

红曲甜米酒生产过程中红曲色素稳定性研究

Study on stability of *Monascus* pigment in production process of red sweet rice wine

李永波 肖国学 马媛

LI Yong-bo XIAO Guo-xue MA Yuan

(黔南民族师范学院生命科学与农学院, 贵州 都匀 558000)

(Academe of Life Science and Agriculture, Qiannan Normal College for Nationalities, Duyun, Guizhou 558000, China)

摘要:通过固态发酵的方法,制备红曲米,并从中提取出天然红曲色素。以色价为指标,研究光照、温度、受热时间及金属离子对红曲色素稳定性的影响。结果表明:光照条件对红曲色素稳定性影响的大小顺序为日光>紫外灯>避光处,其中,日光对红曲色素稳定性的影响最为明显;另外随着温度的升高,红曲色素的稳定性越来越差,加热时间越长,色价损失越大;金属离子中, Fe^{3+} 对红曲色素的影响最大,而 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 影响不显著。

关键词:红曲色素;稳定性;吸光度;色价

Abstract: *Monascus*-rice was prepared through solid-state fermentation, and red pigment was extracted in nature. Taking the color value as the index, the effects were studied, including light, temperature, heating time and metal ions on the stability of *Monascus* pigment. The results showed: The order of the lighting effect on the stability of *Monascus* pigment was: Light > UV > dark. The influence of light on the stability of *Monascus* pigment was the most obvious; In addition, with the increasing of temperature, the stability of *Monascus* pigment was worse. Meanwhile, with the longer heating time, the color value loss was more. Among metal ions, the effect of Fe^{3+} on *Monascus* pigment maximum, while Cu^{2+} and Zn^{2+} effects were not significant.

Keywords: *Monascus* pigment; stability; absorbance; color value

近年来,天然色素越来越受到人们的关注,尤其是具有中国传统特色的红曲色素^[1]。红曲霉是目前世界上唯一被批准可用于生产食用色素的微生物^[2],红曲色素为其次级代

谢产物,是一种优质的天然食用色素。红曲色素是多种色素的混合物,主要有红色系和黄色系两大类,均为聚酮类化合物,目前已确定了6种红曲色素的结构^[3]。红曲霉的其它次生代谢物种类繁多,生物活性不一,具有抑菌、增强免疫力、抗疲劳、降血脂、降血压、降血糖等作用^[4-5]。红曲色素的生产通常采用红曲霉固态发酵法^[6-7],对红曲色素稳定性的研究,一般是通过浸提分离得到色素后再进行单纯的理化测试^[7-8],对这方面的研究不多,相对来说,研究较多的是不同理化因素对红曲色素产量的影响^[9-11]。

本研究是“红曲甜米酒生产工艺研究”课题的一个基础部分,该课题包括菌种的选育^[12]、孢子活性的测定、多因素对产色素能力的影响、红曲米的生产工艺等内容,重点在于解决生产应用中可能遇到的问题;如温度对色素稳定性的影响(关系到产品消毒工艺的选择);不同离子对色价的影响(关系到产品的包装、添加剂的使用);光照对色素的影响(对产品的包装有着直接的影响)等。甜米酒的生产主发酵菌种多用根霉或者酵母,作为保健型的功能食品红曲甜米酒在生产中添加红曲发酵的目的,是利用红曲在发酵过程中产生的大量有益次生代谢产物,提升甜米酒的功用,改善米酒的口感、视觉感官等。由于红曲霉与根霉在生产红曲甜米酒时发酵不同步,并且红曲色素只对蛋白质有较好的着色性,若先提取色素再往米酒中添加,反会引发消费者的疑虑,因此在生产中首创二步发酵法生产红曲米酒。本研究拟采用固态发酵的方法制备红曲米,从中提取天然的红曲色素,利用红曲霉与根霉混合发酵生产红曲甜米酒,以对红曲色素产生重要影响的理化因素为参考标准,辅助改进红曲甜米酒的生产、加工、储藏工艺,为消费者提供更优质的产品。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

乌衣红曲菌种(*Monascus Red Wuyi*):贵州茅台集团;

基金项目:贵州省科技厅项目(编号:黔科合 LH[2012]7427);黔南民族师范学院微生物学院级重点学科项目(编号:zdxk2011-09)

作者简介:李永波(1976—),男,黔南民族师范学院副教授,硕士。
E-mail: 2320952518@qq.com

收稿日期:2015-12-23

圆粒糯米:产自贵州黔东南;

无水乙醇、氯化铁、硫酸锌、硫酸铜:分析纯,贵州省化学试剂有限公司;

分光光度计:721型,上海现科分光仪器有限公司;

恒温箱:ZXDP-A2050型,上海智城分析仪器制造有限公司;

恒温水浴锅:HH.S21-8-S型,上海龙跃仪器设备有限公司;

无菌操作台:SW-CJ型,成都精宏仪器设备有限公司;

干燥箱:ZXFD-A5430型,上海智城分析仪器制造有限公司;

高压灭菌锅:YXQ-LS-S型,上海/博迅实业有限公司;

电子天平:JT502N型,上海精天电子仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 红曲米的生产工艺流程

糯米→浸泡(24 h左右)→淘洗→沥干(至相对含水量32.3%)→高温灭菌(112℃,20 min)→冷却(30℃左右)→接种→培养(接种量3%左右,前期培养温度30℃,待菌丝布满米粒表面时于20~25℃区间变温培养,周期14 d)→烘干(37℃鼓风晾晒至恒重)→装袋→成品

1.2.2 红曲色素的提取 称取一定量的红曲米,研磨成粉,按1:2(m:V)的固液比加入80%乙醇,置于80℃水浴浸提1.5 h,过滤并定容备用。

1.2.3 试验设计

(1) 光照条件对红曲色素稳定性的影响:取9个大小相同的容量瓶,每组3个重复样,每个样品加入等量的红曲色素原液,测其吸光值作为对照组。而后将其分别放入避光处、紫外灯、日光下30 min后,进行红曲色素吸光度测定,取平均值,按式(1)求其色价。以80%的乙醇作为参比、1 cm比色皿于505 nm测吸光值。

色价=吸光度×稀释倍数(100)。 (1)

(2) 温度及受热时间对红曲色素稳定性的影响:在相同规格的容器中准确加入等量红曲色素原液,每种条件3个平行样,之后分别放入30,50,80,100℃水浴锅中加热,于30,60,100 min取样进行吸光度测定,并按式(1)求其色价。

(3) 金属离子对红曲色素稳定性的影响:准确称取一定量的FeCl₃、CuSO₄、ZnSO₄,分别用水溶解定容至10 mL容量瓶,使该溶液中金属离子的终浓度为50,60,70,80,90 μg/mL。准确吸取等量的红曲色素提取液加入相同规格的容量瓶中,以红曲色素原液为对照组,其余每组5个重复样,分别吸取Fe³⁺、Cu²⁺、Zn²⁺等金属离子的基础液(FeCl₃、CuSO₄、ZnSO₄)加入其中,按金属离子浓度的递增依次加入1~5号容量瓶中,室温放置72 h后测定吸光度,取吸光值与对照的比值作图。

2 结果与分析

2.1 光照条件对红曲色素稳定性的影响

由图1可知,以红曲色素色价初始值为对照组(CK),处

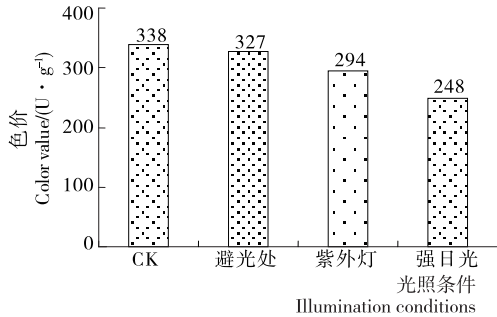


图1 光照条件对红曲色素色价的影响

Figure 1 The influence of different illumination conditions of monascus pigment natural

理后,色价均有所下降。其中,强日光处理较其它处理对色价的影响明显;避光处理的色价损失最小,故红曲色素及其相关产品最好避光保存。

2.2 温度及受热时间对红曲色素稳定性的影响

由图2可知:温度和受热时间对红曲色素的色价有影响,但低温时色价损失不明显。当受热时间一定时,随着温度的升高,红曲色素的色价损失有加速的趋势;当温度一定时,随着受热时间的增加,红曲色素的色价降低。

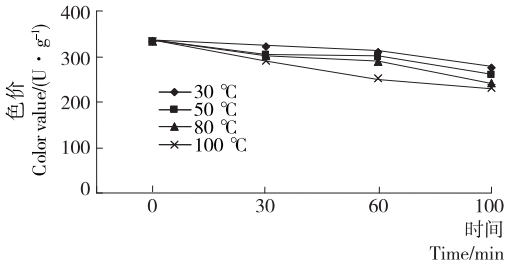


图2 不同加热温度下色价随时间的变化

Figure 2 The pigment natural changes over time under different heating temperature

本试验中、低温处理条件下对红曲色素色价的影响不大。李浩然等^[8]研究表明,当温度高达150℃时,红曲色素分解严重。本研究表明,短期受热对红曲色素色价的影响不大,但在热作用超过30 min后,随着温度的升高,红曲色素的色价损失有加速的趋势,推定色素随着温度的升高稳定性越来越差。

2.3 金属离子对红曲色素稳定性的影响

由图3可知:金属离子对红曲色素色价的影响较小。其中,Fe³⁺对红曲色素的影响最大,Cu²⁺和Zn²⁺对色价的影响较小,且两者影响程度差异不大。本研究表明金属离子对红曲色素色价的影响是极小的,但随着金属离子浓度的增加,红曲色素的色价也逐渐降低。其中,Fe³⁺对红曲色素色价的影响较大,Cu²⁺和Zn²⁺对红曲色素的影响不大,且基本相同。另外李浩然等^[8]在红曲色素稳定性研究中提到,红曲色素对不同药剂的稳定性不同,少量NaCl、CaCl₂几乎无影响,但色价呈降低趋势,本研究结果与此是一致的。据此推测金属阳离子对红曲色素稳定性的影响取决于其氧化/还原电位,氧化性越高,红曲色素损失越快。

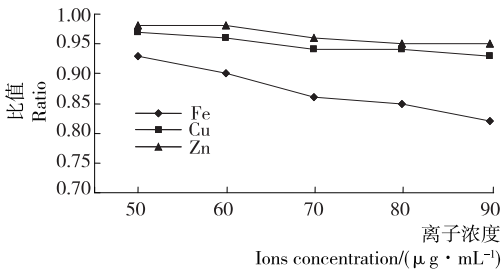


图 3 不同金属离子对红曲色素色价的影响
Figure 3 The influence of different metal ions on monascus pigment

3 结论

作为食用色素要求稳定性要好,这样在使用过程中其化学结构及色泽均不易发生变化。红曲色素稳定性虽不及合成色素,但作为天然色素安全性高。从试验数据来看,红曲色素在常温下比较稳定,其相关产品能够满足食品饮料加工过程中的中、高温消毒要求,为了保证米粒的完整和色素的稳定,在红曲米酒的生产中建议用巴氏杀菌工艺。光照能够引发红曲色素光解,不同光照条件下红曲色素色价都有下降的趋势,所以为了更好地保持红曲色素稳定性,红曲米酒应避光保存。不同金属离子对红曲色素的影响各不相同,离子的氧化性越强,对红曲色素的影响越大;李浩然等^[8]在红曲色素稳定性研究中提到,红曲色素对 pH 是稳定的,不像其他因素那样因 pH 改变而颜色变化显著。虽然现在食用色素仍以合成色素为主,但随着经济的发展,人们生活品质的提高及功能食品的开发,以及对红曲霉研究的深入,更多的红曲发酵产品或双向发酵药品^[13]在食品乃至药品生产中将有更广泛的应用价值。

参考文献

[1] 甘纯玑, 彭时尧. 红曲色素资源的利用现状与开发展望[J]. 自然资源学报, 1998(7): 273-275.
[2] 李浩然, 冯雅丽, 伍军. 降脂红曲研究进展[J]. 北京农学院学报, 2001, 16(3): 80-85.
[3] 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.
[4] Treiber L R, Reamer R A, Rooney C S, et al. Origin of monacolin from *Aspergillus Terreus* cultures[J]. Jantibiot, 1989, 42(1): 30-36.
[5] 沈珺珺, 曾柏全, 王卫, 等. 红曲米的代谢功能及其应用研究进展[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 294-298.
[6] Silvana T S. Pigment production by *Monascus purpureus* in grape waste using factorial design[J]. Swiss Society of Food Science and Technology, 2008(41): 170-174.
[7] 嵇豪, 蒋冬花, 叶砚, 等. 红曲色素的提取工艺及其稳定性研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(7): 86-89.
[8] 李浩然, 杜竹玮, 张剑锐. 红曲色素稳定性研究[J]. 食品科学, 2003, 24(11): 59-62.
[9] 陈义光, 彭德娇, 张晓蓉, 等. pH 对红曲霉产红曲色素的影响[J]. 湖北农学院学报, 2002, 22(2): 147-149.
[10] 杨成龙, 杨晓君, 邓思珊, 等. 几种维生素对红曲霉 S 产色素的影响[J]. 福建农业学报, 2014, 29(3): 266-27.
[11] 杨建, 胡川, 王伟平. pH 对红曲霉固态发酵代谢产物的影响[J]. 中国调味品, 2015, 40(3): 55-59.
[12] 李永波, 宋丽莎, 肖国学, 等. 高产红曲色素菌株筛选[J]. 黔南民族师范学院学报, 2010, 30(6): 43-47.
[13] 谢炎福, 杜苗苗. 红曲霉和虎杖共发酵体系的研究[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(8): 272-275.

(上接第 168 页)

[9] Fan Jian, He Jin-tang, Zhuang Yong-liang, et al. Purification and identification of antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of *Tilapia* (*Oreochromis niloticus*) frame protein[J]. Molecules, 2012, 17(11): 12 836-12 850.
[10] Chalamaiah M, Dinesh K B, Hemalatha R, et al. Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: a review [J]. Food Chemistry, 2012, 135(4): 3 020-3 038.
[11] Marzani B, Balage M, Venien A, et al. Antioxidant supplementation restores defective leucine stimulation of protein synthesis in skeletal muscle from old rats[J]. J. Nutr., 2008, 138(11): 2 205-2 211.
[12] Power O, Jakeman P, Fitz Gerald R J. Antioxidative peptides: enzymatic production, in vitro and in vivo antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides [J]. Amino Acids, 2013, 44(3): 797-820.
[13] Takenaka A, Annaka H, Kimura Y, et al. Reduction of paraquat-induced oxidative stress in rats by dietary soy peptide [J]. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2003, 67(2): 278-283.
[14] 顾明广, 苏芳, 刘艳霞. 酶解鱼皮胶原蛋白制备抗氧化肽工艺研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(2): 149-151.
[15] 金杜欣, 刘晓兰, 郑喜群. Alcalase 和 Flavourzyme 协同修饰玉

米蛋白制备抗氧化活性蛋白水解物[J]. 食品与机械, 2015, 31(2): 25-31.
[16] 张友维, 张晖, 王立, 等. 枯草芽孢杆菌发酵制备花生多肽及其自由基清除活力的研究[J]. 中国油脂, 2011(10): 25-29.
[17] 何荣海, 刘磊, 蒋边, 等. 枯草芽孢杆菌液态发酵粟籽粕制备抗氧化肽[J]. 中国食品学报, 2013(12): 12-20.
[18] 郭利娜, 朱玉, 刁明明, 等. 枯草芽孢杆菌发酵小米糠对其抗氧化肽含量与抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2014, 36(13): 197-201.
[19] 方俊. 猪血多肽的制备及其生物活性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2006: 58-61.
[20] 万佳蓉, 马美湖, 周传云. 多菌种混合发酵猪血的研究[J]. 食品与机械, 2007, 23(1): 50-53.
[21] 张凤英. 猪血红蛋白的酶解及其产物抗氧化活性研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2009: 18-19.
[22] 陈昌琳, 李诚, 付刚, 等. 超声波辅助酶解制备猪肩胛骨降血压肽的工艺及酶解效果比较[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 217-226.
[23] 郭善广. 猪血血红蛋白酶解及其酶解产物抗氧化活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2007: 27.
[24] 刘显儒. 复合菌液态发酵米糠制备 ACE 抑制肽[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2013: 30-36.
[25] 余勃, 陆兆新. 发酵豆粕生产大豆多肽研究[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 189-192.