

文章编号: 0253-2239(2006)08-1256-4

W-红色素的光褪色研究*

连喜军¹ 王昌禄²

(¹ 天津商学院食品科学与工程系 天津市食品生物技术重点实验室, 天津 300134)
(² 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300222)

摘要: 红曲色素在自然光的作用下会逐渐褪色, 紫外线是自然光中引起有机物褪色的主要光线。为了探明红曲色素光照褪色的机理, 采用紫外灯照射一种红曲红色素(分子式 $C_{19}H_{28}N_2O_5$) 的水溶液至无色, 经红外光谱、质谱和核磁图谱分析, 鉴定其褪色后物质的分子式为 $C_{14}H_9NO_6$ 。根据光化学理论分析, 提出了红曲红色素的光褪色机理: 在紫外光作用下, 红曲红色素分子中的脂肪族侧链首先在 α -碳原子处发生 Norrish I 型断裂, 成为自由基, 随后在碳 7 位甲基上发生相同反应, 接着色素发生电子转移, 双键转换, 水溶液中产生羟自由基、超氧阴离子等自由基, 与色素结构中双键发生加成反应, 共轭双键消失, 色素失去颜色。防止红曲红色素光褪色应首先考虑稳定其脂肪族侧链结构, 其次可以在色素中添加自由基清除剂。

关键词: 光谱学; 光褪色; 喷雾质谱; W-红色素

中图分类号: TS264.4; TQ949.325 文献标识码: A

Study on Mechanism of Photobleaching for W-Red Pigment

Lian Xijun¹ Wang Changlu²

(¹ The Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, Department of Food Science and Engineering, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134)
(² School of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300222)

Abstract: Monascus pigment fades in sun light, and ultraviolet radiation (UV) is main reason causing photobleaching of organic compound. To study the mechanism of photobleaching for monascus pigments, a monascus red pigment (resolved in water, molecular formula $C_{19}H_{28}N_2O_5$) is radiated with UV-light until colorless, the molecular formula of the colorlessness is determined as $C_{14}H_9NO_6$ by infrared spectrometry, mass spectrometry and hydrogen nuclear magnetic resonance. The photobleaching mechanism of the red pigment is deduced according to photochemical theory: firstly, the acyclic side-chain in monascus pigment is cut at α -carbon according to Norrish I mode, radicals are formed, and then same reaction happens at 7-carbon methyl; electron-transferring, double-bond conversion and addition reaction between double-bond and hydroxyl radical, superoxide radical from water occurs, and conjugated double-bond disappears, which causes bleaching of monascus pigments. In order to avoid bleaching of monascus pigments, stabilization of acyclic side-chain should be considered primarily, and addition of radical clearing reagents in pigments is also preferred.

Key words: spectroscopy; photobleaching; electro-spray ionization-mass spectrometry; W-red pigment

1 引 言

红曲色素是以红曲红色素为主要成分的混合物, 其中含有红曲红色素、红曲橙色素、红曲黄色素和少量水溶、醇溶的有机物, 对食品染色起作用的部分是红曲红色素。红曲色素对光不稳定, 在光照(太阳光、紫外光和可见光等)下会逐渐分解^[1~7]。谢珍珍等^[1]报道红曲色素水溶液在自然光照射条件下, 不到 14 h, 色素的保存率降到 50% 以下, 日光直射

下(31~38 °C) 2 h, 色素损失一半。周洁等^[2]对醇溶性和水溶性红曲色素水或醇溶液光稳定性研究表明, 在日光照射下 1 h, 所有红曲色素溶液的吸光度均降至 50% 以下, 而醇溶性色素比水溶性色素下降得更多。赖建平^[3]报道, 红曲色素发酵液在室内自然光照下照射 12 h 后, 色素保存率仅有 80.1%。陈家文报道^[4], 江门生物技术公司生产的红曲色素, 经太阳光照射 17 d, 色素保存率为 71.4%, 紫外光

* 国家自然科学基金(20576100)资助课题。

作者简介: 连喜军(1972~), 男, 陕西澄城人, 博士研究生, 主要从事发酵食品的研究。E-mail: lianxijun@tjcu.edu.cn

收稿日期: 2005-09-16; 收到修改稿日期: 2006-01-22

(30 W, 距 30 cm) 照射 48 h, 色素保存率为 81.7%, 室内自然光照射 90 h, 色素保存率为 58.9%。国外报道的结果类似^[5]。

红曲色素在光照下褪色的原因很复杂, 起初人们认为这是一种光氧化反应, 因为通过添加抗氧化剂可提高红曲色素的光稳定性^[4], 但后来通过有氧气和无氧气光照试验表明, 氧气的存在对红曲色素水溶液的光褪色不起作用, 色素褪色是由光化学反应引起而不是由光氧化反应引起的^[6]。根据相关文献^[8~11], 本文采用紫外光对分离到的红曲红色素——W-红色素^[7]水溶液进行光照处理, 分析其完全褪色后物质的结构, 提出了 W-红色素褪色的机理。

2 实 验

2.1 色素液照射实验

称取 0.5 g 分离得到的 W-红色素(按照文献^[7]的方法分离, 结构如图 1 所示)溶于去离子水(自制)中, 色素液置于($\phi=12$ cm)皿中, 将皿置于 40 W 紫外灯下(距离 15 cm)进行照射, 直至色素液无色, 使溶剂挥发, 得到白色固体。

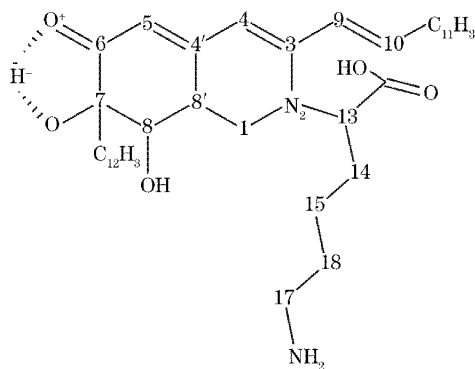


图 1 红曲色素中 W-红色素结构

Fig. 1 Structure of the W-red pigment in monascus pigment

2.2 物质结构鉴定

采用 KBr 压片法, 将干燥的红色素晶体在 Bio-Rad FTS 135 傅里叶变换红外光谱仪上进行扫描, 测定温度为 27 °C。

质谱(ESI-MS)实验在 Finnigan MAT(LCQ-Advantage)电喷雾质谱仪上完成。红色素溶解于甲醇溶剂后进样。质谱仪采用电喷雾物质谱(ESI)源, 喷雾电压 4.8 kV, 金属加热毛细管温度为 230 °C, 毛细管电压为 ± 4.0 V, 管透镜电压为 ± 55 V, 壳气为 O₂。流动注射泵进样, 进样量为 0.2 μ L/min, 扫描质量范围为 0~1000(m/z), 以正离子谱进行检测, m/z 为核质比。

将样品置于 CHCl₃ 中, 用 Varian Mercury V \times 300(Varian Company)核磁共振仪进行测定。溶剂为重水(D₂O), 测试温度为常温, 延迟时间为 1.000 s, 脉冲角 45.0°; 脉冲重复时间 1.997 s; 观测谱宽 4803.1 Hz; 类加次数 16 次; 观测频率 300.077 MHz; 变换数据点阵(FT)大小 32768; 总测试时间 53 s。

3 结果与讨论

3.1 W-红色素褪色后物质结构分析及褪色机理

图 2 为 W-红色素褪色后物质的红外图谱。由图可知, W-红色素褪色后物质的红外吸收峰主要有 3316.43 cm⁻¹, 1148.61 cm⁻¹, 2930.16 cm⁻¹, 2556.41 cm⁻¹, 1733.88 cm⁻¹, 1457.84 cm⁻¹, 1361.27 cm⁻¹, 878.45 cm⁻¹, 839.57 cm⁻¹, 1148.61 cm⁻¹, 1012.66 cm⁻¹, 其中吸收峰 3316.43 cm⁻¹, 1148.61 cm⁻¹ 表明分子内有羟基, 且分子内发生了缩合; 吸收峰 2930.16 cm⁻¹ 表明分子中有(-CH₂-)存在, 但比未光照前色素的吸收峰弱得多; 吸收峰 2556.41 cm⁻¹ 表明分子中有叔铵盐存在; 吸收峰 1733.88 cm⁻¹, 1457.84 cm⁻¹, 1361.27 cm⁻¹, 878.45 cm⁻¹, 839.57 cm⁻¹ 表明分子中有苯环存在, 根据吸收峰在 2500~1700 cm⁻¹ 的峰形可知, 苯环为五取代; 吸收峰 1148.61 cm⁻¹, 1012.66 cm⁻¹ 表明分子中有芳香酮存在。

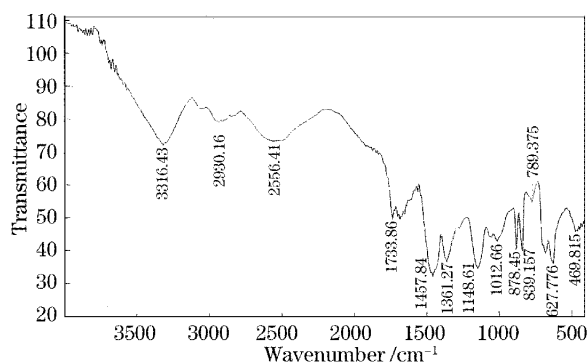


图 2 W-红色素褪色后物质红外图谱

Fig. 2 Infrared spectra of W-Red pigment after fading

图 3 为 W-红色素褪色前后物质的质谱图。由图可知, W-红色素褪色后的分子量由 364.2 减少到 284.0。由红外光谱分析可知, W-红色素褪色后, (-CH₂-)基团明显减少, 而该色素(-CH₂-)基团主要在侧链的赖氨酸上, 由此推测褪色时赖氨酸的侧链(-CH₂-)4-NH₂基团丢失, 同时, 由红外光谱分析可知, 芳香酮结构在褪色后仍然存在; 吸收峰 1596.89 cm⁻¹ 消失说明甲基也丢失了, 由光化学

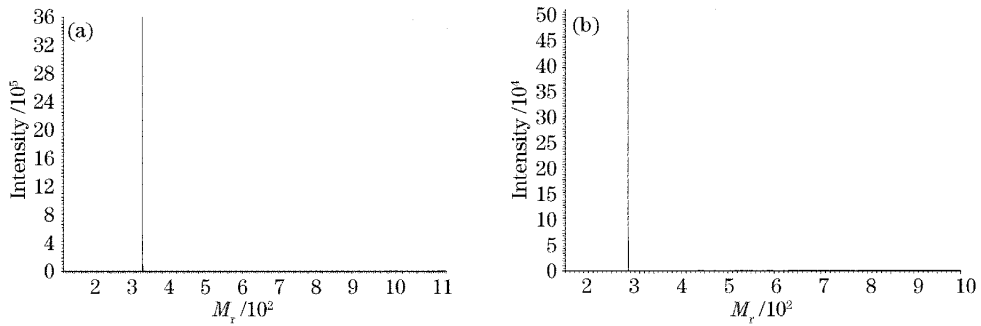


图 3 W-红色素褪色前(a)和后(b)质谱图

Fig. 3 Mass spectrometry of a W-red pigments before (a) and after (b) fading

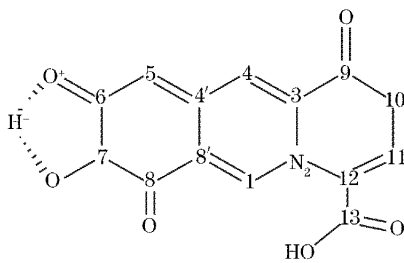


图 4 W-红色素分子褪色后物质的结构

Fig. 4 Molecular structure of new red monascus pigment after fading

反应原理分析可知,自由基正是从甲基位置和脂肪链侧端产生段裂生成自由基。W-红色素褪色后的结构如图 4 所示。

图 5 和表 1 为 W-红色素褪色前后氢原子的化学位移。与未褪色 W-红色素的核磁图谱相比,褪色后物质中赖氨酸侧链的化学位移 4.428, 4.455 消失,证实赖氨酸的脂肪链确实已经断裂失去。所有碳原子的化学位移与经验公式计算完全吻合,证明所推测 W-红色素光照褪色后物质结构合理。

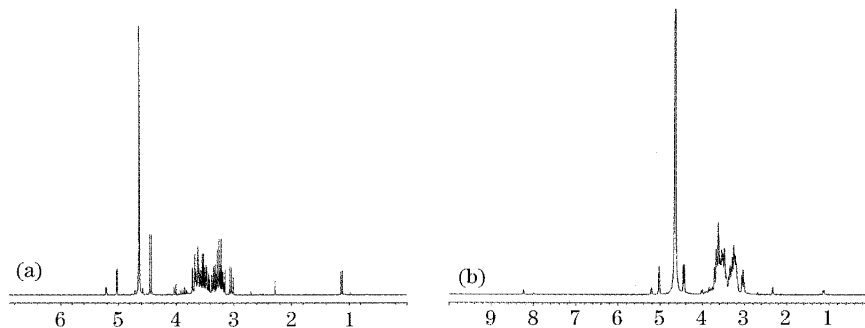


图 5 W-红色素褪色前(a)和后(b)物质的核磁图谱

Fig. 5 Hydrogen nuclear magnetic resonance (H NMR) spectra of W-red pigments of monascus pigments before (a) and after (b) fading

表 1 W-红色素褪色前后物质的核磁氢原子化学位移

Table 1 ^1H NMR for chemical shift of W-red pigments of monascus pigments before and after fading

Carbon	1	3	4	5	7	8	8'	9	10	11	12	13	14~17
Before	3.009		3.436	3.560		3.719	2.281	5.217	5.204	1.139	1.116	4.428	4.455
After	8.210	3.195	5.022	2.75	3.253				5.20	2.270			

2.2 W-红色素光褪色机理

根据光化学理论和 W-红色素褪色后物质结构分析^[12,13],W-红色素光褪色的机理如图 6 所示。在光照色素水溶液条件下,W-红色素分子中赖氨酸侧链上的脂肪族链首先在 α -碳原子处发生 Norrish I

型断裂,成为自由基,随后碳 7 位甲基发生相同反应,接着色素发生电子转移,双键转换,水溶液中产生羟自由基、超氧阴离子等自由基,与色素结构中双键发生加成反应,共轭双键消失,色素失去颜色。

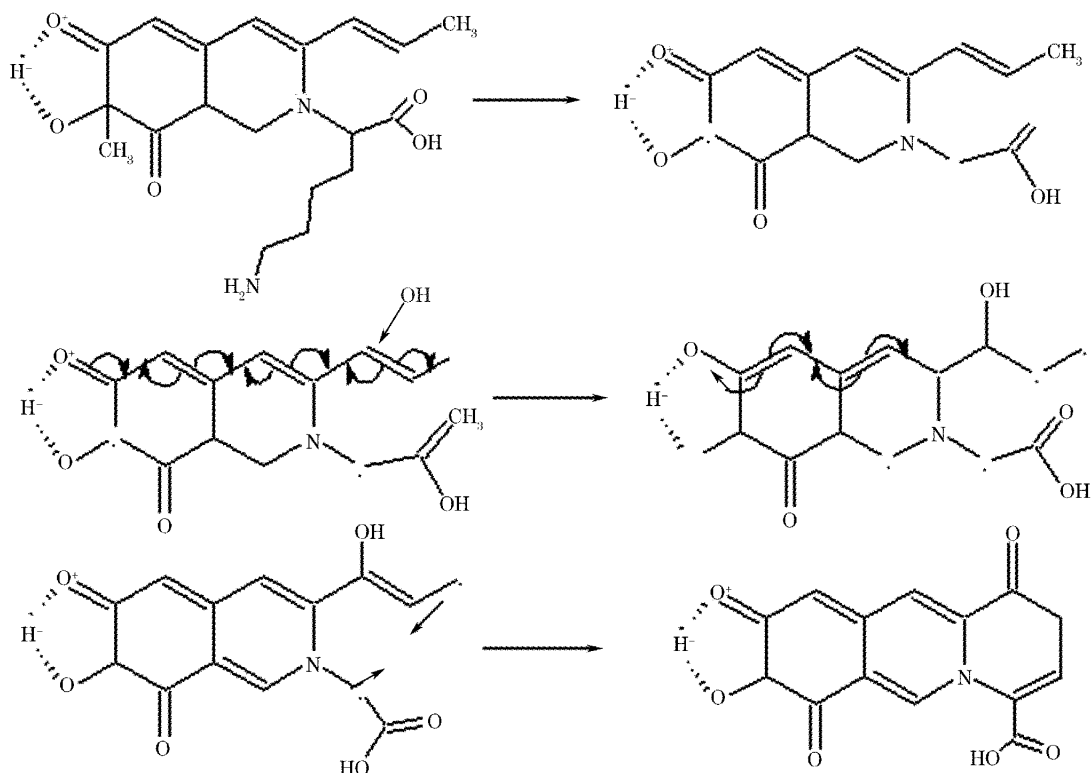


图 6 W-红色素褪色的机理

Fig. 6 Mechanism of photobleaching of W-red pigments

3 结 论

W-红色素光照褪色后产生分子式为 $C_{14}H_9NO_6$ 的无色物质,褪色过程发生了 Norrish I 型断裂。防止红曲红色素光褪色应首先考虑稳定其脂肪族侧链结构,其次在色素中添加自由基清除剂也能减弱红曲红色素的褪色程度,延长添加红曲色素食品的货架期。

参 考 文 献

- 1 谢珍珍,李建英. 红曲色素稳定性研究[J]. 食品科学, 1994, **175**(7): 15~17
- 2 周 洁,谢晓琼,张金彪. 不同溶解性 W-红色素的稳定性比较[J]. 福建化工, 1997, **4**: 25~27
- 3 赖建平,罗 军,古卓鑫. 红曲色素稳定性探讨[J]. 广州大学学报, 1999, **13**(4): 56~60
- 4 陈家文. 水溶性红曲色素工业性实验研究[J]. 食品与发酵工业, 1999, **26**(2): 20~24
- 5 C. E. Fabre, A. L. Santerre, M. O. Loret *et al.*. Production and food application of the red pigments of monascus ruber[J]. *J. Food. Sci.*, 1993, **58**(5): 1099~1102
- 6 Hassaw Hajjaj, A. Lain Klacébé, Marie O. Loret *et al.*. Production and identification of N-glucosylrubropunctamine and N-glucosylmonascorubramine from monascus ruber and occurrence of electron donor-acceptor complexes in these red pigments[J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1997, **63**: 2671~2678
- 7 Lian Xijun. Studies on the photostability of monascus pigments [D]. Tianjin University of Science & Technology, 2004. 20~37 (in Chinese)
- 连喜军. 红曲色素光稳定性的研究[D]. 天津科技大学博士学位论文, 2004. 20~37
- 8 Xu Ming, Yang Xianglin, Cai Ju *et al.*. Analysis of performance in dispersion managed soliton system schemes[J]. *Acta Optica Sinica*, 2003, **23**(1): 31~35 (in Chinese)
- 徐 铭,杨祥林,蔡 炬等. 色散控制光孤子系统性能分析[J]. 光学学报, 2003, **23**(1): 31~35
- 9 Li Jiang, Dongsheng Zhang, Lijun Li *et al.*. A novel method for measuring photo-induced birefringence of photosensitive fibers [J]. *Acta Optica Sinica*, 2003, **23**(Suppl.): 53~54
- 10 Ke Weizhong, Yu Duwei, Chen Wanrong *et al.*. Raman spectroscopic study on the influence of heat treatment and ultraviolet radiation on DNA [J]. *Acta Optica Sinica*, 1997, **17**(12): 1681~1686 (in Chinese)
- 柯惟中,余多慰,陈婉蓉等. 热处理和紫外辐射对 DNA 影响的拉曼光谱研究[J]. 光学学报, 1997, **17**(12): 1681~1686
- 11 Liu Xiangmin, Shen Qishun, Cao Zhuangqi *et al.*. Determination for refractive-index profile of polymer waveguide by photobleaching[J]. *Acta Optica Sinica*, 2000, **20**(7): 991~994 (in Chinese)
- 刘向民,沈启舜,曹庄琪等. 光漂白聚合物波导折射率轮廓的确定[J]. 光学学报, 2000, **20**(7): 991~994
- 12 曹 瑾. 光化学概论[M]. 北京: 高等教育出版社, 1985. 1~109
- 13 高振衡 编译. 有机光化学[M]. 北京: 人民教育出版社, 1979. 11~33