

超声辅助法优化提取红曲红、红曲黄色素

张 婵^{1,2}, 杨 强¹, 张桦林¹, 王成涛^{*1,2}

(1. 北京工商大学 北京市食品添加剂工程技术研究中心, 北京 100048; 2. 北京市食品风味化学重点实验室, 北京 100048)

摘要: 研究了超声辅助法提取红曲霉菌体中的红曲红、红曲黄两种红曲色素的影响因素, 在单因素的实验基础上, 利用响应面法优化了红曲色素的提取工艺参数, 建立了二次回归模型, 得到提取工艺的最佳条件。结果表明, 乙醇浓度、料液比、超声功率 3 个因素对红曲色素的提取有显著影响, 在乙醇体积分数 76.30%, 液料比 34.44:1, 超声功率为 304.84 W 条件下, 提取液中红色素组分色价高达 5 679.4 U/g, 黄色素组分色价高达 4 633 U/g, 与国标法提取红曲色素相比, 提取率分别提高了 6.5% 和 8.9%。

关键词: 红曲色素; 超声波; 单因素实验; 响应面法

中图分类号: TS 202.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2014)08—0805—09

Optimization for Ultrasonic-Assisted on Extraction of *Monascus* Red Pigment and Yellow Pigments

ZHANG Chan^{1,2}, YANG Qiang¹, ZHANG Hualin¹, WANG Chengtao^{*1,2}

(1. Beijing Engineering and Technology Research Center of Food Additives, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China; 2. Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing 100048, China)

Abstract: Extraction of *Monascus* pigments in mycelia by ultrasonic-assisted technology, on the basis of single factor experiments, using response surface method optimizes the extraction of red pigment process parameters. A quadratic regression model was established, and the optimum extraction conditions were obtained. The results showed that ethanol concentration, solid-liquid ratio, ultrasonic wave power of these three factors on the extraction of red pigment had a significant influence, ethanol concentration 76.30%, solid-liquid ratio 34.44:1, ultrasonic wave power 304.84 W. Under the optimum conditions, the red pigment concentration of the extract reached the maximum 5 679.4 U/g, the yellow pigment was as high as 4 633 U/g. With the national standard compared to red pigment extraction, the extraction rate increased by 6.5% and 8.9%.

Keywords: *Monascus* pigments, ultrasonic, single factor experiments, response surface method

收稿日期: 2014-02-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(31301411); 北京市教育委员会科技计划面上项目(0142132014)。

作者简介: 张 婵(1984—), 女, 山东烟台人, 理学博士, 讲师, 主要从事食品生物技术方面的研究。E-mail: zhangchan@th.btbu.edu.cn

* 通信作者: 王成涛(1969—), 男, 山东巨野人, 工学博士, 教授, 主要从事食品生物技术方面的研究。E-mail: wct5566@163.com

红曲霉(*Monascus*)的应用在我国可追溯上千年之久,其主要用于生产红曲^[1]。红曲具有极好的营养保健作用和研究价值,作为我国传统的药食两用产品,药用功效在《天工开物》、《本草纲目》中已有记载^[2-3],发展至今广泛被人们利用。红曲色素作为一种微生物发酵生产的天然色素^[4],与受到严格使用限制的工业合成色素相比,具有更广阔的应用前景。目前对于传统提取红曲色素主要应用乙醇浸提法^[5]。近年随着对天然色素提取研究的不断深入,大孔吸附树脂法、微波辅助提取法、超临界 CO₂ 萃取法等^[6-9]等新型提取方法不断开发。超声波提取作为一种物理方法,具有提取时间短、效率高、纯度高、对有效成分结构破坏小等优点,被逐渐应用到各种天然色素的提取中^[10-12]。作者将超声波技术应用于红曲霉液体发酵色素的提取,系统研究了溶剂浓度、超声时间、料液比、超声温度、超声频率和超声功率等方面对提取红曲菌体色素的影响,采用响应面方法优化了红曲色素提取条件,为红曲色素的开发应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

红曲霉 F9.2:作者所在实验室分离筛选、保存,液态发酵制得菌体粉末。大米粉:北京超市购买后粉碎(100 目过筛);豆粕粉、玉米浆:生物制剂;葡萄糖、蛋白胨、磷酸二氢钾、硝酸钠、硫酸镁、乳酸、无水乙醇:均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

JXD-02/03 多功能超声波反应槽:北京金星超声波设备技术有限公司;HZQ-F160 全温振荡培养箱:太仓市试验设备厂;UV-2450 紫外可见分光光度计:日本岛津;恒温水浴锅:山东华鲁电热仪器有限公司;PHS-3D 型 pH 计:上海三信仪表厂。

1.3 红曲霉菌体发酵色价检测

胞内色素色价的测定方法:所得沉淀用体积分数为 70%的乙醇(200 mL/g,即每 0.050 g 菌体加 10 mL 乙醇),60 ℃浸提 120 min,然后 4 000 r/min 离心 10 min,上清液过滤并稀释适当倍数(20 000 倍),以 70%乙醇溶液作空白对照,用 1 cm 比色皿分别在波长 410 nm 和 505 nm 处测定光吸收值(A),吸光度值乘以发酵液的稀释倍数,即得到胞内色价 U/g。胞内色素色价(U/g)=吸光度×稀释倍数。

胞内色素总色素色价测定:将干燥菌体用体积分数为 70%的乙醇(100 mL/g,即取 1.000 g 干燥菌体加 100 mL 乙醇)于 60 ℃浸提。每隔 1 h 更换溶剂,直到溶剂澄清透明不再有颜色。

1.4 因素条件对红曲色素提取效果的影响

1.4.1 液料比对红曲色素提取效果的影响 取 0.050 g 干菌丝体粉末,分别以 5:1、10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1(mL/g)的液料比混合均匀。固定超声波功率为 320 W,超声频率 50 kHz,在 40 ℃下提取 30 min。用 70%乙醇定容到 10 mL,4 000 r/min 离心 10 min,再取上清液 0.1 mL 加入 9.9 mL 乙醇中,最后测 410 nm 和 505 nm 处的吸光值。吸光值乘以稀释倍数(20 000 倍),得到红、黄色素组分的色价。

1.4.2 乙醇体积分数对红曲色素提取效果的影响 分别采用体积分数 30%、40%、50%、60%、70%、80%的乙醇,分析乙醇体积分数对红曲色素提取效果的影响,具体测量方法同 1.4.1。

1.4.3 超声波频率对红曲色素提取效果的影响 分别以 0、28、50、75、90、135 kHz 的超声波频率处理,分析超声波频率对红曲色素提取效果的影响,测量方法同 1.4.1。

1.4.4 超声波功率对红曲色素提取效果的影响 将超声波功率分别设为 80、160、240、320、400、480、560 W,分析超声波功率对红曲色素提取效果的影响,测量方法同 1.4.1。

1.4.5 超声波作用时间对提取效果的影响 分别以 10、20、30、40、50、60、70 min 的超声波时间处理,分析超声波作用时间对红曲色素提取效果的影响,测量方法同 1.4.1。

1.4.6 温度对红曲色素提取效果的影响 分别将温度设成 30、40、50、60、70、80 ℃,分析温度对红曲色素提取效果的影响,测量方法同 1.4.1。

1.5 响应面优化提取条件

通过单因素试验确定影响较显著的试验因素与水平。利用软件 Design Expert 8.0.6 中的 Box-Behnken 中心组合设计,见表 1。对数据进行回归分析,拟合后得到二次多项回归模型^[13-14],并对此回归模型进行方差分析,绘制多元回归方程的响应面及其等高线。通过该组动态图对任意两因素之间交互影响的效应进行分析和评价,确定最佳水平范围,进而寻求最优超声辅助乙醇提取工艺条件^[15]。

表 1 响应面分析试验因素水平表

Table 1 Response surface analysis test level of form factors

因素	水平		
	-1	0	1
A:乙醇体积分数/%	60	70	80
B:液料比/(mL/g)	30	35	40
C:超声功率/W	240	320	400

2 结果与分析

2.1 红曲霉菌体色素的全波长扫描检测

称取红曲霉干燥菌体 1.0 g, 加入 100 mL 70% 乙醇作为提取溶剂, 60 °C 下浸提 120 min, 将提取液在 300~600 nm 范围内进行紫外可见光谱扫描, 结果见图 1。红曲色素的乙醇浸提液肉眼感官为红色, 但经紫外-可见全波长扫描发现, 在 410 nm 和 505 nm 分别有最大吸收^[10]。有资料显示, 红曲色素中主要含有红曲红、红曲黄两种色素组分, 该波长分别是两者的最大吸收波长, 乙醇浸提液的偏红色调组分比偏黄色调组分略多, 吸收光谱反映的是混合色素的吸收特性。因此, 选择乙醇水溶液为提取溶剂, 检测 410 nm 和 505 nm 的色价作为红曲红、红曲黄的组分指标。

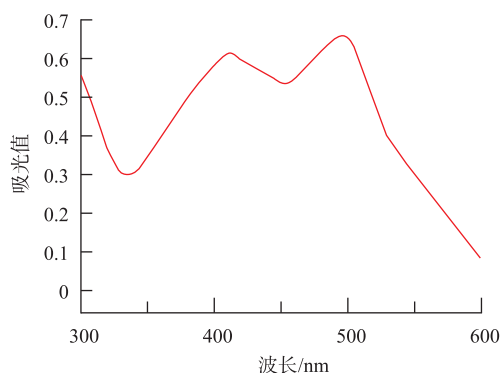


图 1 红曲色素乙醇提取液紫外可见光谱图

Fig. 1 Ethanol extract of red pigment UV-Vis spectra

2.2 红曲色素的合成曲线

液体摇瓶发酵 48 h 开始, 每隔 24 h 取 5 mL 发酵液, 检测 410 nm 和 505 nm 时吸收值, 计算色价。由图 2 可知, 红曲色素随着培养时间的延长, 红曲红、红曲黄组分的色价值均逐渐增加。发酵 5 d 后色素开始大量积累, 当培养到第 7 天时, 红色素色价达到 5 300 U/g, 黄色素色价达到 4 220 U/g。继续培

养到第 8 天后, 色价值无明显提高, 因此考虑到实际生产中的能耗问题选取第 7 天收集菌体。

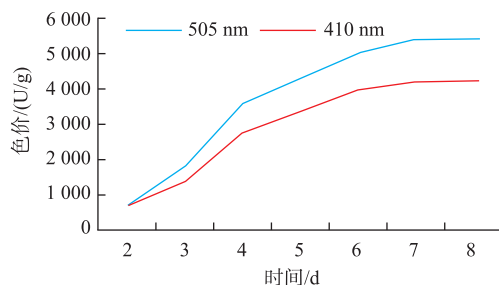


图 2 红曲色素的合成曲线

Fig. 2 Synthesis curves of *Monascus* pigments

2.3 因素条件对红曲色素提取效果的影响

2.3.1 料液比对红曲色素提取效果的影响 随着乙醇溶剂用量的增加, 提取液的红曲红、红曲黄的色价值逐渐增加, 见图 3。当液料比达到 35:1 时, 两种组分的色价值均达到最高水平; 进一步增大乙醇用量, 色价反而有所降低, 其原因可能是超声提取过程中, 乙醇用量太少会使菌体浸提不充分, 用量太多则会使菌体与乙醇溶剂混合不完全, 色素提取效率反而更差。

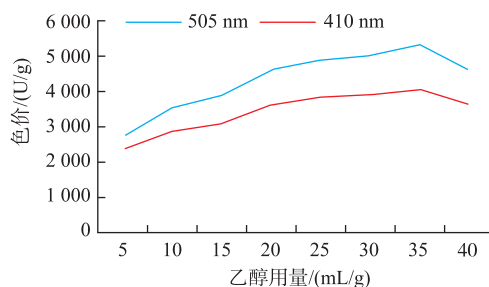


图 3 料液比对红曲色素提取效果的影响

Fig. 3 Influence of solid-liquid ratio on the extraction of *Monascus* pigment

2.3.2 乙醇体积分数对红曲色素提取效果的影响

图 4 显示, 随着乙醇体积分数的增大, 提取液的两组分的色价有明显提高, 说明醇溶性的红曲色素成分在乙醇中不断溶解。当乙醇体积分数达到 70% 时, 提取液的红曲红、红曲黄色素组分的色价值达到最高; 当乙醇体积分数高于 70%, 色价反而有所降低。原因可能是高体积分数的乙醇会导致菌体细胞膜的蛋白质变性, 从而影响浸提效果。考虑生产材料的节省, 所以选择体积分数为 70% 乙醇溶液进行浸提。

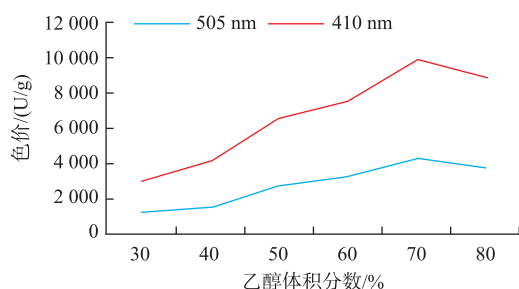


图4 乙醇体积分数对红曲色素提取效果的影响

Fig. 4 Influence of ethanol concentration on the extraction of *Monascus* pigment

2.3.3 超声频率对红曲色素提取效果的影响 图5中提取液红曲红、红曲黄组分的色价值在超声频率50 kHz时达到最大,随着超声频率的增加,色素提取液的色价逐渐降低。这可能是随着超声频率增加,超声波长在降低,对菌体细胞的破坏能力在降低,造成两类色素均未从菌体中释放。

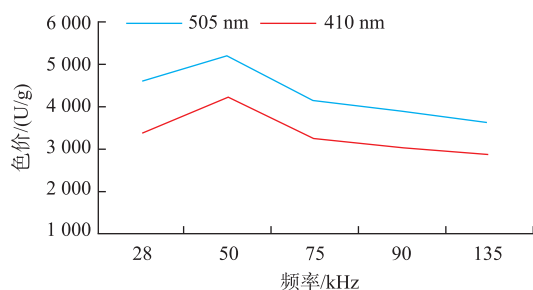


图5 超声频率对红曲色素提取效果的影响

Fig. 5 Influence of ultrasonic frequency on the extraction of *Monascus* pigment

2.3.4 超声功率对红曲色素提取效果的影响 由图6可以看出,随着超声功率的增大,红曲色素的色价逐渐增加;当超声功率为320 W时,红曲红、红曲黄色素组分的色价均达到顶峰,继续提高超声功率,色价反而有所下降。这可能是由于超声功率过高,超声波产生的空化作用破坏了红曲霉菌体的组织结构,体系中产生大量非色素颗粒,吸附了部分色素分子,这一部分在冷冻离心过程中被沉淀^[17],造成提取液色价降低。因此,320 W为最佳功率。

2.3.5 超声时间对红曲色素提取效果的影响 由图7可知,在超声作用时间为10~50 min时,随着超声时间的延长,提取液的红曲红、红曲黄组分色价均呈现上升趋势,当超声时间达到50 min时,色价达到一个较高的水平,继续延长提取时间,提取的色素色价并未提升。这可能是由于随着超声时间的延长,溶剂体系的渗透压已基本达到平衡,红曲色

素无法继续随着溶剂向胞外扩散,从而造成色价不再增加;红曲色素长时间处于高温下会造成色素不稳定,色价值下降。因此,认为超声作用时间50 min为宜。

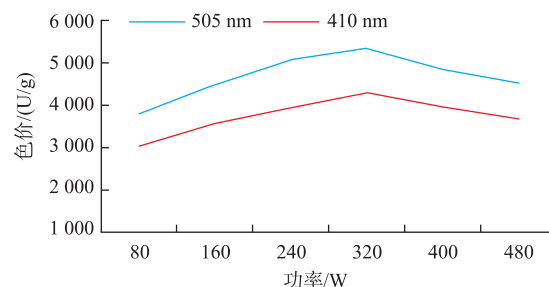


图6 超声功率对红曲色素提取的影响

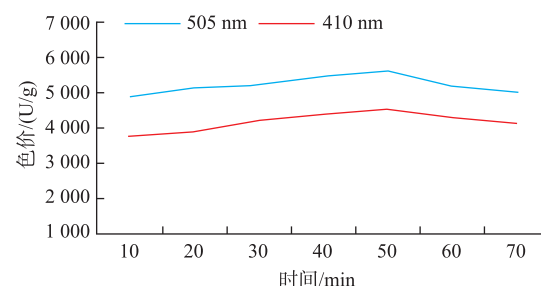
Fig. 6 Influence of ultrasonic power on the extraction of *Monascus* pigment

图7 超声时间对红曲色素提取的影响

Fig. 7 Influence of ultrasonic time on the extraction of *Monascus* pigment

2.3.6 超声温度对红曲色素提取效果的影响 在30~60 °C进行超声浸提,随着温度升高,提取液的红曲红、红曲黄组分色价均呈现平缓上升趋势,见图8。在40~70 °C的环境下,两种组分的提取效率基本保持稳定。由于超声波的热效应使得体系的温度更高,从红曲色素的热稳定性及节能降耗考虑,认为超声浸提温度以60 °C为宜。

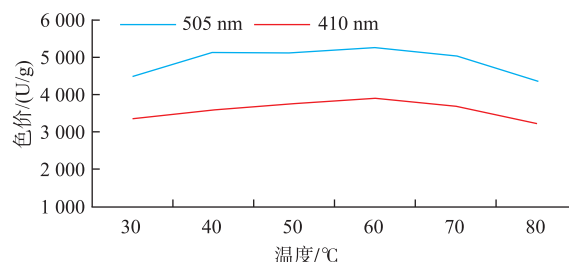


图8 超声温度对红曲色素提取的影响

Fig. 8 Influence of ultrasonic temperature on the extraction of *Monascus* pigment

2.4 响应面优化红曲红、红曲黄色素提取条件

2.4.1 响应面实验设计结果 根据 Design Expert 8.0.6 的中心组合试验设计原理和红曲色素提取单因素试验结果,选择对色素提取影响最为显著的 3 个因素,即乙醇体积分数(A)、料液比(B)和超声功率(C),分别以红曲色素 410 nm 和 505 nm 下的色价为响应值,设计响应面优化试验,见表 1。实验仪器为定频反应槽,故响应面不考虑超声频率为优化条件。利用软件中的 Box-Behnken 中心组合设计共

有 17 组组合试验,按各个组合进行试验并记录对应结果值,结果见表 2。

2.4.2 回归方程的方差分析 通过 Design Expert8.0 软件对表 3.2 的数据进行回归分析,拟合后得到 505 nm 下乙醇体积分数(A)、液料比(B)、超声功率(C)的二次多项回归模型为:505 nm 色价= $5\ 643.80 + 87.88A + 1.62B - 6.50C + 3.75AB - 13.50AC + 87.00BC - 71.53A^2 - 56.03B^2 - 65.28C^2$

对此回归模型进行方差分析,结果见表 3。

表 2 Design Expert 试验设计及结果

Table 2 Design and results of Design Expert Run

组合	A:乙醇体积分数/%	B:液料比/(mL/g)	C:超声功率/W	505 nm 色价/(U/g)		410 nm 色价/(U/g)	
				实际值	预测值	实际值	预测值
1	60.00	30.00	320.00	5 420.00	5 430.50	4 362.00	4 372.50
2	60.00	35.00	400.00	5 430.00	5 426.13	4 372.00	4 368.13
3	60.00	40.00	320.00	5 426.00	5 426.25	4 368.00	4 368.25
4	70.00	30.00	240.00	5 618.00	5 614.38	4 560.00	4 556.38
5	70.00	30.00	400.00	5 434.00	5 427.38	4 376.00	4 369.38
6	80.00	35.00	240.00	5 611.00	5 614.88	4 553.00	4 556.88
7	80.00	30.00	320.00	5 599.00	5 598.75	4 541.00	4 540.75
8	70.00	35.00	320.00	5 630.00	5 643.80	4 575.00	4 585.60
9	70.00	40.00	240.00	5 437.00	5 443.63	4 379.00	4 385.63
10	70.00	35.00	320.00	5 647.00	5 643.80	4 589.00	4 585.60
11	80.00	35.00	400.00	5 568.00	5 574.88	4 510.00	4 516.88
12	70.00	35.00	320.00	5 650.00	5 643.80	4 588.00	4 585.60
13	70.00	35.00	320.00	5 644.00	5 643.80	4 586.00	4 585.60
14	60.00	35.00	240.00	5 419.00	5 412.13	4 361.00	4 354.13
15	80.00	40.00	320.00	5 620.00	5 609.50	4 562.00	4 551.50
16	70.00	40.00	400.00	5 601.00	5 604.63	4 543.00	4 546.63
17	70.00	35.00	320.00	5 648.00	5 643.80	4 590.00	4 585.60

表 3 505 nm 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance for the calculated model 505 nm

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1.520×10 ⁵	9	16 889.65	165.11	<0.000 1	**
乙醇浓度 A	61 776.13	1	61 776.13	603.91	< 0.000 1	**
液料比 B	21.13	1	21.13	0.21	0.663 3	
超声波作用温度 C	338.00	1	338.00	3.30	0.111 9	
AB	56.25	1	56.25	0.55	0.482 5	
AC	729.00	1	729.00	7.13	0.032 0	*
BC	30 276.00	1	30 276.00	295.97	<0.000 1	**
A ²	21 540.32	1	21 540.32	210.58	<0.000 1	**
B ²	13 216.00	1	13 216.00	129.20	<0.000 1	**
C ²	17 940.32	1	17 940.32	175.38	<0.000 1	**
残差	716.05	7	102.29			
失拟项	459.25	3	153.08	2.38	0.210 0	
纯误差	256.80	4	64.20			
总和	1.527×10 ⁵	16				

注:F 值的大小表示影响因子的大小;* 显著(P<0.05),** 极其显著(P<0.001)

表 3 显示,该模型极显著($P=0.0001 < 0.01$);分析可知预测相关系数(Pred- R-Squared)0.949 3 与修正相关系数(Adj. R-square)0.989 3 数值相近,说明此模型可信度较高。当噪音值大于 4 时,说明响应面模型拟合度理想,而本试验中噪音比数值为 29.866,进一步说明此模型可操作性强,可用此模型对实验进行预测和分析。失拟项 $P=0.2100 > 0.05$,不显著。说明回归模型与试验数据拟合程度较高,试验误差小,可以用该模型来分析和预测超声辅助乙醇提取菌体中红曲色素的工艺结果。方差分析中的一次项 A 显著,二次项均极显著,交互项 BC 极显著,表明各影响因素对提取液色价的影响并不是简单的线性关系,而是符合曲线规律,如回归方程所示。3 个因素中对提取结果影响最大的为乙醇体积分数,其次为超声功率,影响程度最小的为液料比。

410 nm 下的二次多项回归模型为: $410 \text{ nm 色价} = 4585.60 + 87.88A + 1.62B - 6.50C + 3.75AB -$

$13.50AC + 87.00BC - 71.42A^2 - 55.92B^2 - 65.17C^2$ 。

结果见表 4 所示,该模型极显著 ($P=0.0001 < 0.01$);分析可知预测相关系数 (Pred- R-Squared) 0.950 3 与修正相关系数 (Adj. R-square) 0.990 9 数值相近,说明此模型可信度较高。当噪音值大于 4 时,说明响应面模型拟合度理想,而本试验中噪音比数值为 32.372,进一步说明此模型可操作性强,可用此模型对实验进行预测和分析。失拟项 $P=0.1031 > 0.05$,不显著。说明回归模型与试验数据拟合程度较高,试验误差小,可以用该模型来分析和预测超声辅助乙醇提取菌体中红曲色素的工艺结果。方差分析中的一次项 A 极显著,二次项均极显著,交互项 BC 极显著,表明各影响因素对提取液色价的影响并不是简单的线性关系,而是符合曲线规律,如回归方程所示。3 个因素中对提取结果影响最大的为乙醇体积分数,其次为超声功率,影响程度最小的为液料比。

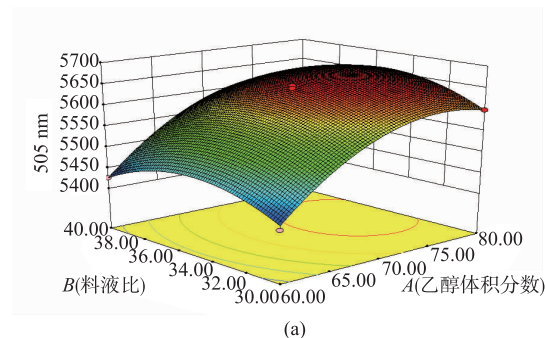
表 4 410 nm 回归模型方差分析

Table 4 Analysis of variance for the calculated model 410 nm

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值	显著性
Model	1.520×10 ⁵	9	16 869.51	194.08	<0.000 1	**
乙醇体积分数 A	61 776.13	1	61 776.13	710.71	<0.000 1	**
液料比 B	21.13	1	21.13	0.24	0.637 1	
超声波作用温度 C	338.00	1	338.00	3.89	0.089 2	
AB	56.25	1	56.25	0.65	0.447 6	
AC	729.00	1	729.00	8.39	0.023 1	*
BC	30 276.00	1	30 276.00	348.31	<0.000 1	**
A ²	21 480.13	1	21 480.13	247.12	<0.000 1	**
B ²	13 168.87	1	13 168.87	151.50	<0.000 1	**
C ²	17 885.39	1	17 885.39	205.77	<0.000 1	**
残差	608.45	7	86.92			
失拟项	459.25	3	153.08	4.10	0.103 1	
纯误差	149.20	4	37.30			
总和	1.524×10 ⁵	16				

注: F 值的大小表示影响因子的大小; * 显著 ($P < 0.05$), ** 极其显著 ($P < 0.001$)

2.4.3 响应面分析与优化 多元回归方程的响应面及其等高线见图 9~14。通过该组动态图即可对任意两因素之间交互影响的效应进行系统的分析和评价,并从中确定最佳水平范围。响应面是响应值对各试验因素所构成的三维空间曲面图,试验因素对试验结果影响越大,曲面越陡峭。等高线的形状可以反映两两因素之间交互作用的显著程度。圆形表示两因素交互作用不显著,而椭圆形则表示交互作用显著。



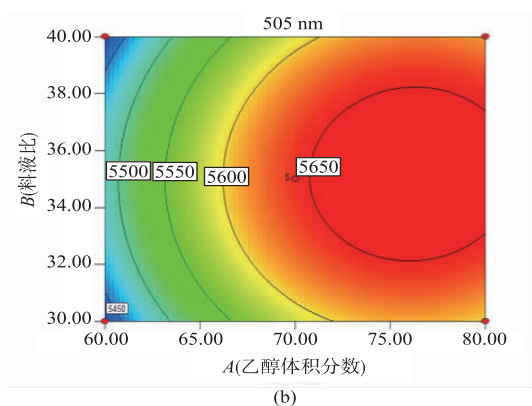


图 9 505 nm 处乙醇体积分数和料液比交互作用的响应面和等高线

Fig. 9 Contour plot and surface plot of effects of ethanol concentration and solid-liquid ratio to *Monascus* pigment at 505 nm

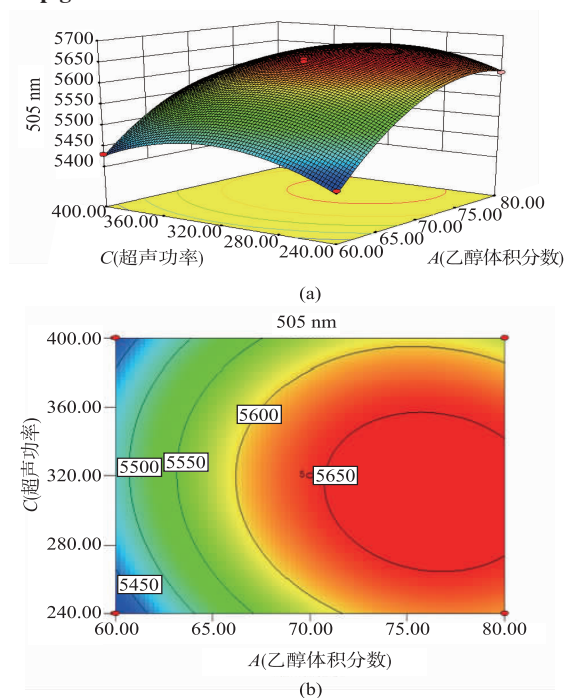


图 10 505 nm 处乙醇体积分数和超声功率交互作用的响应面和等高线图

Fig. 10 Contour plot and surface plot of effects of ethanol concentration and ultrasonic power to *Monascus* pigment at 505 nm

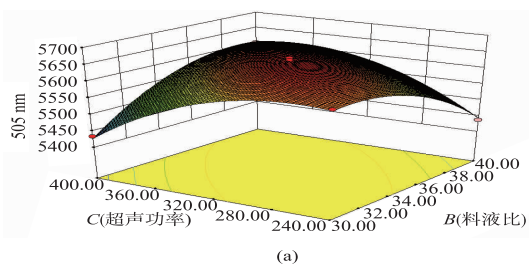


图 11 505 nm 处料液比和超声功率交互作用的响应面和等高线图

Fig. 11 Contour plot and surface plot of effects of solid-liquid ratio and ultrasonic power to *Monascus* pigment at 505 nm

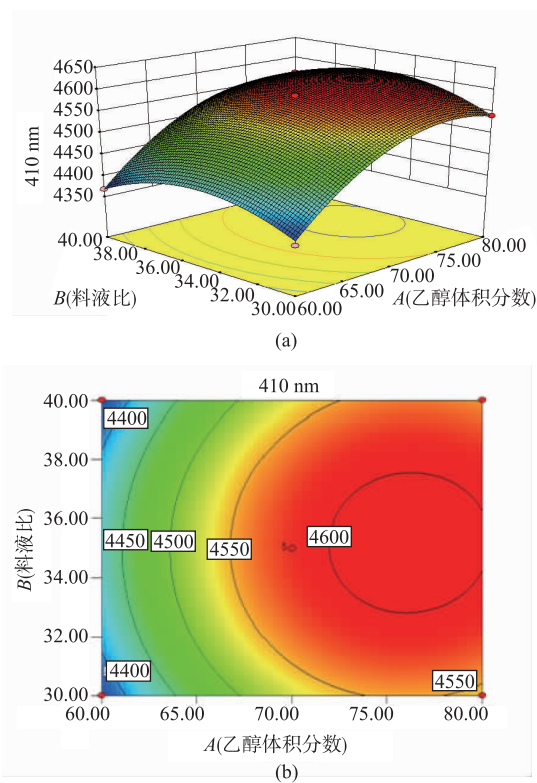


图 12 410 nm 处乙醇体积分数和料液比交互作用的响应面和等高线图

Fig. 12 Contour plot and surface plot of effects of ethanol concentration and solid-liquid ratio to *Monascus* pigment at 410 nm

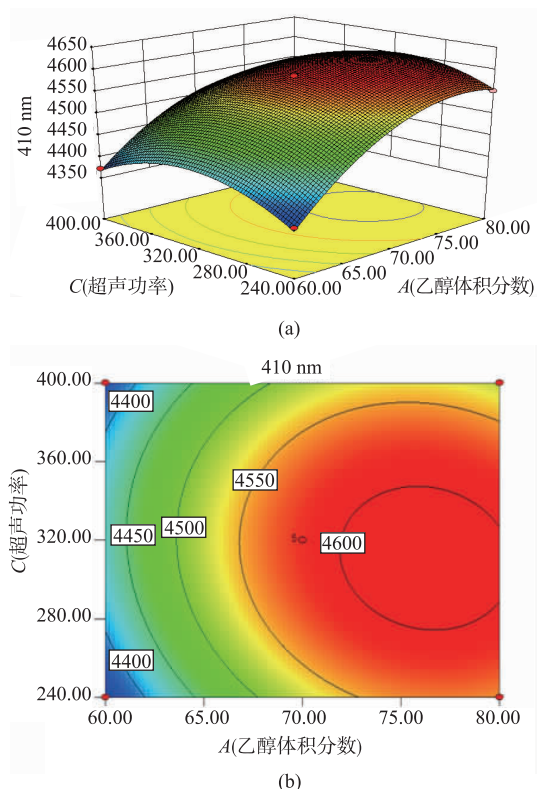


图 13 410 nm 处乙醇体积分数和超声功率交互作用的响应面和等高线图

Fig. 13 Contour plot and surface plot of effects of ethanol concentration and ultrasonic power to *Monascus* pigment at 410 nm

由各图的等高线可直观的看出,料液比与超声功率对提取液的色价有着显著的交互作用,乙醇体积分数与超声功率也有着显著的交互作用,而乙醇体积分数和液料比的交互作用的显著性较差。根据 Box-Behnken 试验所得的结果和二次多项回归方程,利用 Design Expert8.0 软件获得了提取液色价最高时各因素的最佳超声波提取条件:乙醇体积分数 76.30%,液料比 34.44:1,超声功率为 304.84 W。在此优化条件下,提取液的色价理论值为 5 671.97 U/g (505 nm)、4613.81 U/g (410 nm)。考虑到超声辅助乙醇提取菌体中色素实际操作的情况,在乙醇体积分数 76%,液料比 34:1,超声功率为 305 W 的条件下,进行重复 5 次的验证试验。试验结果 505 nm 下分别为 5 678、5 675、5 679、5 681、5 684 U/g,最终验证试验的结果为 5 679.4 U/g,与理论预测值误差仅 0.131%;410 nm 下为 4 635、4 633、4 630、4 638、4 629 U/g,最终验证试验的结果为 4 633 U/g,与理论预测值误差仅 0.416%。这说明采用响应面法得到

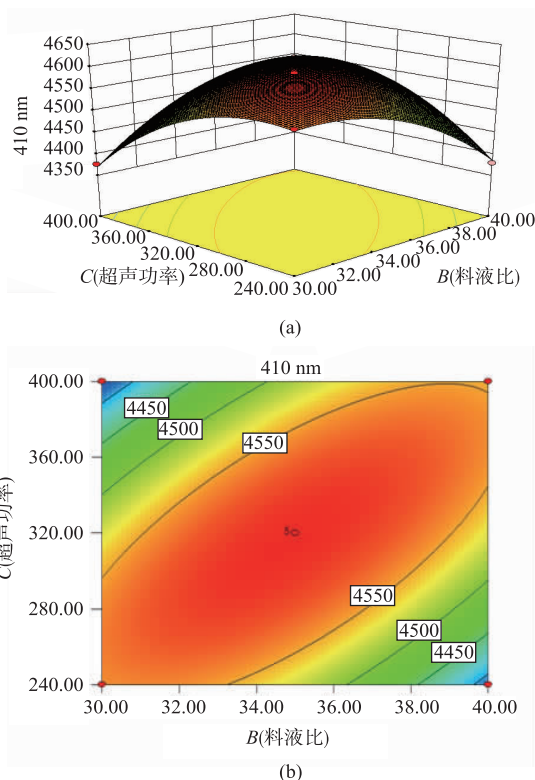


图 14 料液比和超声波作用温度对红曲黄色素色价影响的响应面和等高线图

Fig. 14 Contour plot and surface plot of effects of solid-liquid ratio and ultrasonic power to *Monascus* pigment at 410 nm

的工艺参数较为可信,且与国标法提取红曲色素的色价值相比,提取率分别提高了 6.5% (505 nm) 和 8.9% (410 nm)。这明显说明采用超声辅助乙醇提取菌体中红曲色素不仅大大缩短了提取时间,并且色素提取率也得到明显提升,因此优化后的超声辅助乙醇提取菌体中红曲色素的方法具有一定的可操作性与工业应用价值。

3 结 语

研究了料液比、乙醇浓度、超声功率、超声频率、超声温度、超声时间等因素条件对红曲霉菌体的红曲色素提取效率的影响。通过单因素条件和响应面分析后的优化条件是:在超声频率 50 kHz、超声温度 60 ℃、超声时间 50 min、乙醇体积分数 76.30%、液料比 34.44:1、超声功率为 304.84 W,在此提取条件下,提取液中红曲红组色价为 5 679.4 U/g,红曲黄色价为 4 633 U/g,与国标法提取红曲色素相比,提取率分别提高了 6.5% 和 8.9%。试验研究

表明,超声辅助乙醇提取菌体中红曲色素不仅缩短了提取时间,也明显提高了色素提取率,为其产业化应用推广提供了理论基础和技术参数。

参考文献:

- [1] 殷军帅. 红曲色素和功能性红曲的菌种选育和生产工艺的优化[D]. 青岛: 山东农业大学, 2012.
- [2] LIN Yilinh, WANG Tenghsu, LEE Minhsiung, et al. Biologically active components and nutraceuticals in the *Monascus* - fermented rice: a review[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2008, 77: 965-973.
- [3] 李东, 谢静, 王敏, 等. 红曲起源新考[J]. 中药材, 2007, 30(4): 484-487.
LI Dong, XIE Jing, WANG Ming, et al. A new textual research on origin of *Monascus* rice [J]. **Journal of Chinese Medicinal Materials**, 2007, 30(4): 484-487. (in Chinese)
- [4] 崔莉. 红曲色素提取及其黄色组分制备与检测技术研究[D]. 青岛: 山东农业大学, 2008.
- [5] 钱敏, 梁彬霞, 白卫东, 等. 红曲色素提取及分离纯化研究[J]. 中国调味品, 2012, 37(3): 17-21.
QIAN Min, LIANG Binxia, BAI Weidong, et al. Study on extraction of *Monascus* pigments and their separation and purification[J]. **China Condiment**, 2012, 37(3): 17-21. (in Chinese)
- [6] 嵇豪. 高产色素红曲菌株的选育及所产色素性质的研究[D]. 金华: 浙江师范大学, 2011.
- [7] 洪海龙, 贺文智, 索全伶. 红辣椒中辣椒红色素的提取工艺研究[J]. 中国食品添加剂, 2004, 6: 19-21.
HONG Hailong, HE Wenzhi, SUO Quanling. Study on extraction process of capsanthin from red chillies [J]. **China Food Additives**, 2004, 6: 19-21. (in Chinese)
- [8] 孙健, 蒋跃明, 彭子模. 利用大孔吸附树脂提取蜀葵花色素的研究[J]. 生物技术, 2005, 15(1): 63-65.
SUN Jian, JIANG Yueming, PENG Zimo. Research on extracting pigment from flower of *Althaea rosea* (L.) Cav. with macroreticular resin[J]. **Biotechnology**, 2005, 15(1): 63-65. (in Chinese)
- [9] 孙雪花, 齐广才, 刘珍叶, 等. 微波辅助提取紫甘蓝天然色素工艺优化[J]. 延安大学学报: 自然科学版, 2010, 29(2): 68-70.
SUN Xuehua, QI Guangcai, LIU Zhenye, et al. Optimizing technics of extracting natural pigment from purple cabbage with microwave-assisted extraction[J]. **Journal of Yanan University: Natural Science Edition**, 2010, 29(2): 68-70. (in Chinese)
- [10] 崔莉, 张培正, 孙爱东. 超声波辅助对红曲色素提取的影响[J]. 农业工程学报, 2009, 25(增刊 1): 159-163.
CUI Li, ZHANG Peizheng, SUN Aidong. Effects of ultrasonic assist on extraction of *Monascus* pigments [J]. **Transactions of the CSAE**, 2009, 25(Supp.1): 159-163. (in Chinese)
- [11] YANG Shengli, ZHANG Hui, LI Yaqin, et al. The ultrasonic effect on biological characteristics of *Monascus* sp.[J]. **Enzyme and Microbial Technology**, 2005, 37: 139-144.
- [12] 王和才, 蔡健, 胡秋辉. 超声波辅助提取紫红薯色素的工艺研究[J]. 江苏农业科学, 2009(2): 236-238.
WANG Hecai, CAI Jian, HU Qiu-hui. Research on ultrasonic-associated extracting purple sweet potato pigment [J]. **Jiangsu Agricultural Science**, 2009(2): 236-238. (in Chinese)
- [13] ZHOU Bo, WANG Jufang, PU Yuewu, et al. Optimization of culture medium for yellow pigments production with *Monascus anka* mutant using response surface methodology[J]. **European Food Research and Technology**, 2009, 228(6): 895-901.
- [14] 嵇豪, 蒋冬花, 杨叶, 等. 响应面法优化超声波辅助提取红曲米中水溶性色素[J]. 浙江师范大学学报: 自然科学版, 2011, 34(1): 91-96.
JI Hao, JIANG Donghua, YANG Ye, et al. Optimization for ultrasonic wave extraction of water-soluble pigment in red kojic rice by response surface method [J]. **Journal of Zhejiang Normal University: Natural Science Edition**, 2011, 34(1): 91-96. (in Chinese)
- [15] Kalil S J, Maugeri F, Rodrigues M I. Response surface analysis and simulation as a tool for bioprocess design and optimization[J]. **Process Biochemistry**, 2000, 35(6): 539-550.
- [16] 张慧娟, 陶冠军, 陈蕴, 等. 红曲色素的制备及 HPLC 和 LC/MS 检测方法[J]. 食品研究开发, 2006(4): 112-115.
ZHANG Huijuan, TAO guan-jun, CHEN Yun, et al. Preparation and analysis of *Monascus* pigments by using HPLC [J]. **Food Research and Development**, 2006(4): 112-115. (in Chinese)
- [17] Myers W R. Response surface methodology in *Encyclopedia of biopharmaceutical statistics* [M]. New York: Marcel Dekker, 2003: 858-869.