

红曲色素的色调及发酵工艺条件对色调的影响

许赣荣 顾玉梅 吴苗叶 穆晓清

(江南大学生物工程学院, 无锡, 214036)

TS26 A

摘 要 用扫描式分光光度计对3种纯红曲色素及板层析分离的色素进行分析, 得出了其特征性吸收峰及对应波长。安卡红曲黄素(黄色), 红曲玉红素(橙色)分别在388 nm, 464 nm, 而红斑玉红胺(紫色)在516 nm和418 nm 2处有吸收峰。复合色素的主吸收峰在490~500 nm处。此外, 板层析上还有深黄和米黄等色素。红曲米的色调取决于多种色素的相对比例。红曲米的发酵工艺条件对色素的相对比例具有重要的影响。锌离子对红曲霉产色素具有促进作用。培养过程中添加醋酸不利红曲霉产生橙色素, 而有利黄色素的产生。

关键词 红曲霉, 红曲米, 色素, 色调

红曲米的色价和色调是衡量红曲米质量好坏的重要感官指标之一。但在红曲米的国家质量标准中^[1], 只有色价的测定方法。目前还没有通行的方法用于定性及定量分析红曲米的色调。人们通常只能通过观察红曲米的外观或红曲米在酒精水溶液中的色调来判断其色调的好坏, 这显然是不够的。

随着食品加工业、酿酒业及其他应用行业的发展, 红曲产品的多样化已经逐步体现出来, 红曲色素应用于肉制品已经得到广泛认可, 国内外一些研究机构和生产企业相继开展了红曲黄色素、橙色素及水溶性红色素的研究及生产^[2,3]。

形成红曲产品不同色调的物质基础是红曲霉在生长代谢过程中产生的多种色素成分的混合物。红曲色素是由化学结构不同, 性质相近的紫、红、黄3类不同色素组成的混合物。据文献报道, 一般认为红曲色素包括红曲玉红素、红斑红曲素、红斑玉红胺、红斑红曲胺、安卡红曲黄素、红曲素、glutaryl-monascorubrine 和 glutaryl-rubropunctatine。此外, 红曲色素可与发酵基质中的氨基酸反应, 生成所谓的复合色素。法国 Blanc 博士曾提到2种复合色素, 是由红曲玉红素和红斑红曲素分别与谷氨酸作用后的产物^[4]。

1 材料与方法

1.1 色价测定方法

采用国家标准(GB 4926—1985)^[3]测定。分光光度计为日立紫外可见分光光度计(UV-3000), 扫描范围: 190~700 nm。

1.2 红曲米培养

红曲霉菌种为本室保藏菌种, 根据形态观察, 初步确定为紫色红曲霉(*Monascus purpureus*)。采用液态接种, 籼米为原料, 三角瓶或小型不锈钢槽恒温固态培养。红曲液态培养方法, 三角瓶摇床培养。

1.3 红曲纯色素

由可口可乐公司提供的3种色素为: 红斑玉红胺(monascorubramine): 紫红色素; 红曲玉红素(monascorubrine): 橙红色素; 安卡红曲黄素(ankafllavin): 黄色素。

1.4 板层析分离色素

展开剂: V(甲苯): V(乙酸乙酯): V(甲醇)=6:3:1。薄板: 20 cm × 18 cm, 自制。层析硅胶: 青岛产。点样: 将红曲米的甲醇萃取液点于板上。展开后, 根据色带的颜色将不同高度上的硅胶取下, 用甲醇将硅胶中的色素溶解出来, 滤纸过滤后的滤液用 UV-3000 扫描。

第一作者: 硕士, 副教授。

收稿时间: 2001-05-21, 改回时间: 2001-09-14

2 结果与讨论

2.1 红曲产品的色调

2.1.1 扫描式分光光度计分析

用 UV-3000 扫描分光光度计对甲醇溶解 3 种纯色素进行扫描,结果见图 1~图 3 所示。

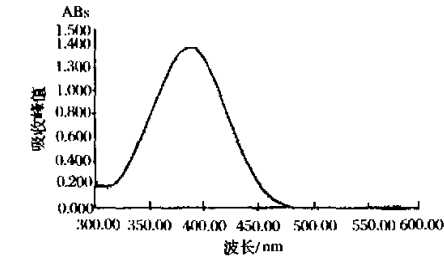


图 1 黄色素扫描图

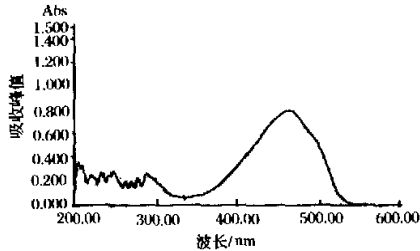


图 2 橙色素扫描图

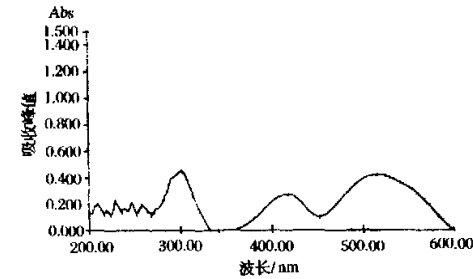


图 3 紫色素扫描图

可以看到,安卡红曲黄素(黄色素)的扫描图呈现 1 个单一峰,峰形对称,最大峰值对应波长为 388 nm。红曲玉红素(橙色素)也基本上为 1 个峰,但峰形不对称,最大峰值对应波长为 464 nm。红斑玉红胺(紫色素)则有 2 个峰。最大峰值对应波长分别为 516

nm 和 418 nm。将上述溶液按一定的比例混合,混合液扫描后的结果如表 1 所示。

表 1 混合色素(浓度 0.025 mg/mL)

吸收峰对应波长及 OD 值

色素(体积比)	吸收峰波长/nm	吸收峰值(Abs)
(黄):(橙) = 3:1	397	0.623 1
(黄):(橙) = 2:1	439	0.729 6
(黄):(橙) = 1:1	462	0.764 7
(黄):(橙) = 1:2	463	1.060 1
(黄):(橙) = 1:3	464	1.209 8
(黄):(紫) = 3:1	397	0.636 6
	520	0.255 1
(黄):(紫) = 2:1	400	0.695 9
	518	0.128 5
(黄):(紫) = 1:1	403	0.515 9
	513	0.396 4
(黄):(紫) = 1:2	466	0.770 2
	516	0.288 2
(黄):(紫) = 1:3	414	0.712 4
	519	0.778 9
(橙):(紫) = 3:1	466	1.291 9
(橙):(紫) = 2:1	467	1.223 0
(橙):(紫) = 1:1	472	0.960 5
(橙):(紫) = 1:2	474	0.956 6
(橙):(紫) = 1:3	500	0.970 3
	424	0.857 1
(黄):(橙):(紫) = 1:1:1	470	0.626 3
	414	0.628 9

从表 1 可见,纯色素混合后,其最大吸收峰波长比较复杂。

对于黄色素与橙色素,2 种单一色素都是单一峰形,2 者混合后,仍为单一峰形,最大吸收峰一般介于 2 种色素的最大吸收特征波长的之间,但靠近哪个特征峰波长,则取决于它们的相对浓度。一般说来,混合色素的最大吸收峰靠近浓度大者的特征峰波长。并且峰形一般不对称。如随着黄色素比例的增加,吸收峰对应波长向黄色素的特征波长靠近;橙色素比例增加,则向橙色素的特征峰波长靠近。但是当橙色素浓度达到足够大时,则最大吸收峰值已固定在橙色素的特征吸收波长上。

黄色素和紫色相混合后,在给定的比例范围内,总是呈现 2 个峰。在 516 nm 的峰基本不变。但是另 1 个峰值的对应波长向较长

波长方向靠近。而橙色素与紫色素相混合后,一般呈现1个峰。当橙色素浓度相对较高时,吸收峰波长处于橙色素的特征峰波长附近。只有当紫色比例增加到一定程度后,才出现2个峰。

混合色素溶液中多种色素的相对浓度决定了扫描图上图形特征(最大吸收峰及其对应的波长、峰形和峰的数量等)。从原理上可以用这些图形特征来描述混合红曲色素的色调。但需要进行大量的工作才能对红曲产品的色调进行真正的定性定量测定。

2.1.2 板层析分离初步判断红曲米色调

用自行制备的经薄板分离的红曲米甲醇萃取液,可观察到更多的色素。将每条色素带刮下后,用甲醇溶解,溶解液用UV-3000扫描式分光光度计扫描后,除了可观察到上述3种色素外,还可发现一些黄色素和红色素,部分色素的情况见表2。

表2 板层析法色素萃取液分离及扫描测定结果

目测颜色	色带位置 /cm	R_f 值	峰值对应 波长/nm
红色	6.5以下	0.361~0.417	495, 420
紫色(上)	6.5~7.0	0.361~0.389	519, 418
紫色(下)	5~5.5	0.277~0.305	517, 419
深黄色(下)	9.0~9.5	0.5~0.527	416
米黄色(上)	11.7~12.5	0.65~0.694	409, 390
橙色	14	0.90625	411

采用本层析展开剂,可以从层析板上清晰地看出不同红曲米中各种色素含量的大致情况。也就是说,用板层析的方法,可大致判断红曲米的色调。如表2中的橙色素,肉眼就可清楚地看到。如果红曲米中没有橙色素,黄色素较多,则在与橙色素 R_f 值相同位置上,可以看到黄色素色带。红色素(并不是橙色素,红曲玉红素),在板层析上,呈连续状地分布在底部区域。据我们分析,这类红色素实际上是红曲的色素与发酵基质中的氨基酸红 Schiff 碱反应生成的复合色素。这类色素在不同的红曲米色素中所占的比例有大有小,因此,这类色素的多少也可作为初步判断红曲米色调的依据之一。在板上还可清楚地

看到2条紫色素条带。

本研究所采用的层析展开剂,还不能完全将色素分开,表2中所提到的橙色素中也含有其他色素,故其峰值对应波长不在单一橙色素的特征波长上(464 nm)。其中1种情况是黄色素(安卡红曲黄素)与橙色素(红曲玉红素)在层析板上几乎处于相同的位置。表3所提的深黄色和米黄色色素,实际上也并不是纯色素,尽管如此,本法对于初步判断红曲米的色调(尤其是橙色素丰富,还是黄色素丰富的红曲米)还是很有作用的。

2.2 红曲米培养条件对红曲米色调的影响

2.2.1 红曲霉菌种对红曲米色素色调的影响

不同红曲霉菌种(株)培养得到的红曲米的甲醇萃取液板层析的图谱大致有2种情况:1种是薄板上有非常明显的橙色素(相应波长463~464 nm),另1种则没有橙色素,在薄板上相同位置上,是黄色素(相应波长388~390 nm)。

因此我们认为,如果从产色素色调的角度来分类,红曲霉可分为2类,有的菌种,如 *Monascus* sp. 3.4384, *Monascus* sp. ZH-6, *Monascus* sp. WM951 产大量的黄色素,基本不产橙色素,而 *Monascus* sp. ZH-4, *Monascus* sp. wm971 产大量橙色素。在分光光度计的扫描图上,这2类菌所发酵的红曲米的表现不同。前者红曲米因黄色素丰富,色调偏黄,故在388~400 nm附近有1个很大的峰,其OD值超过波长为500 nm左右的OD值。而后几种菌种所产的红曲米,橙色素多,同时产品中紫色素(516 nm有吸收峰)也非常丰富,2者叠加的结果,色调偏红,造成在500 nm左右有1个明显大于峰值波长在388~400 nm处的峰,结果如图4所示。

2.2.2 红曲米培养期间湿度对红曲米色调的影响

水分在一定范围内变化时,红曲色素中410 nm的吸收随着水分的升高而降低,370 nm

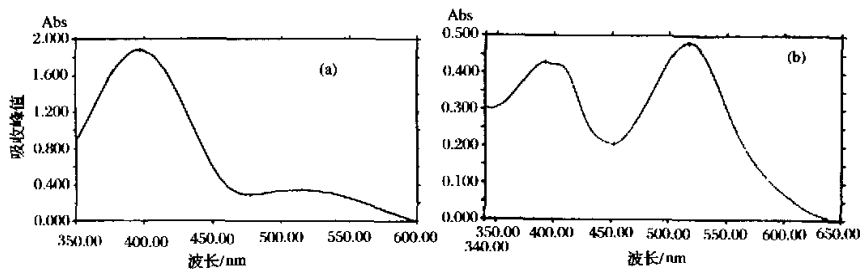


图 4 *Monascus* sp.3.4384(a)和 *Monascus* sp.ZH 14(b)色素扫描图

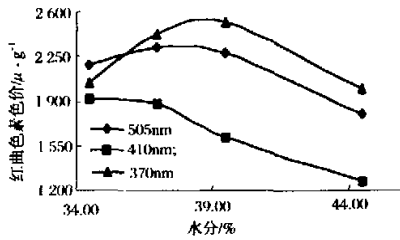


图 5 水分对红曲色调的影响

处的吸收则上升,505 nm 的吸收则变化不是太大。超过一定范围后,影响减小。这可能是由于高水分含量,造成红曲米内部供氧不足,促使红曲色素中的橙色素向黄色素转化。

2.2.3 金属离子对红曲米色调的影响

从表 3 发现,添加 Zn^{2+} 对红曲霉产色素具有促进作用,且作用程度较大,部分菌种可以达到 100% 以上。 Zn^{2+} 对不同菌种的影响也不相同。 Zn^{2+} 具有最优的促进作用。

表 3 金属离子对红曲色调的影响

样品名称	505 色价	470 色价	410 色价	370 色价	470/505	410/505	370/505	相对于空白各种色素增加比例/%				
ZK-0A 空白	1635.85	1222	1743	2494	0.747	1.066	1.524	505	470	410	370	
0.1% Zn^{2+}	1794.55	1426	2305	3324.2	0.7946	1.284	1.852	9.701	16.694	32.243	33.288	
0.2% Zn^{2+}	3240.2	2520	3907	4778.9	0.7777	1.206	1.479	98.07	106.22	124.15	91.616	
0.5% Zn^{2+}	2374.95	2170	3451	3610.4	0.9137	1.453	1.520	45.18	77.578	97.992	44.763	
ZH-12 空白	1662.1	1259	2299	2744.7	0.7575	1.383	1.651	505	470	410	370	
0.1% Zn^{2+}	2450.85	2032	3408	4415.2	0.8291	1.390	1.802	47.46	61.398	48.238	60.863	
0.2% Zn^{2+}	2592.3	2164	3447	4032.6	0.8348	1.330	1.556	55.97	71.882	49.935	46.923	
0.5% Zn^{2+}	2003.37	1574	2966	3056.1	0.7857	1.480	1.525	20.53	25.02	29.013	11.346	

注:红曲霉菌种: *Monascus* sp. ZK-0A; *Monascus* sp. ZH-12。

2.2.4 醋酸对红曲米色调的影响

表 4 醋酸对红曲色调的影响

样品名称	pH	505 色价	470 色价	410 色价	370 色价	470/505	410/505	370/505	相对空白各种色素减少比例/%			
ZK-0A 空白	4.0	1635.85	1222	1743	2494	0.747	1.066	1.524	505	470	410	370
0.1% 醋酸	4.0	1285.45	1021	1530	2552.9	0.7943	1.190	1.986	21.42	16.448	12.22	-2.362
0.2% 醋酸	3.7	1369.35	1089	1741	2669.3	0.7953	1.271	1.949	16.291	10.884	0.1147	-7.029
0.4% 醋酸	3.46	1489.2	1183	1892	2871.7	0.7944	1.270	1.928	8.9648	3.1915	-8.548	-15.14
ZH-12 空白	4.0	1662.1	1259	2299	2744.7	0.7575	1.383	1.651	505	470	410	370
0.1% 醋酸	4.0	1521.1	1272	2317	2946.8	0.8362	1.523	1.937	8.4832	-1.033	-0.783	-7.363
0.4% 醋酸	3.46	1632	1355	2193	3326.9	0.8303	1.344	2.038	1.811	-7.625	4.6107	-21.21

注:红曲霉菌种同上表,色价单位为 μ/g 。

表 4 表明,添加醋酸对红曲霉产红色素(峰值 505 nm 所得 OD 值)不利,而对产黄色素(峰值 370 nm 所得 OD 值)有利,从而改变

了红曲米的色调。随着醋酸浓度的增加,对红色素合成的影响减弱,而对黄色素合成的影响加剧。

致谢: 本课题得到荷兰联合利华研究所及华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室的资助, 江南大学生物工程学院发酵工程实验室提供了主要的仪器设备支持, 在此表示衷心的感谢。

参 考 文 献

- 1 中国国家质量监督局, 中华人民共和国红曲米国家标准, GB4926-1985
- 2 Yongsmith B, Tabloka W, Yongmanitchal W et al. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1993, 9:85~90
- 3 Rasa M D E, Colin W. Production of *Monascus* Pigments through Bioconversion of Wheat Flour, 法国图卢兹红曲生产及应用研讨会论文集, 法国, 图卢兹, 1998. 7
- 4 Blanc P J, O Loreet M, Santerre A L et al. Journal of Food Science, 1994, 59(4):862~865
- 5 Hassan H, Aliain K, Marie O L et al. Applied and Environmental Microbiology, 1997, (7): 2671~2678

Color Shade of *Monascus* Pigments and the Effects of Red Rice Fermentation Conditions on the Color Shade

Xu Ganrong Gu Yumei Wu Miaoye Mu Xiaoqing

(School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi, 214036)

ABSTRACT The absorbance peaks and their corresponding wavelengths of several kinds of pure pigments purified from *Monascus* pigments were determined with a scanning spectrophotometer. The wavelengths corresponding to the absorbance peaks for ankaflavin, monascorubrin are located in 388 nm, 464 nm and monascorubramine has two absorbance peaks with their corresponding wave lengths being 516 nm and 418 nm. Complex pigment has its absorbance peak at 490~500 nm. In addition to these pigments, another two yellow pigments are found in TLC. The color shade of red rice is determined by the ratio of various pigments, and the ratio of the various pigments is affected greatly by red rice fermentation conditions. It was found Zn^{2+} positively stimulates the pigment production and addition of acetic acid to the culture inhibited orange pigment production and favors the yellow pigment production.

Key words *Monascus*, red rice, pigment, color shade



日本将设置食品安全管理部门

据日本经济新闻报道, 随着粮食和食品安全形势的变化, 日本政府日前计划撤销粮食厅, 并在内阁府设立新的食品安全管理部门, 负责食品的安全问题。据报道, 日本政府认为, 随着粮食生产和流通自由化的实施和粮食管理法的废除, 粮食厅已经完成了历史使命。但是, 由于食品污染和疯牛病、疯羊病等问题的出现以及转基因食品的增加, 食品安全问题越来越受到消费者重视, 因此政府有必要设置食品安全管理部门, 确保食品对人体的安全性。