

树脂法分离红曲红色素的研究

(天津科技大学食品科学与生物工程学院, 天津 300222) 连喜军 王昌禄 顾晓波 李 滢
(宁夏瑞德公司) 高 波

摘 要:用阳离子、阴离子交换树脂和大孔吸附树脂吸附红曲霉发酵液, 然后用 95% 乙醇洗脱, 结果表明, 弱碱性阴离子交换树脂 D380 对红曲霉发酵液中红曲红色素的吸附能力最强, 最大吸附量达 52U/g, 但难以用乙醇洗脱; 大孔吸附树脂的平均吸附量为 35U/g, 但不能将色素液中的红色素和黄色素分开; 弱碱性阴离子交换树脂 D301R 可用于分离红曲黄色素; 弱酸性阳离子交换树脂 110H 对发酵液中红曲红色素的吸附量为 21.6U/g, 洗脱量为 13.0U/g, 洗脱率为 65%, 是供试树脂中分离红曲红色素效果最佳的树脂。

关键词: 红曲红色素, 乙醇, 树脂

Abstract: Monascus pigments in fermentation broth was absorbed by acidic resin, basic resin and macroporous adsorbents, then the resin were washed with ethanol. The results showed that weakly basic resin D380 absorbed the highest volume of red monascus pigments, 52U/g, but it is difficult to elute it. The average volume of adsorption onto macroporous adsorbent group was 35 U/g, but they could not separate red or yellow pigment from filter. Weakly basic resin D301R was the optimal resin to separate yellow pigments; weakly acidic resin 110H was the optimal resin to separate red pigments, its absorption volume was 21.6U/g, elution volume was 13.0U/g, the percentage of the pigment eluted was 65%.

Key words: red monascus pigments; ethanol; resin

中图分类号: TS202.3 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2003)08-0081-03

红曲色素主要由红、桔红和黄色三类化学结构不同、性质相近的物质组成, 如图 1 所示。从红曲霉发酵的红曲米中提出的红曲色素难溶于水, 易溶于乙醇^[1]。随着红曲色素研究的深入, 近年来以液体发酵生产的红曲红色素产品则具有良好的水溶性, 但其成分却变得更加复杂, 由红、桔红和黄色以上三类色素与蛋白质、多肽、氨基酸、氨基葡萄糖等物质结合, 生成多种衍生物^[2]。在外界环境条件影响下, 这些衍生物之间发生反应, 产生沉淀、变色等, 使其应用受

到限制。将红曲色素进行提纯分离, 特别是用物理的方法将红曲红中的红色色素分离出来, 不但可以解决这一问题, 还可以使红曲色素光不稳定性这一难题得以解决^[3]。

根据红曲色素中各成分分子大小的不同, 可用大孔吸附树脂来进行分离, 根据其所带电荷的不同可用离子交换树脂进行分离, 从而除去蛋白质、氨基酸等大分子物质, 并使红曲色素中红色色素和黄色色素分开, 使红曲色素得到更加广泛的应用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

菌种 *Monascus ruber* 6-X₄ (由宁夏瑞德公司提供); 固态培养基 可溶性淀粉 5%, 麦芽糖 4%, 蛋白胨 2%, 琼脂 1.8%~2%; 液体发酵种子培养基 大米粉 5%、KH₂PO₄ 0.25%、NaNO₃ 0.3%、MgSO₄·7H₂O 0.4%、调节 pH 为 4.5 左右; 液体发酵培养基 大米粉 10%、豆粉 2%、NaNO₃ 0.7%、调节 pH 为 3.5 左右; 弱酸性阳离子交换树脂 (D10H、D113、D151、D152)、强碱性阴离子交换树脂 (D261、D280、D296)、弱碱性阴离子交换树脂 (D301R、D380、D392)、强酸性阳离子交换树脂 (D61、D72、D001-cc、D001-ss)、大孔吸附树脂 (D4020、D3520、X-5、NKA、MCA-9、AB-8) 以上树脂均购于南开大学化工厂。

1.2 实验方法

1.2.1 接种及培养

1.2.1.1 斜面 划蜿蜒曲线, 32℃ 培养 5~7d。

1.2.1.2 种子 吸取 5mL 无菌水于斜面洗孢子, 然后吸取 3mL 接种于种子培养基中 (装液量为 50mL/500mL 三角瓶), 32℃, 180r/min, 培养 24h。

1.2.1.3 发酵 吸取种子液 2mL 接种于液体发酵培养基中 (装液量为 50mL/500mL 三角瓶), 32℃, 200 r/min, 培养 72h 左右。

1.2.2 红曲红色素色价的测定 按 GB15961-1995 进行^[9]。

1.2.3 树脂提取发酵液中红曲红色素

1.2.3.1 发酵液的制备 红曲霉在发酵培养基上发酵

收稿日期: 2003-01-19

作者简介: 连喜军 (1972-), 男, 天津科技大学在读博士研究生, 研究方向: 食品生物技术。

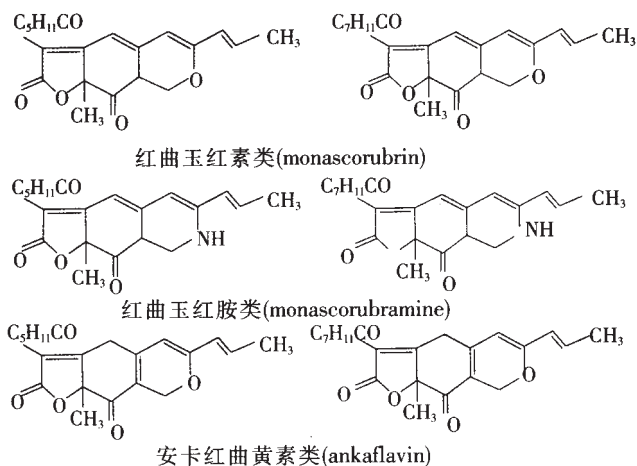


图1 红曲色素的三种主要成分结构

约72h后,将发酵液过80目的筛网,收集滤液,再用滤纸过滤,滤液用于树脂吸附处理。

1.2.3.2 树脂的预处理 大孔吸附树脂用丙酮溶液、其他树脂用95%的乙醇溶液浸泡12h后,先用丙酮或乙醇冲洗,再用蒸馏水洗至中性,用4%NaOH和4%的HCl分别浸泡树脂4h,每次用蒸馏水洗至中性,湿法保存备用。

1.2.3.3 利用树脂吸附红曲色素 吸取10mL色素发酵液,加入20g预处理的树脂,吸附一定时间后,每次再加1mL,用去离子水冲洗,直至冲洗液呈现微红色,表示树脂吸附达到饱和;然后再用95%的乙醇冲洗,直至冲洗液无色,表示可置换的色素已经置换结束,记录吸附和洗脱色素液的色价,测定发酵液和洗脱液的最大吸收峰。

$$\begin{aligned} \text{吸附量 (U/g 树脂)} &= \text{吸附色价} / 20 \\ \text{洗脱率 (\%)} &= (\text{洗脱色价} / \text{吸附色价}) \times 100\% \\ \text{回收量 (U/g 树脂)} &= \text{洗脱色价} / 20 \end{aligned}$$

2 结果与讨论

2.1 不同树脂吸附红曲红色素的吸附量

表1为不同树脂吸附红曲红色素的吸附量,在强酸性阳离子交换树脂D61、D72、D001-cc、D001-ss中,D61和D001-cc的吸附量最多,分别达到34U/g和35.6U/g,这可能是因为这两种树脂的转型膨胀率相对较小,转型后的空隙也小,便于离子交换。弱酸性阳离子交换树脂110H、D113、D151、D152中,110H和D113的吸附量多,这是因为这两种树脂的全交换量大,转型膨胀率小。与强酸性阳离子交换树脂相比,弱酸性阳离子交换树脂的吸附量要小得多。

表1 不同树脂吸附色素的吸附量

树脂	D113	D151	D152	D261	D280	D296	D301R	D380	D392	D61
吸附量(U/g)	18.6	18	6.8	43.8	22	42.6	16.2	52	4.2	34
树脂	D72	D001-cc	D001-ss	110H	D4020	D3520	X-5	NKA	MCA-9	AB-8
吸附量(U/g)	10.4	35.6	6.8	21.6	6.8	33.2	35.4	38.2	37.8	29

强酸性阳离子交换树脂和弱酸性阳离子交换树脂的功能基分别为(-SO₃⁻)和(-COOH),由此说明红曲色素结构中有可强解离的H⁺,这与报道中红曲色素可能的结构式相符(图2)^[4]。

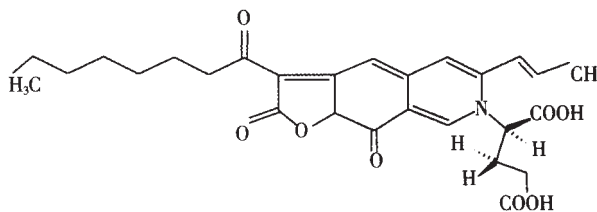


图2 红曲红色素的一种可能的结构式

强碱性阴离子交换树脂D261、D280、D296中,D261和D296的吸附量分别达43.8U/g和42.6U/g,比D280的高1倍多,这是由于树脂的功能团不同造成的,前者的功能团是-N⁺(CH₃)₃,D280的功能团为-N⁺C₅H₄CH₃,由此可推测,红曲红色素的结构中有与-N⁺(CH₃)₃类似的结构。弱碱性阴离子交换树脂D380是所有树脂中吸附量最大的,达到52U/g,其功能团为(-NH₂),同一类型树脂D392因为全交换量低,吸附量仅为4.2U/g,而D301_R的功能团为-N(CH₃)₂,不利于红曲红色素的交换。大孔吸附树脂对色素的吸附量在35U/g左右,孔径越大,吸附量越多。总之,发酵液中红曲红色素的主要结构基团有-NH₂、-N⁺(CH₃)₃和-CH₃。结合大米粉和大豆粉中的氨基酸主要成分为亮氨酸和赖氨酸^[5],其R-基分别为(CH₃)₂-CHCH₂-和H₃N⁺-(CH₃)₄-^[6],据此可推断出,以大米粉和大豆粉为原料生成的红曲红色素成分结构主要有三种(图3):

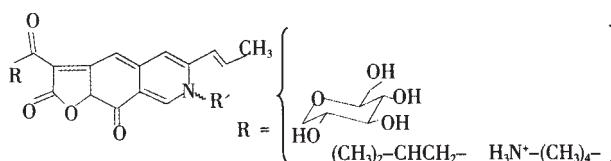


图3 以大米粉和大豆粉为原料生成的红曲红色素成分三种可能结构式

2.2 不同树脂吸附色素的洗脱量

表2为各种树脂吸附饱和后,用95%乙醇洗脱后的色价及洗脱率。由表2可知,洗脱率最高的是110H,其次为D113、D151和D72,其余树脂的洗脱率都在30%以下。与大孔吸附树脂D4020、D3520、X-5、NKA、MCA-9、AB-8相比,D72的吸附量少,但洗脱量和洗脱率均比它们高,这与文献报道不相符^[7],或许与各自所用培养基不同因而生成的色素结构不同有

表2 不同树脂洗脱色素量及洗脱色素率

树脂	D113	D151	D152	D261	D280	D296	D301R	D392	D380	D61
洗脱量(U/g)	8.6	7.4	5.8	2.8	3.2	4.8	4.0	3.2	3.8	2.4
洗脱率(%)	43	37	29	14	16	24	20	16	19	9.2
树脂	D72	D001-cc	D001-ss	110H	D4020	D3520	X-5	NKA	MCA-9	AB-8
洗脱量(U/g)	7.8	5.2	5.0	13.0	3.9	8.1	3.0	4.2	4.1	9.0
洗脱率(%)	39	26	25	65	15.8	13.7	16	17	16.1	27.0

关。在所有树脂中,洗脱率和单位树脂洗脱色价同时为最高的是弱酸性阳离子交换树脂 110H,因而弱酸性阳离子交换树脂 110H 是红曲色素分离中最佳的分离树脂。

2.3 不同树脂洗脱所得色素最大吸收峰的变化

测定发酵液和上述试验中吸附和洗脱效果较好的几种树脂的洗脱液的最大吸收峰,结果如图 4 和图 5 所示。

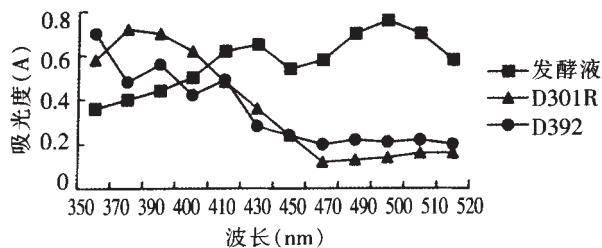


图4 发酵液、D301R 和 D392 分离液的可见吸收曲线

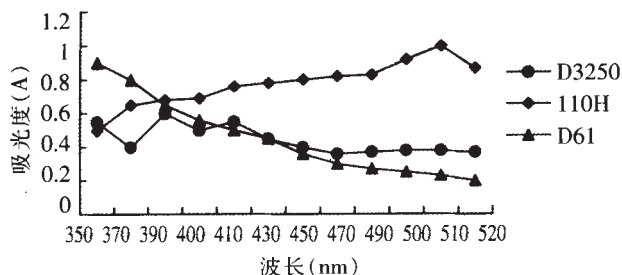


图5 D3520、110H 和 D61 分离液的可见吸收曲线

图 4 为发酵液、D301R 和 D392 分离液的可见吸收情况,由图可知,发酵液的最大吸收在 430nm 和 500nm 左右,这与文献报道的一致^[8]。D301R 可将色素液中的黄色成分分离出来,其最大吸收峰在 370~390nm 之间;而 D392 分离的成分最大吸收在 390~400nm 和 410~430nm 之间,估计红色色素和黄色色素都有,但红色成分的含量较少。图 5 为 110H、D3520 和 D61 分离液的可见吸收,由图中可以看出,110H 的分离效果最好,从颜色上看,比其它树脂的

分离液更红,而其在 390nm 左右没有发现最大吸收峰,仅在 510nm 有一最大吸收峰,此峰为红曲红色素的吸收峰。D3250 在可见光范围内也有 390~400nm 和 410~430nm 的最大吸收,但峰的高度并不大,分离液呈现微黄色。D61 的分离液没有最大吸收峰,说明其洗脱所得的色素已不具有原色素的光吸收性质。

3 结论

D380 弱碱性阴离子交换树脂对红曲霉发酵液的吸附最强,但难以用乙醇洗脱;弱酸性阳离子交换树脂 110H 是红曲色素分离的最佳树脂,在水溶液中可使发酵液中的红色成分被吸附,而其它成分不被吸附,用乙醇洗脱时,红色成分也容易洗脱下来。

参考文献:

- [1] 张永权,张亮琦,淡家林.红曲色素色价和色调分析方法探讨[J].食品与发酵工业,1985(6):34~37.
- [2] Wong,H C,Kehler,P E.Production of red water soluble Monascus pigments[J].Food Sci,1983,48:1200~1203.
- [3] 毛宁,陈松生.红曲霉有效成分的生理活性及应用研究[J].中国酿造,1997(1):9~12.
- [4] Hassan Hajjaj,Alain Klé b é,Marie O Loret,et al. Production and Identification of N-Glucosylrubropunctamine and N-Glucosyl monascorubramine from Monascus ruber and Occurrence of Electron Donor Acceptor complexes in these red pigments[J].Appl Environ Microbiol,1997,63:2671~ 2678.
- [5] 王银瑞,胡军,解柱化.食品营养学[M].西安:陕西科学技术出版社,1992.45,198.
- [6] 汪玉松,邹思湘,张玉静.现代动物生物化学[M].北京:中国农业出版社,1999.1~2.
- [7] 董群义,高孔荣.红曲色素提取工艺研究[J].食品工业科技,1998(2):27~29.
- [8] 陈家文.水溶性红曲色素工业性试验研究[J].食品与发酵工业,2000,26(2):20~24.
- [9] GB15961-1995,食品添加剂红曲红[S].

《食品工业科技》订阅办法

月刊

本刊读者服务部随时办理《食品工业科技》的订阅工作。即使错过邮局征订期,本刊也可补寄当年散刊和过刊合订本。2002 年本刊每册 8 元,全年 96 元;92、93、94、95 年各年合订本,每年一册,每册 40 元;96、97、98 年各年合订本,每年一册,每册 50 元;99 年、2000 年合订本,每年一册,每册 60 元;92 年增刊 20 元一册;1995 年增刊 20 元一册;99 年增刊 30 元一册。另外,本刊读者服务部还代售二百余种食品科技书籍。

购买《食品工业科技》杂志免收邮资,购买代售图书收取 10% 邮寄挂号费。

地址 北京市永外沙子口路 70 号

邮编 :100075

电话 :010 87215557-3065

传真 :010 87287944