史.红曲霉属真菌门(Eumycophyta),子囊菌亚门(Ascomycotina),不整子囊菌纲(Plectomycetes),红曲科(Monascaceae),本科仅有一属,即红曲霉属(Monascus)^[1].国内介绍过的红曲霉有17种,日本已收集到的有40多种^[2].红曲霉在米上的发酵产物——红曲,在东方国家的应用历史悠久.自古以来,红曲即被中医视为珍贵的消化药,并对某些疾病具有良好的治疗效果,中国古籍《日用本草》、《饮膳正要》、《本草衍义补遗》、《本草备要》及《医林纂要》等都有关于红曲药效的记载.我国近年出版的《中药大辞典》对红曲的功能有长达32字的叙述.1979年,日本国东京农工大学的Endo A等^[3]发现了红曲属(Monascus)的红色红曲霉(M. ruber)能够产生强力的降胆固醇物质Monacolin K之后,国内外研究者纷纷开展了对降脂红曲霉的培养研究.菌株生物学特性决定了菌株的培养条件和培养方法,因此,在对红曲霉的培养工艺进行优化以前有必要先对红曲霉菌株的生物学特性进行充分的了解,以减少培养过程中的盲目性.针对这一情况,笔者对本实验室所保藏的几株红曲霉菌株进行了生物学特性方面的研究.

1 材料与方法

1.1 菌种

红曲霉菌株:M0、M1、M3、M7.

1.2 培养基

1.2.1 斜面培养基:麦芽汁12~14°BX,琼脂1.8%~2.0%,pH5.0.

1.2.2 平板培养基

麦芽汁琼脂培养基:麦芽汁12~14°BX,琼脂1.8%~2.0%,pH5.0.

收稿日期:2002-03-12

作者简介: 魏培莲(1976-),女,山东邹城人,浙江科技学院生物与化学工程系助教,硕士,主要从事微生物工程方面的教学和研究工作.

察氏琼脂培养基:蔗糖 30 g, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 1 g, $NaNO_3$ 2 g, KCl 0.5 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g, 琼脂粉 20 g, 水 1000 mL, pH 4.9.

马铃薯琼脂培养基:马铃薯汁(见 1.3 马铃薯汁的制备)加 2% 琼脂, pH 自然.

1.2.3 液体培养基

含乙醇的麦芽汁液体培养基:麦芽汁调糖度到 14°BX, 用无水乙醇按体积比配制成浓度为 6%、9%、12%、15% 和 18% 的溶液.

1.2.4 固体培养基

大米(粳米或籼米), 葡萄糖 4%, 黄豆粉 3%.

以上培养基灭菌条件:121 °C, 0.1 MPa, 30 min.

1.3 马铃薯汁的制备

将马铃薯洗净去皮, 称取 200 g, 切成小块, 加 1000 mL 水煮沸 1 h, 用双层纱布过滤成清液, 加水至 1000 mL.

1.4 固体发酵培养

装液量为 75 mL/500 mL 三角瓶, 置于转速为 200 r/min 的旋转式摇床, 30 °C 恒温培养 36 h 制得种子液. 500 mL 三角瓶中装入 50 g(指大米干重)培养基, 接种量 15%, 32 °C 培养 3d, 以后 28 °C 培养至 15 d.

1.5 Monacolin K 的测定

高效液相色谱法^[4]测定 Monacolin K.

2 结果与讨论

2.1 各红曲霉菌株在麦芽汁琼脂上的生长形态观察

对所保存的几株红曲霉菌株接种麦芽汁琼脂平板, 观察其菌落形态和生长速度, 见表 1.

表 1 各红曲霉菌株在麦芽汁琼脂上的生长形态

菌株	菌落颜色	菌落形态	生长速度
M7	菌落中间部分橙色, 边缘部分浅	菌落大, 有蔓延性, 疏松, 菌落基本无皱折, 平展, 整个菌落上都有细小的绒毛	较快
M0	菌落灰色	菌落大, 有蔓延性, 有细长的皱褶, 不规则	较快
M1	菌落白色	菌落大, 有蔓延性, 疏松, 菌落基本无皱折, 平展	较快
M3	橙色, 菌落边缘发白, 似有透明感, 背面中间橙色, 边缘白色.	菌落小, 不蔓延, 多皱褶. 菌落致密, 无明显突出绒毛	慢

2.2 各红曲霉菌株发酵产物中 Monacolin K 含量的测定

按照材料和方法中的培养基和培养方法对各红曲霉菌株进行固态培养并测定发酵产物中 Monacolin K 含量. 红曲霉菌株 M7、M0、M1、M3 中 Monacolin K 含量分别为 0.150、0.015、0.026. M3 中未检出, 由此可知, M7 菌株产 Monacolin K 较多, 以下主要对其生物学特性进行了研究.

2.3 M7 菌株在不同培养基上的生长形态

将 M7 菌株培养在不同的琼脂平板上, 观察其生长情况, 结果见表 2.

根据生长形态, 对照红曲霉的分类检索表^[2], 发现 M7 菌株的许多特征都和红色红曲霉(*M. ruber*)相似, 因此初步认定该菌株为红色红曲霉菌株, 这与文献报道红色红曲霉菌株可产 Monacolin K 相符^[3].

2.4 M7 菌株生长温度范围

以麦芽汁琼脂为培养基制备平板,对 M7 菌株进行培养,培养温度为 20~45℃,观察不同培养温度下的生长情况,见表 3。

表 2 M7 菌株在不同培养基上的生长情况

培养基		察氏琼脂	麦芽汁琼脂	马铃薯琼脂
菌落	菌丝体	白色→红色	白色→橙红色	白色→深粉红色
	边缘	不太规则	规则	不太规则
	表面颜色	基本为白色	橙红色	粉红色
	背面颜色	微红色	红色	红色
	质地	疏松	紧密	疏松
	大小	较小	较大	较小

表 3 M7 菌株在不同温度下的生长情况

温度(℃)	20	25	30	35	40	45
生长状况	极慢	+	++	++	+	+

注:“+”表示生长正常;“++”表示生长良好。

由表 3 可见,在 20~45℃ 的温度范围内,该菌株都能较好的生长.为确定其最适的生长温度,继续进行以下实验。

2.5 M7 菌株最适生长温度

测定不同培养温度下菌落的直径,每一温度测 3 皿,求其平均值,结果见表 4。

表 4 M7 菌株在不同生长温度下的生长速度

温度(℃)	20	25	30	35	40
菌落直径 96h	0.4×0.6	1.8×2.0	3.5×3.8	3.7×4.2	2.1×2.1
(cm) 168h	0.5×0.9	4.2×4.2	6.9×7.1	7.0×7.6	4.5×4.7

由表 4 可见,M7 菌株在温度低于 35℃ 时,生长速率随着温度升高而加快;在 30~35℃ 范围内,生长速率的变化幅度很小.因此,其最适生长温度为 30~35℃。

2.6 M7 菌株生长的 pH 值

文献报道红曲霉生长的 pH 值范围很广且在酸性条件下生长良好,实验中对红曲霉孢子萌发的最适 pH 值进行了研究,并考察了 pH 值对菌丝生长的影响,见表 5。

表 5 pH 值对 M7 菌株孢子萌发和菌丝生长的影响

pH 值	生长时间(d)					
	1	2	3	4	5	6
3.0	-	-	-	+	++	+++
3.5	-	-	+	++	++	+++
4.0	-	+	++	+++	+++	+++
4.5	-	+	++	+++	+++	+++
5.0	-	+	++	+++	+++	+++
5.5	-	+	++	+++	+++	+++
6.0	-	-	+	++	++	++
7.0	-	-	+	++	++	++
8.0	-	-	+	+	+	+
9.0	-	-	-	+	+	+

注:“+++”表示生长良好,“++”表示生长一般,“+”表示生长较差,“-”表示不生长。

由实验结果可知:在 pH 值 3.0~9.0 的范围内,M7 菌株的孢子均可萌发,其中 4.0~5.5 范围内萌发的速度较快,而且孢子萌发后菌丝的生长状况较好.在 pH 值大于 6.0 或者小于 4.0 的情况下,菌丝的生长较差,尤其是大于 7.0 的时候,生长更差.由此看来,无论是孢子的萌发还是菌丝的生长

生长,都是在中性偏酸的环境下为好。

2.7 M7 菌株耐乙醇实验

由于红曲霉在液体摇瓶发酵和固体发酵过程中极易因缺氧而产生酒精,不利于红曲霉菌的生长和目标发酵产物的生成,实验中对红曲霉孢子的耐酒精能力以及酒精浓度对孢子萌发后菌丝生长情况的影响进行了考察。

表6 酒精浓度对 M7 菌株孢子萌发及菌丝生长的影响

酒精浓度 体积分数(%)	生长时间(d)						
	1	2	3	4	5	6	7
6	-	+	++	+++	+++	+++	+++
9	-	-	+	++	++	++	++
12	-	-	-	+	+	++	++
15	-	-	-	-	+	+	+
18	-	-	-	-	-	-	-

注:“+++”表示生长良好,“++”表示生长一般,“+”表示生长较差,“-”表示不生长。

由表6可以看出:M7 菌株的孢子耐酒精能力很强,最高耐受酒精度可达到15%,并且在低酒精度时(6%左右),孢子萌发后的菌丝生长良好;随着酒精度的增加,菌丝的生长受到了不同程度的抑制。当酒精度达到18%时,红曲霉孢子已经很难萌发和生长。因此,在发酵的过程中要注意通风,避免酒精的产生对红曲霉的生长产生抑制作用。

3 小 结

通过研究发现降脂红曲霉菌株具有特定的形态特征,菌株在多种培养基上都能生长,不同的培养基上菌丝生长速率以及菌落的形态都有较大的差异,其中,在麦芽汁琼脂培养基上生长良好。菌株在较宽的温度范围内都能生长,最适温度为30~35℃。菌株孢子萌发和菌丝生长的最适pH值为4.0~5.5。菌株的耐酒精能力较高,可达15%。酒精浓度低时,红曲霉的生长较好,而较高的酒精浓度抑制菌体的生长。本研究所得结果均由本处保藏菌种所得,是否适用于所有的红曲霉菌株,还待考证。

参考文献:

- [1] 张纪忠.微生物分类学[M].上海:复旦大学出版社,1990.
- [2] D L Hawksworth, J Pitt. A new taxonomy for *Monascus* species based on the cultural and microscopical characters[J]. 1. Aust. J. Bot., 1983, 31: 51-61.
- [3] Endo A. Monacolin K. A new hypocholesterolemic agent produced by *Monascus* species[J]. J. Antibiotics, 1979, 32(8): 852-854.
- [4] 宋洪涛, 宓鹤鸣. HPLC 法对不同来源红曲中洛伐他汀的定量分析[J]. 中草药, 1999, 30(2): 100-102.

Study of biological features of monascus strains

WEI Pei-lian¹, ZHOU Li-ping², XU Hui¹

(1. Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310012, China;

2. Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

Abstract: The biological features of several *Monascus* strains which can produce blood-lipids lowering materials were studied. These strains had some specific morphological features, and their optimal growth temperature was 30~35℃. The optimal pH of spore budding and mycelium growth was 4.0~5.5, the resistance ability to ethanol was as high as 15%(V/V).

Key words: *Monascus* sp; biological features; blood-lipids lowering