

偏黄色调高色价红曲米发酵条件的研究

杨成龙

(福建省农业科学院农业工程技术研究所, 福建 福州 350003)

摘 要: 通过固体培养, 研究不同红曲霉菌株、初始 pH 值和复合无机盐添加浓度对红曲米色价和色调的影响, 以期得到偏黄色调高色价红曲米的培养条件。结果表明: 在浸米水中适量添加醋酸可以在色价小幅下降的情况下, 提高产品的黄色调; 定量添加复合无机盐, 产品色价比常规工艺提高 100% 以上, 黄色调有明显提高; 在红曲培养期内, 产品的色价呈逐步增加趋势, 色素中的橙黄组分在培养 7~ 13 d 内呈先缓慢上升后略有下降的过程。通过正交试验及方差分析, 确定出优化培养组合 116 R 菌株、复合无机盐浓度 0.2%、初始 pH 值 5.8。
关键词: 红曲霉; 红曲米; 红曲色素; 色价; 色调

中图分类号: TS 202.3; TQ 925.7 文献标识码: A

Fermentation conditions for partial yellow, high color value red rice

YANG Cheng-long

(Agricultural Engineering Technique Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract: Fermentation conditions for partial yellow, high color value red yeast rice were studied. They include *Monascus* strains, initial pH and added inorganic salt concentration. Main effects of the culture conditions found included (a) addition of acetic acid in the soaking water to increase the yellow shade, (b) varying salt concentration to change *Monascus* pigment's color value, (c) 0.2% compound inorganic salts to double the color value increase with increased yellow shade, (d) prolonging the culture time to intensify the color value, (e) 7- 10 days fermentation to increase the orange yellow *Monascus* pigments, and (f) 10- 13 days fermentation to slightly decrease content of the pigments. By using the orthogonal test and analysis of variance, the optimal conditions for obtaining the desired pigmentation were found to be: application of cultured 116 R strains, composite inorganic salt concentration of 0.2% and medium initial pH 5.8.
Key words: *Monascus*; red yeast rice; *Monascus* pigments; color value; color shade

红曲传统上广泛用于黄酒、食醋、腐乳等食品, 近年来, 由于红曲色素具有性质稳定、耐热性强、对蛋白质着色力好等优点, 在肉制品加工和水产品加工领域的使用量迅速增加, 已跃升到红曲米和红曲色素最主要的应用领域。
红曲色素来源于微生物, 是红曲霉所分泌的色素, 它的主要成分有 6 种, 其中有红色色素 (潘红素、红曲红素), 黄色色素 (红曲素、红曲黄素) 和紫色色素 (潘红胺、红曲红胺) 各 2 种^[1]。目前在食品工业上应用的红曲米或红曲色素均为以上成分的混合物, 随着应用领域的扩大, 色素应用企业和消费者对各类产品色泽要求的取向出现了差别, 对红曲色素的色调提出了新的要求, 如在火腿肠生

产中需要偏红的色调, 在肉松和鱼类加工中需要偏橙黄的色调。目前红曲色素生产厂家主要以色价为判定质量的主要标准, 常规工业化规模生产的高色价红曲米产品的色价在 3 000~ 3 500 之间, 产品色价偏低, 同时, 由于红曲米中紫色组分较多, 造成产品色调偏暗。尚无针对性的向应用厂家提供不同色调的高色价产品, 对进一步扩大红曲色素的应用领域造成了不良影响。红曲米的发酵条件对产品的色价和色调具有调节作用^[2- 3], 本研究采用优良生产菌株, 通过对培养周期、pH 值和无机盐的调控, 对定向培养偏黄色调的高色价红曲米产品进行了探讨。

收稿日期: 2008- 12- 31 初稿; 2009- 03- 27 修改稿
作者简介: 杨成龙 (1964-), 男, 高级工程师, 从事食品加工与发酵研究
基金项目: 福建省科技计划重点项目 (2007C0051)

1 材料与方 法

1.1 材料

菌种为 116, 116L, 116R 三个红曲霉菌株, 是福州隆利信生物制品有限公司筛选的优质红曲霉生产菌种。培养红曲米的原料为市售籼米。

1.2 培养基

种子斜面培养基: 麦芽汁 10° Bé, pH 6~ 7, 琼脂 2%, 121℃ 灭菌 30 min。固态发酵基本培养基: 籼米洗净后, 按籼米与浸米水 1: 1 的比例常温浸泡 12 h 后, 沥干。称 70 g 装入 500 mL 的三角瓶中, 121℃ 灭菌 30 min。

1.3 红曲米制备

装有 70 g 浸米水浸泡后的籼米的三角瓶接入斜面种子, 于 35℃ 恒温培养 13 d, 其间每 12 h 摇瓶 1 次, 以防止培养基结块, 培养 48 h 后每个三角瓶中分别补无菌水 5 mL。培养结束后, 取出红曲米于 60℃ 通风干燥至含水量 < 12% 备用。试验各处理均为 3 次重复。

1.4 色价测定和色调的判定方法

采用国家标准 (GB 4926- 2008) 测定^[4]。分光光度计为 721 型分光光度计, 除按标准在 505 nm 波长测定计算色价外, 根据红曲色素中橙黄色组分和紫色组分各在 464 nm 和 516 nm 有吸收峰, 复合色素的吸收主峰在 500 nm 的特征^[2], 还分别在 464 nm、500 nm、516 nm 处测定各个色调的数值, 参照国标中红曲米色价的计算方法得出 464 色价、500 色价和 516 色价, 分别以 E464、E500 和 E516 表示。以 E464/ E500 (黄红比) 和 E464/ E516 (黄紫比) 的比值判定红曲米的色调。为进一步判断发酵工艺的在实际生产中的意义, 本研究还设置了红曲米色价总值的判定指标, 计算方法为: 色价总值= 每百克籼米原料培养后所得的红曲米的克数× 产品色价。

2 结果与分 析

2.1 浸米水的初始 pH 值对红曲色价和色调的影响

培养基的 pH 值对微生物的生长和代谢有非常明显的影响, 目前红曲米工业化固态发酵基本是在通风曲池中进行, 在偏酸性条件下培养可减少染菌的危险, 所以本研究只设定浸米水等于或低于自然 pH 值的条件, 而未设高 pH 值的条件。

籼米浸入浸米水后测定浸米水的自然初始 pH 值为 5. 8, 设为空白对照处理。其他 4 个处理分别

以醋酸为 pH 调节剂, 将浸米水的初始 pH 值分别调到 4. 6、4. 9、5. 2、5. 5, 各处理进行固态培养试验后, 测定红曲米的色价及色调, 结果见表 1。空白对照的色价为 3 010, 其他各加酸处理的色价均有小幅下降, 随加酸量的增加, 色价呈逐步下降趋势, 其中初始 pH 值 4. 6 的处理为 2 680。红曲米的黄红比和黄紫比随着加酸量的增加, 呈逐步上升趋势, 黄红比由 0. 65 逐渐上升到 0. 86。试验结果表明: 在浸米时加入定量的醋酸可以在色价小幅下降的情况下, 使红曲的橙黄色调的组分增加, 改善红曲米的色调。

表 1 浸米水初始 pH 值对红曲色价和色调的影响
Table 1 Effect of initial soaking water pH on color shade and color value of resulting pigment

| pH 值 | 色价 (u·g ⁻¹) | 色调(黄红比, E464/ E500) | 色调(黄紫比, E464/ E516) |
|------|----------------------------|------------------------|------------------------|
| 5. 8 | 3010 | 0. 650 | 0. 604 |
| 5. 5 | 2890 | 0. 725 | 0. 710 |
| 5. 2 | 2860 | 0. 735 | 0. 723 |
| 4. 9 | 2730 | 0. 800 | 0. 812 |
| 4. 6 | 2680 | 0. 860 | 0. 878 |

2.2 不同复合无机盐浓度对色调和色价的影响

红曲液态深层发酵的培养基组成一般会有碳源、氮源、无机盐和维生素等, 而传统红曲米固态培养仅以普通大米为原料, 基本不加其他营养源, 培养基的营养均衡性相对较差。本试验在浸米水中定量添加由磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、硫酸锌、硫酸镁复配而成的复合无机盐, 以检验添加无机盐对红曲米色价和色调的影响。以下为浸米液中分别添加 0%, 0. 1%, 0. 2%, 0. 4% 等不同加量的复合无机盐, 采用菌株 116R 和 116L 分别进行对比试验。经常规固态培养后各处理的色价、色调及色价总值的影响结果见表 2 和表 3。

表 2 不同复合无机盐浓度对色价和色调的影响(116R)
Table 2 Effect of inorganic salt concentration on color shade and color value of resulting pigment(116R)

| 复合无机盐 浓度(%) | 色价 (u·g ⁻¹) | 色调(黄红比, E 464/ E 500) | 色调(黄紫比, E464/ E516) | 色价 总值 |
|----------------|----------------------------|--------------------------|------------------------|----------|
| 0 | 2970 | 0. 647 | 0. 673 | 101050 |
| 0. 10 | 5420 | 0. 951 | 1. 027 | 184890 |
| 0. 20 | 7160 | 0. 956 | 1. 058 | 274290 |
| 0. 40 | 6320 | 1. 049 | 1. 103 | 244790 |

注: 色价总值= 每 100 g 籼米原料培养后所得的红曲米的克数× 产品色价。

表 3 不同复合无机盐浓度对色价和色调的影响(116 L)

Table 3 Effect of inorganic salt concentration on color shade and color value of resulting pigment(116 L)

| 复合无机盐 浓度(%) | 色价 (u·g ⁻¹) | 色调(黄红比, E464/ E500) | 色调(黄紫比, E464/ E516) | 色价 总值 |
|----------------|----------------------------|------------------------|------------------------|----------|
| 0 | 2860 | 0.678 | 0.627 | 94490 |
| 0.10 | 4080 | 0.832 | 0.872 | 151450 |
| 0.20 | 7010 | 0.931 | 1.017 | 259630 |
| 0.40 | 5820 | 0.923 | 1.006 | 222120 |

结果表明, 添加复合无机盐各处理的色价和色调均优于常规处理的空白对照, 同时当无机元素浓度超过一定值时产品的色价会呈下降趋势。添加复合无机盐 0.2% 的 2 个处理的色价与同组的其他处理相比均为最高, 分别达到 7 160 和 7 010, 是同组空白对照色价的 241% 和 245%, 提高的幅度明显; 与同组空白对照相比, 各处理的黄红比均有明显提高, 黄红比可由 0.65~0.68 提高到 0.83~1.05, 菌株 116-R 的处理略好于 116-L; 与同组空白对照相比, 各处理的色价总值均较高, 添加复合无机盐 0.2% 的 2 个处理的色价总值也为同组最高, 分别是空白对照的 271%、和 275%。说明添加定量的复合无机盐有利于提高红曲米的色价和红曲米中橙黄组分的比例, 改善红曲米的色调。并且在大幅提高色价的同时, 产品的得率仍能保持在较高的水平, 使得产品的色价总值远高于对照, 与传统工艺生产红曲米的“低价高产”或“高价低产”相比, 有明显不同, 对指导红曲米的现实生产有实际意义。

2.3 添加不同无机元素浓度对红曲米培养期内色调与色价的变化

研究红曲米培养期内色价与色调的变化, 有助于指导红曲米在实际生产中根据不同的使用需求, 有目的地生产不同色价和色调的产品, 有利于提高生产效率和经济效益, 本试验在培养基中分别添加 0%, 0.1%, 0.2%, 0.4% 等不同加量的复合无机盐, 供试菌株为 116-R。在常规培养条件下分别于培养 7 d、8 d、9 d、10 d、11 d、12 d、13 d 取样, 测定各处理的色价和色调的影响结果见图 1 和图 2。

从试验结果可以看出, 各处理在培养期内色价均呈逐步上升趋势, 黄红比的数值在培养 7~13 d 内呈先缓慢上升后略有下降的过程, 在培养第 9 d 前后黄红比达到最高。同时在培养期内复合无机盐的各处理的色价和色调均明显优于与空白对照。试

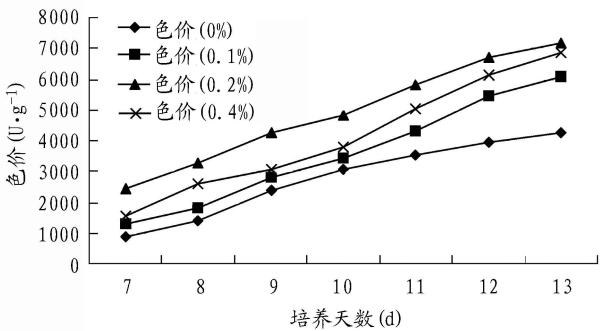


图 1 不同复合无机盐浓度对红曲米培养期内色价的影响

Fig 1 Effect of inorganic salts concentration on color value of resulting pigment during fermentation

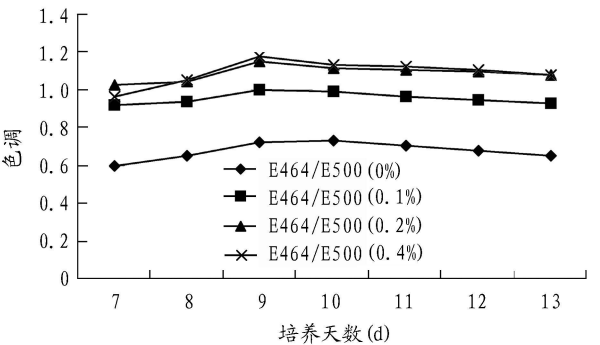


图 2 不同复合无机盐浓度对红曲米培养期内色调的影响

Fig 2 Effect of inorganic salt concentration on color shade of resulting pigment during fermentation

验结果提示, 当以获取色调优良的产品为目的时, 在生产中适当缩短发酵期 1~3 d, 有利于提高产品得率和曲池使用率。

2.4 发酵条件的优化试验

在进行浸米水初始 pH 值和复合无机盐浓度对红曲米色价及色调影响试验的基础上, 以红曲霉菌株、复合无机盐浓度和浸米水初始 pH 值为试验因素, 固态培养 13 d 后, 以色价和黄红比 (E464/E500) 为评判指标, 进行正交试验 L₉ (3⁴)。正交试验因素水平表见表 4, 其试验结果见表 5、表 6 和表 7。

表 4 试验因素水平

Table 4 Levels and factors of orthogonal experiment

| 水平 | 因素 | | |
|----|-------|------------|------|
| | A 菌株 | B 无机盐浓度(%) | C pH |
| 1 | 116 | 0 | 5.8 |
| 2 | 116-L | 0.2 | 5.2 |
| 3 | 116-R | 0.4 | 4.6 |

表 5 L₉(3⁴) 正交试验结果
Table 5 L₉(3⁴) Results of orthogonal test

| 试验号 | A | B | C | D | 色价/ 1000 | 色调 (E464/ E500) |
|------------------|-----------|---------|---------|--------|----------|--------------------|
| 1 | 1(116) | 1(0) | 1(5 8) | 1 | 2. 20 | 0. 65 |
| 2 | 1 | 2(0 2%) | 2(5 2) | 2 | 4. 80 | 0. 95 |
| 3 | 1 | 3(0 4%) | 3(4 6) | 3 | 4. 80 | 0. 96 |
| 4 | 2(116 L) | 1 | 2 | 3 | 3. 10 | 0. 78 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 6. 60 | 1. 11 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 6. 70 | 1. 09 |
| 7 | 3(116 R) | 1 | 3 | 2 | 3. 10 | 0. 87 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 7. 20 | 1. 12 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 6. 70 | 1. 10 |
| 色价 | | | | | | |
| K ₁ | 11. 80 | 8. 40 | 16. 10 | 15. 50 | | |
| K ₂ | 16. 40 | 18. 60 | 14. 60 | 14. 60 | | |
| K ₃ | 17. 00 | 18. 20 | 14. 50 | 15. 10 | | |
| R | 5. 20 | 10. 20 | 1. 60 | 0. 90 | | |
| 色调 | | | | | | |
| K ₁ ' | 2. 56 | 2. 30 | 2. 86 | 2. 86 | | |
| K ₂ ' | 2. 98 | 3. 18 | 2. 83 | 2. 91 | | |
| K ₃ ' | 3. 09 | 3. 15 | 2. 94 | 2. 86 | | |
| R' | 0. 53 | 0. 88 | 0. 11 | 0. 05 | | |

表 6 方差分析结果(色价)
Table 6 Variance analysis of experimental data on color value

| 方差来源 | 偏差平方和 | 自由度 | 方差 | F 值 | F _α | 显著性 |
|------|----------|-----|----------|---------|---------------------------|------------------|
| A | 5. 3956 | 2 | 2. 6978 | 39. 79 | $F_{0.05}(2, 2) = 19. 00$ | $\alpha = 0. 05$ |
| B | 22. 2489 | 2 | 11. 1245 | 164. 08 | $F_{0.01}(2, 2) = 99. 00$ | $\alpha = 0. 01$ |
| C | 0. 5356 | 2 | 0. 2678 | 3. 95 | | |
| 误差 | 0. 1356 | 2 | 0. 0678 | | | |
| 总和 | 28. 3157 | 8 | | | | |

表 7 方差分析结果(色调)
Table 7 Variance analysis of experimental data on color shade

| 方差来源 | 偏差平方和 | 自由度 | 方差 | F 值 | F _α | 显著性 |
|------|---------|-----|---------|---------|---------------------------|------------------|
| A | 0. 0522 | 2 | 0. 0261 | 87. 00 | $F_{0.05}(2, 2) = 19. 00$ | $\alpha = 0. 05$ |
| B | 0. 1664 | 2 | 0. 0832 | 277. 33 | $F_{0.01}(2, 2) = 99. 00$ | $\alpha = 0. 01$ |
| C | 0. 0011 | 2 | 0. 0011 | 3. 67 | | |
| 误差 | 0. 0006 | 2 | 0. 0003 | | | |
| 总和 | 0. 2203 | 8 | | | | |

由表 5 可知, 发酵条件对红曲米色价和色调影响因素的主次顺序均为 B (复合无机盐浓度) > A (菌株) > C (初始 pH 值), 其中复合无机盐浓度和菌株对红曲米色价和色调的影响明显大于初始

pH 值。由表 6 和表 7 结果表明, 复合无机盐浓度对红曲米色价和色调的影响均达到极显著水平 ($\alpha = 0. 01$)。不同红曲霉菌株对红曲米色价和色调的影响均达到显著水平 ($\alpha = 0. 05$), 其中 116-R 和

116-L 培养的红曲色价和色调差距不大, 但明显优于 116 菌株。初始 pH 值对红曲米色价和色调的影响均无显著差异, 因此, 分析得出最佳组合为 A₃B₂C₁, 与试验 8 号一致, 即 116-R 菌株、复合无机盐浓度 0.2%、初始 pH 值 5.8。

3 小 结

在浸米水中加入定量的醋酸可以在色价小幅下降的情况下, 使红曲的橙黄色调的组分增加, 改善产品的色调; 在红曲培养中定量加入复合无机盐可大幅提高产品色价, 改善产品的色调; 在红曲米培养期内, 产品的色价呈逐步上升趋势, 黄红比的数值在培养 7~13 d 内呈先缓慢上升后略有下降的过程。通过正交试验得出最佳培养条件为 116-R 菌

株、复合无机盐浓度 0.2%、初始 pH 值 5.8。

参考文献:

[1] 赵燕, 温辉梁, 胡晓波. 红曲色素及其在食品工业中的应用 [J]. 中国食品添加剂, 2004 (4): 90-93.

[2] 许贇荣, 顾玉梅, 吴苗叶, 等. 红曲色素的色调及发酵工艺条件对色调的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2002, 28 (7): 10-14.

[3] 梁智嫦. 不同碳源对红曲霉发酵色价及色调的影响 [J]. 湖南食品, 1998 (5): 13-14.

[4] 中国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB4926-2008 食品添加剂红曲米 (粉) [S]. 北京: 中国标准出版社, 2009: 2-3.

(责任编辑: 翁志辉)