红曲黄色素在不同食品体系中的应用与探讨

徐菲菲[1]，徐海笑[1]，陈茂深[1]，李 玥[1]，梁 蓉[2]，刘 欢[3]，钟 芳[*1]
(1. 江南大学 食品学院，江苏 无锡 214122；2. 江南大学 化学与材料工程学院，江苏 无锡 214122；3. 食品科学与技术国家重点实验室，南昌大学，江西 南昌 330047)

摘要：将红曲黄色素油树脂以直接添加或制成微胶囊粉末添加到不同食品体系(液体、半固体和固体)中，采用分光测色仪考察颜色变化，分析其在不同食品体系中的稳定性，进一步对其变色的原因及机理进行探讨。结果表明，在软饮料体系中添加红曲黄色素能保持产品鲜艳的黄色，但在黄油曲奇饼干和卡仕达酱中，红曲黄色素的添加会使产品颜色变红，其中微胶囊在卡仕达酱中对色素的色调具有一定的保护作用。红曲黄色素(未知色素组分，非红曲素)能够与食品中未解离的氨基反应生成红色色素，从而导致其颜色色调变红。

关键词：红曲黄色素；结构表征；颜色稳定性；变色机制
中图分类号：TS 202.3　**文章编号**：1673-1689(2020)10-0056-09　**DOI**：10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.10.008

Application and Discussion of *Monascus* Yellow Pigment in Different Food Systems

XU Feifei[1], *XU Haixiao*[1], *CHEN Maoshen*[1], *LI Yue*[1], *LIANG Rong*[2], *LIU Huan*[3], *ZHONG Fang*[*1]
(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: *Monascus* yellow pigment oleoresin was applied in different food systems (liquid, semi-solid and solid) by either direct addition or encapsulated in powder. The color changes of *Monascus* yellow pigment oleoresinin various foods were investigated by spectrophotometer and the color stability was thus analyzed. Furthermore, the causes and mechanism of discoloration were discussed. The pigment could maintain bright yellow color in soft drink. When it was added into butter cookie and custard, a red tone was observed. The microcapsulated pigment effectively protected the color tone in custard. The unknown components in *Monascus* yellow pigment besides the *Monascin* pigments could react with unionized amino groups in food, which consequently produce red pigment and subsequently turn the color tone to red.

Keywords: *Monascus* yellow pigment, characterization, color stability, discoloration mechanism

收稿日期：2019-08-28
基金项目：国家 863 计划项目(2016YFD0400802)；国家自然科学基金项目(31571891)。
* **通信作者**：钟 芳(1972—)，女，博士，教授，博士研究生导师，主要从事食品物性、食品胶体研究。E-mail：fzhong@jiangnan.edu.cn

黄色素作为食用色素的重要品种之一,可以应用在糕点、冰淇淋、糖果、饮料、肉制品、乳制品、方便面等食品中。随着食品工业的发展,市场对黄色素的需求越来越大。国内批准允许使用的人工合成黄色素仅有柠檬黄和日落黄,其应用范围和用量严格受限[1-2]。植物来源的天然黄色素,例如栀子黄、姜黄素、红花黄、叶黄素、沙棘黄色素等因在原料中含量低、生产成本较高[3-7],而利用微生物发酵可大规模工业化生产天然色素[8]。

红曲色素是经红曲霉菌固态或液态发酵得到的聚酮类次级代谢产物[9-12],在我国作为食用色素和药品使用已有千年历史[13]。红曲色素已经实现了大规模工业化生产,技术成熟,价格便宜。红曲色素是红曲红色素、红曲橙色素和红曲黄色素的混合物,在红曲色素产品中红色素为主要成分,橙色素和黄色素则较少[10]。

天然红曲黄色素是红曲霉菌的代谢产物,与之结构类似的红曲红色素已实现大规模工业化生产。但市场上对黄色素的需求占比为60%[14],红曲黄色素具有较大的开发利用潜力。Gouveia等[15]将小球藻生物质作为绿色素添加至传统黄油曲奇饼干中,利用CIELab方法对饼干颜色进行定量,考察了小球藻生物质作为绿色素的应用效果和稳定性。Cai等[16]将甜菜红素添加至酸奶中,并以色度计算色素在储藏过程中的保留率。Cakmakci等[17]等人将胡萝卜汁添加至酸奶中,以酸奶的L^*、a^*、b^*值变化作为酸奶感官属性的重要参考。余立意等[18]将柠檬黄和日落黄添加至普通水体系以及含乳体系中,通过测定L^*、a^*、b^*值,并于与β-胡萝卜素对比,考察色素在不同体系中的褪色速率。

目前没有将天然红曲黄色素应用于食品的报道,所以红曲黄色素在食品体系中的呈色效果未知。将红曲黄色素油树脂添加至软饮料、卡仕达酱和黄油曲奇饼干中,考察红曲黄色素在不同食品体系(液体食品、半固体和固体产品)中的应用效果,并探讨食品中色素颜色变化的机制,从应用角度探究影响红曲黄色素稳定性的因素,为其在食品工业中进一步应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与设备

红曲黄色素油树脂:实验室自制[19];无水乙醇、柠檬酸、二水合柠檬酸三钠、氢氧化钠(粒状)、盐酸、甘氨酸、DL-丙氨酸、L-缬氨酸、L-亮氨酸、L-异亮氨酸、L-苯丙氨酸、L-脯氨酸、L-色氨酸、L-丝氨酸、L-酪氨酸、L-半胱氨酸、L-甲硫氨酸、L-天冬氨酸、L-谷氨酸、L-苏氨酸、L-天冬酰胺、L-谷氨酰胺、L-赖氨酸、L-精氨酸和L-组氨酸、酪蛋白酸钠、正丁胺、邻苯二胺、色谱级甲醇:国药集团化学试剂有限公司产品;乳清蛋白:市售;OSA变性淀粉(Capsul TA):宜瑞安中国食品配料有限公司产品。

UltraScan Pro1166型高精度分光测色仪:美国Hunterlab公司产品;A560型分光光度计:翱艺仪器(上海)有限公司产品;AL204型电子天平、ME3002E型电子天平、EL20型pH计:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产品;SP-1500实验型喷雾干燥机:上海顺仪实验设备有限公司产品;M-110EHI型微射流纳米均质机:美国MFIC公司产品;T18型高速分散机:德国IKA公司产品;SK2-621型烤箱:新麦机械(无锡)有限公司产品;1525半制备型液相色谱:美国Waters公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 水溶性红曲黄色素油树脂微胶囊粉末的制备 称取30 g OSA变性淀粉(CAPSUL TA),加70 g去离子水溶解。将获得的OSA变性淀粉溶液于65 ℃水浴加热30 min进行糊化,糊化后冷却至室温。称取10 g红曲黄色素油树脂加入OSA变性淀粉溶液,使用高速分散机10 000 r/min均质5 min,进行3次,制得粗乳液。随后使用微射流纳米均质机进行均质,条件为50 MPa,4个循环周期。将均质好的色素-OSA变性淀粉乳液进行喷雾干燥,条件为进风温度180 ℃、出风温度80 ℃。最终获得的红曲黄色素微胶囊产品为黄色粉末,测定其包埋得率为89.86%,包埋效率为95.37%,微胶囊化的效果较好。

1.2.2 红曲黄色素在软饮料中的应用 将制备的红曲黄色素微胶囊粉末添加至软饮料模型中,考察其在液体食品中的应用效果。软饮料模型参考Duangmal等[20]所采用的配方:100 mL饮料中含10 g白砂糖,0.5 g的柠檬酸和适量色素。将红曲黄色素微胶囊粉末添加至软饮料中,添加量分别为质量分数0.02%、0.04%、0.06%、0.08%、0.10%和0.12%。配制好的饮料用1 mol/L的氢氧化钠溶液调节pH至3.5,85 ℃加热20 min进行巴氏灭菌,避光静置24 h。采用测色仪以全透射模式对饮料颜色进行测定。

1.2.3 红曲黄色素在卡仕达酱中的应用 按表 1 的配方进行制作卡仕达酱，称取 200 g 牛奶加入锅中，将一定量的玉米淀粉、白砂糖、即溶吉士粉、香草香精和色素(添加量均为 250 U)，搅拌均匀，然后小火加热，边加热边搅拌直至浓稠细滑的状态，关火并将锅放入冷水中快速冷却。将红曲黄色素油树脂加入牛奶中，高速分散均质后形成粗乳液，最后加入卡仕达酱原料中，采用测色仪以全反射模式检测颜色变化。

表 1 卡仕达酱的配方

Table 1 Recipe of custard

原料	质量/g
牛奶	200
玉米淀粉	17.4
白砂糖	24
吉士粉	8
香草香精	0.6

1.2.4 红曲黄色素在黄油曲奇饼干中的应用 黄油曲奇饼干是一种常见的以油脂和面粉为主要原料的食品，而红曲黄色素为油溶性色素，故可直接将红曲黄色素油树脂添加至黄油饼干中，考察红曲黄色素在高温烘焙类产品中的应用效果。

按表 2 的配方制作饼干。称取 100 g 黄油，隔水加热至黄油软化；加入低筋粉、白砂糖、奶粉、蛋黄和牛奶，先用铲刀拌匀，然后捏成面团。将色素(用大豆油稀释 10 倍)加入面团中，添加量分别为质量分数 0.10%、0.15%、0.20%、0.25%、0.50%、1.0%和 2.0%。将红曲黄色素油树脂和微胶囊粉末添加至面团，红曲黄色素油树脂添加量为质量分数 0.25%，微胶囊粉末添加量保持与油树脂总色价相同。将揉至均匀的面团擀成厚度均一的面皮，用模具压制成型，每份饼干直径为 3 cm，厚度 3 mm。烘烤条件为上下温度均为 170 ℃，烘烤时间为 10 min。用测色仪以全反射模式检测面团和烘烤后饼干的颜色。

表 2 黄油曲奇饼干的配方

Table 2 Recipe of butter cookie

原料	质量/g
低筋粉	180
白砂糖	80
黄油	100
奶粉	20
蛋黄	20
牛奶	10

1.2.5 蛋白质对红曲黄色素颜色水分散溶液颜色的影响 将酪蛋白酸钠和乳清蛋白加入去离子水中，制成不同质量浓度的蛋白质溶液，分别为 0.75、1.5、3.0、4.5、6.0 g/dL。取一定量的红曲黄色素油树脂乙醇溶液滴入至配制好的蛋白质溶液中，混匀，室温下避光静置 24 h 后，用测色仪以全透射模式测定颜色。

1.2.6 不同种类的氨基酸对红曲黄色素水分散溶液颜色的影响 分别准确称取一定量甘氨酸、DL-丙氨酸、L-缬氨酸、L-亮氨酸、L-异亮氨酸、L-苯丙氨酸、L-脯氨酸、L-色氨酸、L-丝氨酸、L-酪氨酸、L-半胱氨酸、L-甲硫氨酸、L-天冬氨酸、L-谷氨酸、L-苏氨酸、L-天冬酰胺、L-谷氨酰胺、L-赖氨酸、L-精氨酸和 L-组氨酸，用去离子水溶解并定容，浓度为 0.01 mol/L。用以上配制好的氨基酸溶液将一定体积的红曲黄色素油树脂乙醇溶液稀释至合适倍数。

1.2.7 未解离的氨基对红曲黄色素水分散溶液颜色的影响 将红曲黄色素-赖氨酸水分散溶液分别用 0.05 mol/L 甘氨酸-盐酸缓冲溶液和 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲溶液调节 pH 值。将红曲黄色素水分散溶液的 pH 值调节至酸性 (2.4、2.9、3.4、3.8、4.8 和 5.6)，再加入 L-赖氨酸；色素先与赖氨酸混合形成红曲黄色素-氨基酸混合水分散溶液，再使用缓冲溶液调节至酸性。将色素用 0.05 mol/L 的甘氨酸-氢氧化钠缓冲溶液稀释至合适倍数，制得碱性红曲黄色素水分散溶液，室温下避光静置 24 h 后观察颜色变化。

1.2.8 未解离的氨基对红曲黄色素乙醇溶液颜色的影响 取相同体积的红曲黄色素乙醇溶液并用无水乙醇稀释至相同倍数，分别添加不同浓度(0.001、0.004、0.01 mol/L)的正丁胺和邻苯二胺。色素溶液样品混合均匀后，室温下避光静置 24 h 后测定颜色，并在紫外-可见光分光光度计上在 300~600 nm 范围内对红曲黄色素乙醇溶液进行波长扫描。

1.2.9 与氨基混合变色的红曲黄色素组分的初步探究 采用制备液相色谱法制备红曲素，收集红曲素的后续洗脱液。用乙醇溶解红曲素，滴加至 6 g/dL 的乳清蛋白和酪蛋白酸钠溶液中，迅速混匀，室温下避光静置 24 h 后观察颜色变化。取后续含有其他红曲黄色素组分的液相流出液，真空旋转蒸发去除

流动相后用无水乙醇溶解,取 1 mL 乙醇溶液,加入 50 μL 正丁胺,混合均匀,室温下避光静置 24 h 后观察颜色变化。

1.2.10 *数据分析* 数据采用 OriginPro8.5 软件制图。方差分析(ANOVA)采用 SPSS 16.0 软件进行,Duncan 检验法进行显著性分析(P<0.05),处理后的数据表示形式为平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 红曲黄色素在不同食品体系中的应用效果

2.1.1 *红曲黄色素在软饮料模型中的应用效果* 市售果汁和汽水饮料主要为橙子、柠檬或热带水果风味,颜色多为柠檬黄、黄色或橙黄色。将红曲黄色素微胶囊粉末添加至软饮料模型中,考察不同质量分数的红曲黄色素的呈色效果,为红曲黄色素的应用及用量提供参考。

红曲黄色素在软饮料中呈现鲜明的黄色。添加了不同质量分数红曲黄色素软饮料的黄色色调不同。随着红曲黄色素添加量从质量分数 0.02%增加至 0.12%,软饮料的颜色从浅黄色逐渐加深至橙黄色。

从表 3 可以看出,随着红曲黄色素的添加量增加,L^* 值逐渐降低,即颜色的明度下降;色度值升高,表明其颜色越深;色相角降低,颜色向橙色方向转变。

表 3 不同色素质量分数的软饮料颜色参数

Table 3 Color parameters of soft drink with different concentration of pigment

质量分数/%	L^*	C	H
0.12	75.68±0.52^a	71.21±0.64^f	83.46±0.01^a
0.10	78.95±0.47^b	64.84±0.62^e	84.98±0.43^b
0.08	82.55±0.36^c	56.91±0.22^d	86.76±0.12$_c$
0.06	86.3±0.45^d	46.84±0.24^c	88.81±0.14^d
0.04	90.38±0.17^e	34.38±0.61^b	91.05±0.29^e
0.02	93.74±0.1^f	23.49±0.15^a	93.05±0.19^f

注:相同参数列中不同字母表示各样品存在显著性差异(P<0.05)。

进一步将色素的添加量(质量分数)与色相角的关系拟合,拟合方程为 y=−91.49x+94.44,R^2=0.996,线性关系良好(见图 1),说明红曲黄色素与 β-胡萝卜素[21]类似,可通过控制色素的添加量以达到不同色调的黄色。

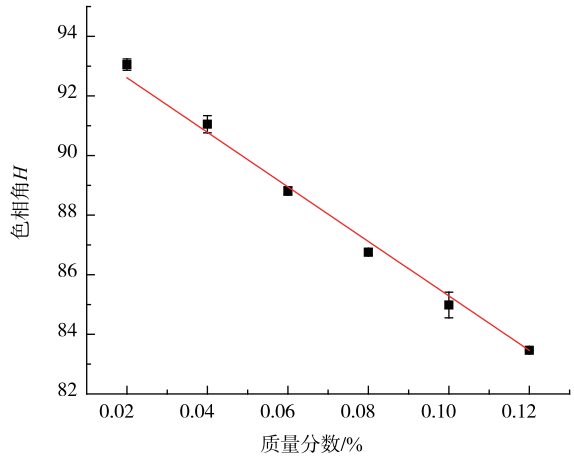


图 1 色素质量分数与软饮料颜色的色相角的关系

Fig. 1 Correlation between pigment content and hue angle of soft drink

2.1.2 *红曲黄色素在卡仕达酱中的应用效果* 将红曲黄色素添加至卡仕达酱中,颜色色调明显偏红,但添加了色素微胶囊粉末的卡仕达酱偏红程度弱于直接添加红曲黄色素油树脂的卡仕达酱。

由图 2 可知,添加了色素微胶囊粉末的卡仕达酱与添加红曲黄色素油树脂的卡仕达酱相比,a^* 值更低,b^* 值更高,表明微胶囊壁材对色素色调起到一定的保护作用。

2.1.3 *红曲黄色素在黄油曲奇饼干中的应用效果* 按不同的添加量(质量分数 0.25%、0.50%、1.0%、2.0%)直接将红曲黄色素油树脂添加至黄油曲奇饼干中,颜色色调明显偏红,偏红的程度随色素添加量的增加而增加。色素添加量越大,饼干颜色的 L^* 值越低,a^* 值越大,b^* 越小(见图 3 和表 4)。红曲黄色素未表现出黄色素的性质。

进一步比较直接添加方式与以微胶囊粉末添加的色素之间的区别,结果显示,L^*,a^*,b^* 值没有显著性差异,色差值 ΔE 为 0.77,表明两种色素添加方式的呈色效果基本一致。

实验结果表明,红曲黄色素在黄油曲奇饼干和卡仕达酱中不稳定,颜色色调会明显偏红。微胶囊在卡仕达酱中对红曲黄色素的色调有一定的保护作用,但在黄油曲奇饼干中没有保护作用。可能是微胶囊在饼干中易受到其他食品组分、加热及机械力作用而被破坏[22],导致色素溶出。

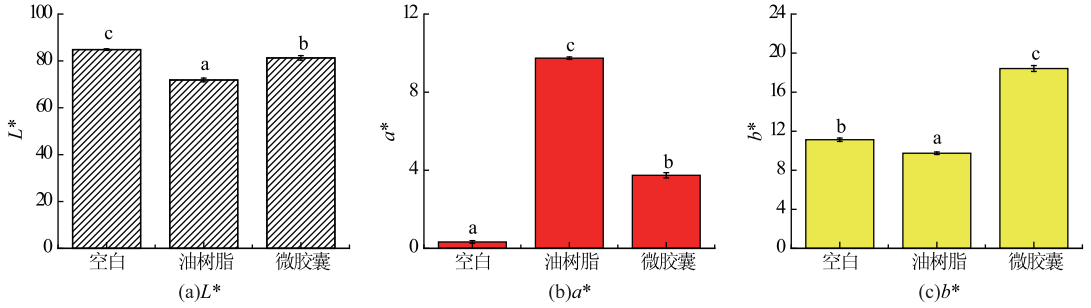


图 2　加入了红曲黄色素乳液和红曲黄色素微胶囊粉末卡仕达酱的颜色参数

Fig. 2　Color parameters of custard with *Monascus* yellow pigment emulsion and *Monascus* yellow pigment encapsulation powder

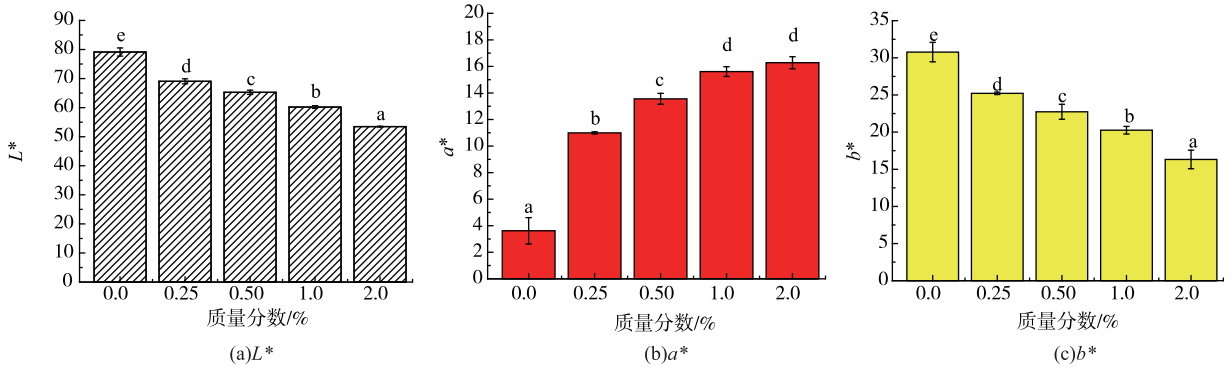


图 3　不同色素质量分数的黄油曲奇饼干颜色参数

Fig. 3　Color parameters of butter cookie with different pigment concentration

表 4　油树脂直接添加和色素微胶囊粉末添加的饼干的 L^*, a^* 和 b^* 值

Table 4　L^*, a^*, b^* of butter cookie with pigment added directly and in encapsulation

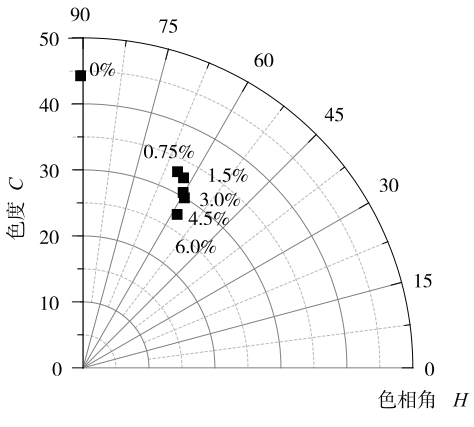
类别	L^*	a^*	b^*
空白	81.35±0.57^b	3.53±0.59^a	30.84±0.61^b
油树脂直接添加	74.31±0.64^a	9.59±0.33^b	27.10±0.49^a
微胶囊粉末添加	74.11±0.64^a	9.76±0.27^b	27.82±0.29^a

注：相同参数列中不同字母表示各样品存在显著性差异（$P<0.05$）。

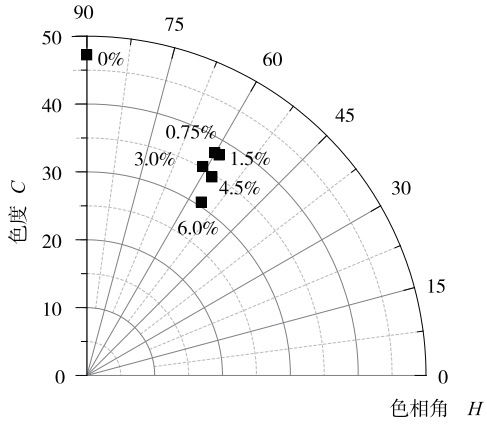
2.2　红曲黄色素在半固体、固体食品中颜色变红原因的分析

2.2.1　蛋白质对红曲黄色素颜色的影响　红曲黄色素在黄油曲奇饼干和卡仕达酱中出现不同程度的红色色调，推测色素与食品中的某种成分发生反应而变红。将制备的红曲黄色素粗乳液稀释后发现液体颜色为玫红色，而红曲黄色素与淀粉混合颜色不会变红，推测黄油曲奇饼干和卡仕达酱中的蛋白质可能是导致色素变色的原因。因此，将红曲黄色素与不同质量分数的乳清蛋白和酪蛋白酸钠混合，观察颜色变化。结果发现红曲黄色素与乳清蛋白和酪蛋白酸钠混合后均变红。

乳清蛋白和酪蛋白酸钠的色相角均从空白的90减小到60左右（见图4），验证了红曲黄色素颜色变红的原因是与蛋白质发生反应造成的。



(a)乳清蛋白



(b)酪蛋白酸钠

图 4 不同质量分数乳清蛋白和酪蛋白酸钠对红曲黄色素色度和色相角的影响

Fig. 4 Effect of whey protein and sodium caseinate on chroma and hue angle of *Monascus* pigment solution

2.2.2 氨基酸种类对红曲黄色素颜色的影响 蛋白质会使红曲黄色素变红,进一步推测可能与蛋白质中的氨基酸残基有关。L-异亮氨酸、L-谷氨酸、L-天冬氨酸使红曲黄色素颜色变浅,L-组氨酸、L-半胱氨酸、L-赖氨酸与L-精氨酸使红曲黄色素颜色变红,其中L-赖氨酸与L-精氨酸红色最鲜明。

由表5可以看出,L-异亮氨酸、L-谷氨酸、L-天冬氨酸会使红曲黄色素色度下降,而明度 L^* 与色相角变化不大,这与肉眼观察的黄色变浅的现象相符合。L-组氨酸、L-半胱氨酸、L-赖氨酸与L-精氨酸使天然红曲黄色素水分散溶液的 a^* 值从空白的3.12±0.45分别增加至7.18±0.14、14.56±1.50、25.9±0.16和30.36±0.12,b^* 值从空白的71.0±0.47减少到56.87±0.36、52.756±1.55、45.78±0.14和47.8±0.10,色相角分别是82.2±0.1、74.6±1.94、60.5±0.07和57.6±0.05,其中L-赖氨酸和L-精氨酸的色相角变化最大,其变化程度与红曲黄色素与乳清蛋白和酪蛋白酸钠混合后的色相角变化相一致,且由这两种氨基酸导致而发生的色相角较为接近,表明其偏红的程度一致。L-赖氨酸和L-精氨酸均为碱性氨基酸。其他氨基酸-红曲黄色素混合溶液的 L^*,色度和色相角变化不大,色差值 ΔE 最大为3.39,差异值较小。

表 5 红曲黄色素与氨基酸混合后的颜色参数

Table 5 Color parameters of *Monascus* yellow pigment when mixed with amino acids

类别	L^*	a^*	b^*	C	H	ΔE
空白	88.14±0.1^{efg}	3.07±0.33^{de}	71.44±0.79^{j}	71.06±0.49^{j}	87.48±0.35^{fgh}	/
L-异亮氨酸	89.52±0.13^{h}	2.16±0.14^{bc}	57.25±0.09^{e}	57.29±0.09^{e}	87.84±0.14^{gh}	14.29
L-亮氨酸	87.64±0.07^{efg}	4.12±0.02^{fg}	71.48±0.21^{j}	71.6±0.21^{j}	86.71±0.03^{fg}	1.16
甘氨酸	87.84±0.23^{efg}	4.04±0.33^{efg}	69.51±0.83^{ghi}	69.62±0.85^{ghi}	86.68±0.23^{f}	2.19
L-谷氨酸	90.29±0.2^{i}	−0.38±0.21^{a}	55.5±1.87^{d}	55.5±1.87^{cd}	90.4±0.23^{j}	16.45
L-谷氨酰胺	88.13±0.18^{efg}	3.17±0.09^{def}	70.97±0.05^{ij}	71.04±0.05^{ij}	87.45±0.07^{fgh}	0.49
L-半胱氨酸	83.78±0.46^{c}	14.56±1.5^{i}	52.76±1.55^{c}	54.74±1.09^{c}	74.55±1.94^{c}	22.37
L-赖氨酸	77.59±0.16^{b}	25.9±0.16^{j}	45.78±0.14^{a}	52.6±0.2^{b}	60.5±0.07^{b}	35.93
L-脯氨酸	87.78±0.02^{efg}	3.63±0.21^{efg}	71.88±0.57^{j}	71.97±0.58^{j}	87.11±0.14^{fgh}	0.8
L-色氨酸	87.41±0.24^{ef}	5.29±0.13^{g}	62.48±0.08^{f}	62.7±0.1^{f}	85.16±0.11^{e}	9.26
L-酪氨酸	87.64±0.04^{efg}	3.73±0.33^{efg}	70.76±0.45^{ij}	70.85±0.46^{ij}	86.98±0.24^{fgh}	1.08
DL-丙氨酸	88.38±0.32^{g}	2.29±0.38^{cd}	68.15±0.49^{g}	68.19±0.51^{g}	88.08±0.31^{hi}	3.39
L-缬氨酸	87.46±0.53^{ef}	3.68±0.36^{efg}	70.37±0.55^{hi}	70.47±0.57^{hij}	87.01±0.27^{fgh}	1.41
L-苯丙氨酸	87.4±0.62^{ef}	3.83±0.35^{efg}	68.9±0.18^{gh}	69.01±0.2^{gh}	86.82±0.28^{fg}	2.75
L-天冬氨酸	88.25±0.76^{fg}	−0.57±0.3^{a}	46.23±1.46^{a}	46.23±1.45^{a}	90.71±0.39^{j}	25.47
L-组氨酸	86.35±0.23^{d}	7.8±0.14^{h}	56.87±0.36^{de}	57.4±0.38^{e}	82.19±0.09^{d}	15.43
L-天冬酰胺	89.15±0.23^{h}	1.32±0.06^{b}	72.01±0.21^{j}	72.02±0.21^{j}	88.95±0.04^{i}	2.1
L-甲硫氨酸	87.31±0.05^{e}	4.3±0.47^{g}	70.54±0.21^{hij}	70.67±0.24^{ij}	86.52±0.37^{f}	1.74
L-精氨酸	75.61±0.17^{a}	30.36±0.12^{k}	47.81±0.1^{b}	56.63±0.15^{de}	57.59±0.05^{a}	38.21
L 丝氨酸	87.45±0.83^{ef}	3.48±0.32^{efg}	69.65±0.58^{ghi}	69.74±0.59^{ghi}	87.14±0.24^{fgh}	1.96
L-苏氨酸	87.44±0.18^{de}	3.59±0.02^{efg}	69.47±0.04^{ghi}	69.56±0.04^{ghi}	87.05±0.02^{fgh}	2.16

注:相同参数列中不同字母表示各样品存在显著性差异(P<0.05)。

2.2.3 未解离氨基对红曲黄色素水分散溶液颜色的影响 L-赖氨酸和L-精氨酸均为碱性氨基酸，其两者的pI值分别为9.74和10.76[23]，将其直接溶于去离子水中，氨基酸分子中的氨基均为未解离状态。因此，推测氨基酸的解离状态与红曲黄色素变红有关。为了探究氨基解离状态对红曲黄色素颜色的影响，选择甘氨酸-盐酸缓冲溶液和柠檬酸缓冲溶液来调节L-赖氨酸的解离状态。结果表明，色素与解离的L-赖氨酸混合不会变色；色素与未解离的L-赖氨酸混合变色后，将pH调节至酸性（即L-赖氨酸为解离状态），颜色保持不变，说明色素与L-赖氨酸的变色反应不可逆。

未解离的甘氨酸不会使红曲黄色素变红，而用氢氧化钠溶液将色素-甘氨酸水分散溶液调节至碱性（8.6、9.0和9.4），溶液呈红色，且不同pH下的色度和色相角差异不大（见表6和表7）。

用相同含量的氢氧化钠溶液调节pH值至碱性（11.0、11.5和11.8），溶液的色度降低，色相角减小，肉眼观察色素溶液颜色偏暗，但依然保持黄色，表明未解离的甘氨酸是导致色素颜色变红的原因。

表6 红曲黄色素在甘氨酸-氢氧化钠缓冲液的颜色参数

Table 6 Color parameters of *Monascus* yellow pigment in glycine-NaOH buffer

类别	L^*	C	H
空白	84.21±0.62^{b}	69.41±0.51^{c}	80.91±0.21^{c}
pH 8.6	73.16±0.73^{a}	58.57±0.72^{a}	57.16±0.81^{a}
pH 9.0	73.7±0.45^{a}	59.56±0.47^{ab}	57.58±0.57^{ab}
pH 9.4	74.56±0.04^{a}	60.2±0.32^{b}	58.27±0.23^{b}

注：相同参数列中不同字母表示各样品存在显著性差异（P<0.05）。

通过不同的缓冲溶液调整L-赖氨酸与甘氨酸的氨基解离状态，验证了氨基酸中氨基为未解离状态时，与红曲黄色素混合变红，且该变化不可逆。

表7 红曲黄色素在氢氧化钠溶液中的颜色参数

Table 7 Color parameters of *Monascus* yellow pigment in NaOH solution

类别	L^*	C	H
空白	84.72±0.45^{c}	75.83±0.12^{d}	82.99±0.14^{d}
pH 11.0	80.88±0.07^{ab}	54.77±0.26^{c}	73.09±0.26^{b}
pH 11.5	80.37±0.06^{a}	50.07±0.42^{b}	72.83±0.4^{a}
pH 11.8	81.16±0.14^{b}	48.91±0.19^{a}	74.02±0.24^{c}

注：相同参数列中不同字母表示各样品存在显著性差异（P<0.05）。

2.2.4 未解离氨基对红曲黄色素乙醇溶液颜色的影响 水相环境中，未解离的氨基酸会与红曲黄色素反应，颜色变红。进一步验证红曲黄色素与未解离的氨基反应变色，选择仅含氨基，且不含有其他特殊官能团的正丁胺和邻苯二胺与色素乙醇溶液混合，观察溶液颜色变化。在乙醇溶液中正丁胺与邻苯二胺同样能使红曲黄色素变红。与色素-赖氨酸水分散液相比，正丁胺-红曲黄色素乙醇溶液的颜色更红。其色相角为45，小于水分散溶液的色相角为60。可能原因是红曲黄色素在乙醇溶液中充分溶解，能够完全与未电离的氨基反应，生成更多的红色物质。而邻苯二胺-红曲黄色素溶液的色相角随邻苯二胺的浓度增加而减小，即颜色随邻苯二胺的浓度增加而更红。将邻苯二胺-红曲黄色素溶液放置48 h后，不同浓度的邻苯二胺-红曲黄色素溶液的颜色变得一致，且红色程度与正丁胺-红曲黄色素溶液相当。可能是因为邻苯二胺上的氨基与苯环连接，由于苯环的吸电子效应导致氨基的化学活性不如正丁胺的氨基，所以邻苯二胺与红曲黄色素反应生成红色物质的速度慢于正丁胺[24]。

根据红曲黄色素乙醇溶液的全波长扫描图（见图5），红曲黄色素与正丁胺和邻苯二胺混合后，410 nm处的吸收强度略有下降，表明黄色部分减少。同时在510 nm左右出现一个强吸收峰，而510 nm为红色素的特征吸收波长[25-26]，表明有新的红色色素生成。

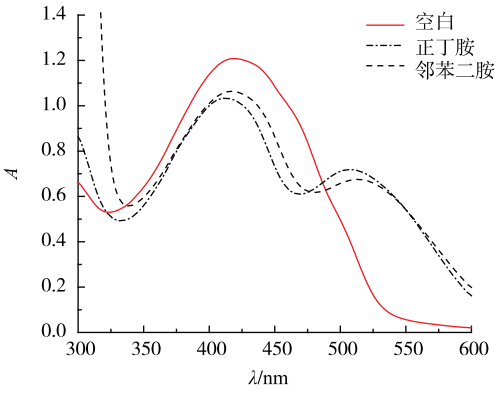


图5 正丁胺与邻苯二胺与红曲黄色素乙醇溶液的全波长扫描图

Fig. 5 UV-VIS scan of ethanolic *Monascus* yellow pigment solution mixed with *n*-butylamine and *o*-phenylene diamine

实验结果表明,蛋白质使红曲黄色素变色的原因是未解离的氨基基团与色素成分发生反应,生成红色物质。毛鹏[27]在优化红曲黄色素发酵条件时发现,蛋白胨、酵母浸膏等有机氮源会使发酵液变红,即 500 nm 左右的红色特征吸收峰增强,这可能是由于发酵液中的红曲黄色素组分直接与有机氮源中的氨基反应,生成了红色色素。

2.2.5 与氨基混合变色的红曲黄色素组分的探索

色素水分散溶液与蛋白质混合后颜色会明显变红,因此推测红曲素会与蛋白质混合后变色。为验证该推测,将红曲素分别与质量分数 6%的乳清蛋白和酪蛋白酸钠溶液混合。红曲素与乳清蛋白和酪氨酸钠混合后依然保持黄色,颜色没有变红。红曲素乙醇溶液加入正丁胺后颜色依然保持黄色,说明红曲黄色素与未解离氨基混合变色的组分不是红曲素(见图 6)。

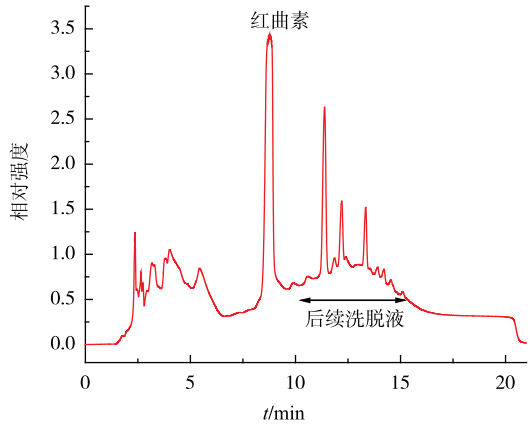


图 6 红曲黄色素制备液相色谱图

Fig. 6 HPLC spectrum of *Monascus* yellow pigment

进一步探究红曲黄色素变色的组分,收集制备高效液相中后续的色素组分流出液。将流动相去除后再以乙醇复溶,与正丁胺混合后颜色明显变红。对后续洗脱的红曲黄色素组分在分析型高效液相和液质联用上进行初步分析,发现色素组分种类较多且难以分离,由于时间限制,尚未对其进行进一步的研究。

3 结 语

将红曲色素应用于不同的食品体系,考察应用效果,并对红曲黄色素在食品中的变色原因进行了初步探究。研究发现,红曲黄色素在软饮料中保持鲜明的黄色,且可通过控制色素添加量实现不同色调的黄色;但红曲黄色素在卡仕达酱和黄油曲奇饼干中的颜色不稳定,出现颜色偏红的现象。红曲黄色素在黄油曲奇饼干和卡仕达酱中变红现象是由该体系中的蛋白质引起的。具体变红的机制为红曲黄色素组分与未解离的氨基反应,生成红色色素。红曲黄色素主要组分红曲素和蛋白质混合后颜色依然保持黄色,说明红曲素不是导致变红的色素组分。为了提高红曲黄色素的颜色稳定性,计划将红曲黄色素油树脂进行进一步精制和提纯,以去除能够和未解离氨基反应变红的色素组分。

参考文献:

[1] 李可欣,潘晓军,茅周祎. 饮料中柠檬黄色素的研究进展[J]. 饮料工业,2015,18(6):37-39.
[2] 张婉,王覃,杜宁,等. 超高效液相色谱法同时测定饮料中 5 种人工合成色素[J]. 食品科学,2011,32(4):177-180.
[3] 刘晓棠,赵伯涛,张玖,等. 栀子的综合开发与利用[J]. 中国野生植物资源,2008,27(1):19-23.
[4] 余美荣,蒋福升,丁志山. 姜黄素的研究进展[J]. 中草药,2009,40(5):828-831.
[5] 魏安池,代红丽,谷文英. 响应面分析法优化红花黄色素提取工艺条件[J]. 食品与机械,2006,22(2):11-13.
[6] 朱海霞,郑建仙. 叶黄素(Lutein)的结构、分布、物化性质及生理功能[J]. 中国食品添加剂,2005,(5):48-55.
[7] 车振明,刘宝琦,于艳琴. 沙棘黄天然色素的研究[J]. 食品工业科技,1995,(1):34-36.
[8] 王文风,袁兵兵,徐玲. 红曲的研究现状[J]. 发酵科技通讯,2014,43(1):39-44.
[9] CHEN G,WU Z Q. Production and biological activities of yellow pigments from Monascus fungi [J]. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**,2016,32(8):136.
[10] VENDRUSCOLO F,BUHLER R M M,de CARVALHO J C ,et al. Monascus:a reality on the production and application of microbial pigments[J]. **Applied Biochemistry and Biotechnology**,2016,178(2):211-223.

[11] MAPARI S A S, THRANE U, MEYERA S. Fungal polyketide azaphilone pigments as future natural food colorants?(Review)[J]. **Trends in Biotechnology**, 2010, 28(6): 300-307.
[12] 胡川, 杨建, 陈瑶, 等. 红曲色素组分及调控研究进展[J]. 中国调味品, 2016, 41(2): 143-146.
[13] 杨洋, 陈冬, 达文燕, 等. 红曲、红曲霉和红曲色素[J]. 生物学通报, 2017, 52(7): 1-3.
[14] 唐秋琳, 赵海, 戚天胜. 天然食用黄色素研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2006, (2): 68-73.
[15] GOUVEIA L, BATISTA A P, MIRANDA A, et al. Chlorella vulgaris biomass used as colouring source in traditional butter cookies[J]. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 2007, 8(3): 433-436.
[16] CAI Y, CORKE H. Amaranthus betacyanin pigments applied in model food systems [J]. **Journal of Food Science**, 1999, 64(5): 869-873.
[17] CAKMAKCI S, TAHMAS-KAHYAOGLU D, ERKAYA T, et al. β-Carotene contents and quality properties of set type yoghurt supplemented with carrot juice and sugar[J]. **Journal of Food Processing and Preservation**, 2014, 38(3): 1155-1163.
[18] 余立意, 薛玉清, 杨忻怡, 等. 柠檬黄、日落黄在含乳饮料中褪色分析及改进 [J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(8): 3197-3201.
[19] 徐海笑, 梁蓉, 徐菲菲, 等. 影响红曲黄色素稳定性的因素探究[J/OL]. (2019-03-20)[2019-08-28]. 中国科技论文在线, http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/201903-253.
[20] DUANGMAL K, SAICHEUA B, SUEEPRASAN S. Colour evaluation of freeze-dried roselle extract as a natural food colorant in a model system of a drink[J]. **Lwt–Food Science and Technology**, 2008, 41(8): 1437-1445.
[21] DELGADO-VARGAS F, JIMÉNEZ A R, PAREDES-LÓPEZ O. Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains-Characteristics, biosynthesis, processing and stability[J]. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2000, 40(3): 173-289.
[22] 吴克刚, 柴向华. 斥水微胶囊 DHA 在食品中的应用研究[J]. 食品工业科技, 2006, (3): 100-102.
[23] WEAST R C, ASTLE M J, BEYER W H. CRC handbook of chemistry and physics[M]. Boca Raton, FL: CRC press, 1988.
[24] 张文勤, 郑艳, 马宁, 等. 有机化学(第 5 版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2014.
[25] SILVEIRA S T, DAROIT D J, SANT'ANNA V, et al. Stability modeling of red pigments produced by Monascus purpureus in submerged cultivations with sugarcane bagasse[J]. **Food and Bioprocess Technology**, 2013, 6(4): 1007-1014.
[26] ZHANG X, WANG C, CHEN M, et al. Physical and chemical factors affecting the stability of monascus pigments and photocatalytic degradability of citrinin[J]. **Food Science**, 2013, 34(15): 17-21.
[27] 毛鹏, 张薄博, 许赣荣. 碳、氮源对红曲黄色素色价和色调值的影响[J]. 食品工业科技, 2015, 36(15): 165-168.

科　技　信　息

欧盟评估芸苔型和甘蓝型菜籽粉作为新型食品的安全性

2020 年 7 月 30 日, 据欧盟食品安全局(EFSA)消息, 欧盟营养、新型食品和食物过敏原(NDA)研究小组就芸苔型和甘蓝型菜籽粉(rapeseed powder from Brassica rapa L. and Brassica napus L.)作为新型食品的安全性发表科学意见。

经过评估, 专家小组得出结论, 在建议的使用条件下, 芸苔型和甘蓝型菜籽粉作为新型食品是安全的。

[信息来源] 食品伙伴网. 加拿大批准在多种食品中使用甜菊糖苷 [EB/OL]. (2020-07-30). http://news.foodmate.net/2020/07/567872.html