

红曲色素提取的工艺条件及稳定性研究

李浩然¹, 杜竹玮¹, 伍 军²

(¹中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室, 北京 100080; ²北京农学院, 北京 102206)

摘要: 实验以固态发酵红曲大米为原料, 探索红曲色素的浸取工艺, 确定最佳溶剂为 70% 乙醇水溶液、最佳浸取温度为 60 。还对红曲色素对热、光、酸、碱、药剂的稳定性进行研究。结果表明: 红曲色素在 150 以下相对稳定; 红曲色素对紫外线稳定, 而对太阳光敏感; 另外对于不同药剂, 红曲色素的稳定性不同, 少量 NaCl、CaCl₂ 对其几乎无影响, 而 Cu²⁺、Zn²⁺ 等离子对其稳定性有一定影响; 红曲色素在 pH 3~11 范围内可保持稳定的红色。

关键词: 红曲酶; 色素; 固态发酵; 稳定性

中图分类号: TS201.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-3186(2004)01-0068-03

Study on Extraction and Stability of Monascus Pigment

LI Hao-ran¹ DU Zhu-wei¹ WU Jun²

(¹ State Key Laboratory of Biochemical Engineering, Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China; ² Beijing Agricultural College, Beijing 102206)

Abstract: Pigment-contained rice was produced after the solid fermentation by *Monascus anka*. Extracting process of *Monascus* pigment from the fermented rice was studied, and the optimum extractive solvent was 70% alcohol, the optimum temperature was 60. The stability of the *Monascus* pigment such as the heat resistance, radio-tolerance, resistance to acid, alkali and drug, was investigated. The results indicated that *Monascus* pigment was relatively stable under 150 and in the ultraviolet radiation, but very sensitive to the sunlight. Chemicals have different effects on *Monascus* pigment, small amount of NaCl and CaCl₂ had almost no influence, but some ions such as Cu²⁺ and Zn²⁺ had obvious effects; *Monascus* pigment was stable in pH 3~11.

Key words: *monascus anka*; pigment; solid fermentation; stability

食用色素是食品添加剂的重要组成部分,它不仅广泛应用于食品加工,在医药领域也得到了广泛的应用^[1]。食用色素通常分为两类:食用合成色素和食用天然色素。合成色素由于有着色力强、色泽鲜艳、稳定性好、易于溶解和拼色以及成本低廉等一系列优点,曾一度被广泛应用。但随着毒理学和分析技术的不断发展,合成色素的安全性受到挑战^[2],因此食用天然色素的研制就显得尤为重要。红曲霉是目前世界上唯一用于生产食用色素的微生物^[3],红曲红色素是红曲霉生长代谢过程中所产生的红色天然色素,除色素本身的功能以外,还具有抑菌、增强免疫力、抗疲劳、降血脂、降血压、降血糖的功效^[4],因此应用红曲色素不但可以改善食品色泽,而且还具有一定的功能性和营养价值。红曲在我国应用相当广泛,除直接用于烹饪外,亦可用于腐乳的生产和红酒的酿造。红曲霉作为红曲中的主要菌类,以其能产生大量天然红色素而著称。目前已确定了6种红曲色素的结构^[5-6]。然而在利用红曲霉制备红曲的过程中,由于红曲红素不稳定^[1],其色泽常有不红现象发生,影响红曲色素的应用。红曲色素的提取是一道重要

收稿日期: 2003-07-08; 修订日期: 2003-10-20

作者简介: 李浩然, 男, 1968年出生, 副研究员, 研究方向为化工冶金

的工序。提取工艺是否合理、溶剂选择是否恰当,直接关系到红曲色素产品的产量和质量。天然色素一般稳定性较差,对光、热、霉菌等都很敏感,易分解、破坏,因此在提取过程中,应尽量避免由这些因素而导致的分解、破坏。选择适当的溶剂,控制适当的萃取温度,是优化工艺的重要方面。笔者着重研究固态发酵红曲米中天然色素的提取工艺及红曲色素的稳定性,以使红曲色素能够更好地应用于食品工业。

1 实验方法及仪器

1.1 红曲发酵流程 红曲发酵流程如图 1 所示。培养条件:温度 30 ,pH 值 6.0 ± 0.2 ,接种量 3%~4%,发酵周期 12 d。

1.2 红曲平板活化培养 对平板上的红曲霉进行形态观察,第 1 天长出白色绒毛,长度大约为 1 mm;第 2 天菌落颜色变黄,绒毛变长,约为 2 mm;第 3 天菌落已变红,培养基背面也被着色,为鲜艳的红色;第 4 天菌落已非常旺盛,呈现鲜艳的紫红色;到第 5 天菌落已达到最佳状态,绒毛较长且发红,培养基背面也呈鲜艳的紫红色。用显微镜观察可以发现,第 1、

2 天只见到大量的菌丝体,多核、分枝多且没规律,有横隔,宽 $3.5 \sim 5.3 \mu\text{m}$;第 3 天就可以找到孢子囊与分生孢子,孢子囊呈圆卵形, $5.2 \mu\text{m} \times 7 \mu\text{m}$;第 4、5 天分生孢子呈圆形,直径 $5 \sim 7 \mu\text{m}$,2~6 个成 1 串。最后得出红曲霉菌的生长周期应为 5 d。

1.3 红曲固态发酵 通过电镜可以看到在不同发酵时间红曲霉在大米中的生长状况。发酵第 1、2 天,菌体只在米粒表面生长,并形成较密的菌丝层,厚度约几十微米;发酵第 4 天,已有部分菌丝向米粒内部生长,随着发酵的进行,菌丝层逐渐增厚,更多的菌体深入米粒内利用内部空间;至发酵第 8 天,菌丝层已达 $300 \sim 400 \mu\text{m}$,米粒内部布满菌丝体。红曲米表面肉眼看上去光洁,无菌丝体,呈鲜艳的紫红色。但干燥后在红曲米粒表面有一层白粉状的东西,无异臭,有红曲特有的香味,用手摸感觉柔软。把米粒折断,可以看到红曲霉的菌丝浸入米内,有的中心有一点白色部分,用手指搓揉时硬的部分也容易变成鲜红色的粉末。

1.4 红曲色素的浸取条件测定及其稳定性分析 实验均选取同一批红曲发酵大米,低温干燥,粉碎并过筛(140 目)。在不同浸取溶剂、浓度、温度等条件下,研究红曲色素的紫外-可见光光谱,并分析红曲色素对光、热及药剂稳定性。

1.5 实验仪器 721 紫外-可见分光光度计

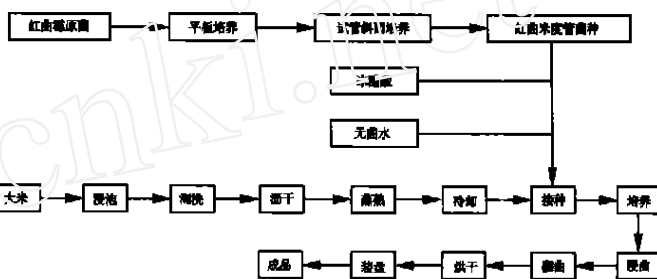


图 1 红曲发酵流程

2 结果与讨论

2.1 红曲色素的浸出 (1)红曲色素在不同溶剂中的浸出效果。图 2 为分别用蒸馏水、乙醇、异丙醇作为浸取剂,在各自沸点下浸取 1h,过滤后测滤液的紫外-可见吸光谱。分析结果显示,浸出液在 400 nm

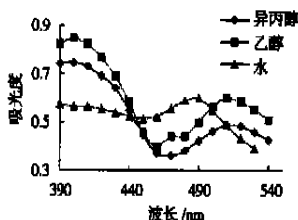


图 2 不同溶剂中红曲色素浸出结果

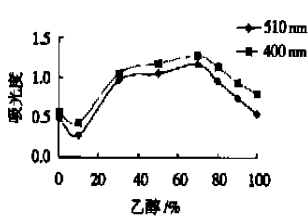


图 3 红曲色素在不同浓度乙醇溶液中的浸出结果

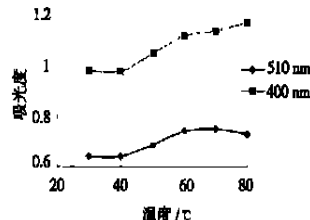


图 4 不同温度下的浸出实验结果

及 510 nm 处均有吸收,表明浸出液中含有红曲黄和红曲红两种色素。3 种浸出液紫外-可见吸收光谱相比较可知,乙醇和水对红曲色素的浸出效果均很好,因此选用乙醇-水混合溶剂作为溶剂。图 3 为不同浓度乙醇-水溶液对红曲色素的浸出结果。在 70 下,以不同浓度乙醇水溶液浸取红曲色素 2 h,过滤并测

定滤液的紫外-可见吸光度值。由图 3 可知,当乙醇浓度很小时,红曲色素的浸取量也相对较少;当乙醇浓度逐渐升高,浸出量也随之增加;当乙醇浓度为 70% 时,同等条件下浸出量最多;此后,随着乙醇浓度的增加,浸出率逐渐下降。因此选用 70% 的乙醇水溶液作为浸取剂。(2) 温度对红曲色素浸出效果的影响 在不同温度下,用 70% 的乙醇水溶液浸取 2 h,测定 400 nm 及 510 nm 处的紫外-可见吸光度值。由图 4 可看出,在不同温度下浸取率有明显差别,温度低于 40 °C 的时候,浸出量较少;此后,随着温度的升高,浸出量逐渐增大;在 60 °C 左右两种色素的浸出量较多。从整体来看,浸出量随着温度的升高逐渐增大,但当浸取温度达到 70 °C 以上时,红色素开始损失。因此最佳浸出温度为 60 °C。

2.2 红曲色素稳定性分析 (1) 热稳定性分析。图 5 为相同重量同一批红曲米在不同的温度下加热 1 h,采用 70% 乙醇水溶液浸取后吸光度的变化情况。可以看出,红曲色素在 150 °C 以下时比较稳定,当温度逐渐升高时,色素损失严重。(2) 太阳光对不同 pH 值的浸取液的影响。事实上,红曲色素对紫外光相当稳定,而对太阳光比较敏感。因此笔者研究不同 pH 值红曲浸取液对太阳光辐射的稳定性。用 70% 的乙醇水溶液在 60 °C 下浸取相同重量红曲米粉末,2 h 后取浸出液,用硫酸、氢氧化钾调至不同 pH 值。在日光下辐射,测定不同日照时间浸出液的紫外-可见吸收光谱。从图 6 可知,红曲黄和红曲红随着 pH 值的变化规律基本一致。随着 pH 值的增大,色素受太阳光的影响也就越来越大。但从总体结果看,红曲色素在 pH = 3 ~ 11 范围内的稳定性均较好,当 pH 大于 12 时,色素不稳定,短时间日光辐射即引起褪

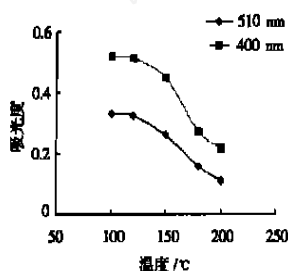


图 5 红曲色素热稳定性

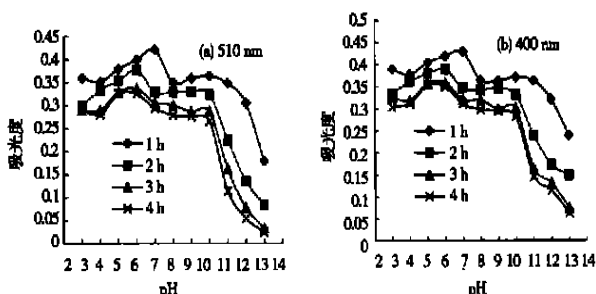


图 6 不同 pH 值红曲浸出液吸收光谱随辐射时间的变化

色反应。(3) 红曲色素的药剂稳定性。实验采取稀释红曲浸出液,再加入一定量的 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 金属离子,放入暗室 48 h 后,测其吸光度。实验结果表明,红曲色素对 Na^+ 和 Ca^{2+} 两类金属离子的残存率大于 99.8%,而对于 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的残存率也在 97% 以上,因此可以认为红曲色素对金属离子相对稳定。

3 结论

(1) 提取红曲色素工艺条件,最佳浸取溶剂为 70% 乙醇水溶液,最佳浸取温度为 60 °C。(2) 红曲色素在 150 °C 以下相对稳定,高热时分解严重,因此使用过程要避免高温加热以保证色素尽可能少的破坏;红曲色素对紫外稳定,而对太阳光敏感,宜放在暗处保存;对于不同药剂,红曲色素的稳定性不同,少量 NaCl 、 CaCl_2 对其几乎无影响,而 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 等离子对其稳定性有一定影响;红曲色素对 pH 是稳定的,在 pH = 3 ~ 11 范围内红曲色素稳定性较好。因此,在色素使用过程中应避免各种不稳定因素,以保证其色泽稳定。

参考文献:

- [1] 傅金泉. 中国红曲及其实用技术. 北京:中国轻工业出版社, 1997
- [2] Lin T F, Demain A L. Effect of nutrition of *Monascus* sp. on formation of red pigments[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1991, 36(1): 70-75
- [3] 李浩然, 冯雅丽, 伍军. 降脂红曲研究进展. 北京农学院学报, 2001, 16(3): 80-85
- [4] Treiber L R, Reamer R A, Rooney C S, et al. Origin of monacolin L from *Aspergillus Terreus* cultures[J]. J antibiot, 1989, 42(1): 30-36
- [5] 许杨, 李燕萍, 赖卫华, 等. 不同培养条件对红曲霉产桔霉素影响的研究[J]. 食品工业科技, 2002, 23(10): 33-35
- [6] Kimura K, Komagata D, Murakawa S, et al. Biosynthesis of monacolins: conversion of monacolin J to monacolin K (mevinolin) [J]. J Antibiot, 1990, 43: 1621-1623