

红曲菌两种荧光代谢产物稳定性研究

黄志兵, 许杨*, 何庆华, 刘夏, 李燕萍

(南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 中德联合研究院, 江西 南昌 330047)

摘要: 探讨红曲菌两种荧光代谢产物对强酸、强碱、光和热的稳定性。结果表明, 两种荧光代谢产物在强碱溶液中不稳定, 在酸性条件下较稳定; 两者的热稳定性和光稳定性均较差。

关键词: 红曲菌; 代谢产物; 荧光化合物; 稳定性

Stability of Two *Monascus* Metabolites with Fluorescence

HUANG Zhi-bing, XU Yang*, HE Qing-hua, LIU Xia, LI Yan-ping

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Sino-Germany Joint Research Institute, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: Two *Monascus* metabolites with strong fluorescence, named MFA and MFB, were investigated for stability under different conditions such as strong acid, strong alkali, heat and light. Results showed that the alkali, heat and light stability of MFA and MFB was poor, but the stability of MFA and MFB for strong acid was better than for strong alkali.

Key words: *Monascus* sp.; metabolite; fluorescent compound; stability

中图分类号: Q939.97

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)21-0053-03

众多研究表明, 红曲菌能产生多种具有降血脂、降胆固醇、降血压、降血糖、抗菌性功能性的代谢产物^[1], 但红曲菌发酵产生的次级代谢产物成分复杂, 在众多的代谢产物中, 有的含量甚微, 有的性质不稳定, 例如部分红曲色素见光易分解, 遇酸碱而褪色, 除已经鉴定的红曲色素、桔霉素、莫纳可林 K 等^[2], 还有许多代谢产物的性质有待进一步研究。利用前期研究从红曲中分离出两种新的荧光代谢产物, 分别命名为 Monasfluore A (MFA) 和 Monasfluore B (MFB)^[3]。本实验采用紫外可见光谱法和荧光光度法等研究 MFA 和 MFB 对强酸和强碱、热和光的稳定性, 旨在为进一步研究红曲菌提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

红曲米由本实验室制备, 两种荧光代谢产物 (MFA、MFB) 按照文献^[3]分离和纯化。

甲醇(色谱纯) 德国默克公司; 乙醇(分析纯) 上海试剂厂; 实验用水为超纯水。

FS F-4500 荧光分光光度计 日本日立公司;
ULTRASPEC4300 紫外分光光度计 Pharmacia 公司。

1.2 方法

1.2.1 两荧光代谢产物在强酸和强碱中的稳定性

分别取 1ml 浓度为 200ng/ml 的 MFA 和 MFB 置于 3 个 10ml 容量瓶中, 加入不同体积(0、300、400 μ l)的 1.0mol/L 的 NaOH 溶液, 然后用 50% 乙醇水溶液定容至 10ml, 扫描其紫外-可见光谱。

取 1ml 浓度为 300ng/ml 的 MFB 于 3 个 10ml 容量瓶中, 分别加入不同体积(0、300、400 μ l)的 1.0mol/L 的 HCl 溶液, 然后用 50% 乙醇水溶液定容至 10ml, 扫描其荧光光谱。

分别取 1ml 浓度为 200ng/ml 的 MFB 于 3 个 10ml 容量瓶中, 分别加入不同体积(1 到 3 号分别加 0、100 和 300 μ l)的 1.0mol/L 的 NaOH 溶液, 然后用 50% 乙醇水溶液定容至 10ml, 扫描其荧光光谱。

1.2.2 两荧光代谢产物的热稳定性

分别取 300 μ l 浓度为 1 μ g/ml 的 MFA 和 MFB 于一系列 10ml 容量瓶中, 用 0.01mol/L pH 7.4 的 PBS-乙醇(1:1, V/V)溶液定容至 10ml, 分别在不同温度(40、60、70、80、100 $^{\circ}$ C)加热不同的时间(0、0.5、2、3、4、5h), 冷却后, 用 0.01mol/L pH 7.4 的 PBS-乙醇(1:1, V/V)溶液定容至原来体积, 测定其荧光强度和在 390nm 波长处

收稿日期: 2009-06-20

作者简介: 黄志兵(1975—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为食品生物技术。E-mail: hzbchem@163.com

* 通讯作者: 许杨(1951—), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品生物技术。E-mail: xuyang1951@yahoo.com.cn

的吸光度。

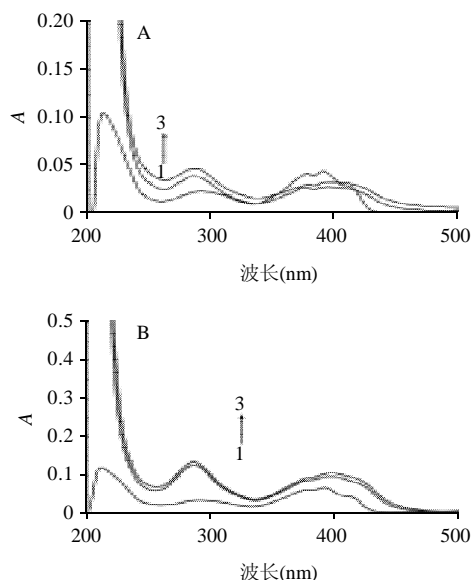
1.2.3 两荧光代谢产物的光稳定性

分别取 300 μ l 浓度为 1 μ g/ml 的 MFA 和 MFB 于一系列 10ml 容量瓶中, 用 0.01mol/L pH 7.4 的 PBS-乙醇(1:1, V/V)溶液定容至 10ml, 置于自然光下, 每隔一段时间测定其荧光强度和在 390nm 波长处的吸光度。

2 结果与分析

2.1 两荧光代谢产物在强酸和强碱中的稳定性

向 MFA 和 MFB 加入 1.0mol/L 的 HCl 后, 两者的溶液颜色变化不明显, 紫外-可见吸收光谱未见明显变化。而向 MFA 和 MFB 中加入 1.0mol/L 的 NaOH 均能使溶液颜色发生改变(由淡黄色变为黄色), 且 MFA 和 MFB 浓度越高变化越明显。



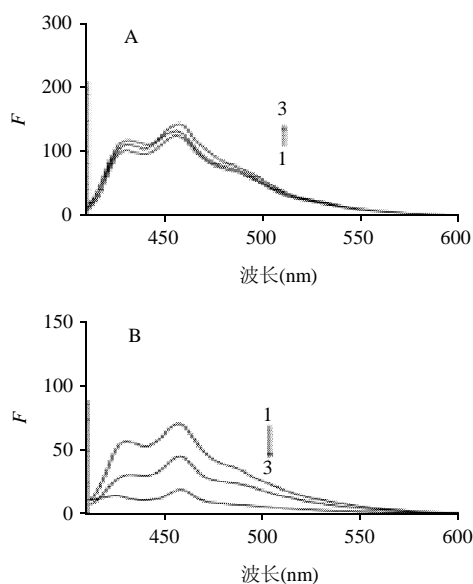
曲线 1 到 3 分别表示加入 NaOH 的体积为 0、300、400 μ l。

图1 不同量的 NaOH 对 MFA (A) 和 MFB (B) 紫外-可见吸收谱图的影响
Fig.1 Effect of volume of added 1.0 mol/L NaOH solution on UV-visible spectra of MFA and MFB

由图 1(A)和 1(B)可知, MFA 和 MFB 在 390nm 波长处的吸收峰红移约 8nm, 所以溶液颜色发生变化, 但 MFA 在 400nm 处的吸光度降低, 而 MFB 的吸光度却明显升高。此外, 两者在 280nm 附近均出现一个明显的吸收峰, 且吸光度明显增强。

由图 2 可看出, 向 MFB 中加入 HCl 和 NaOH 荧光变化不一样, 当加入 HCl 时, MFB 荧光光谱几乎没有发生变化, 而荧光强度略有升高(图 2A); 当加入 NaOH 时, MFB 荧光光谱发生了变化, 且荧光强度降低(图 2B)。MFA 也存在与 MFB 同样的现象。说明 MFA 和 MFB 在碱性条件下, 结构发生了改变, 生成了不发荧

光的物质; 而在酸性条件下, MFA 和 MFB 都比较稳定。



1 到 3 分别表示加入 HCl(A)和 NaOH(B)的体积为 0、300、400 μ l。

图2 MFB 溶液中加入 HCl (A) 和 NaOH (B) 后的荧光光谱图
Fig.2 Fluorescence spectrum change of MFB by adding different volume of 1.0 mol/L HCl or 1.0 mol/L NaOH solution

2.2 两荧光代谢产物的热稳定性

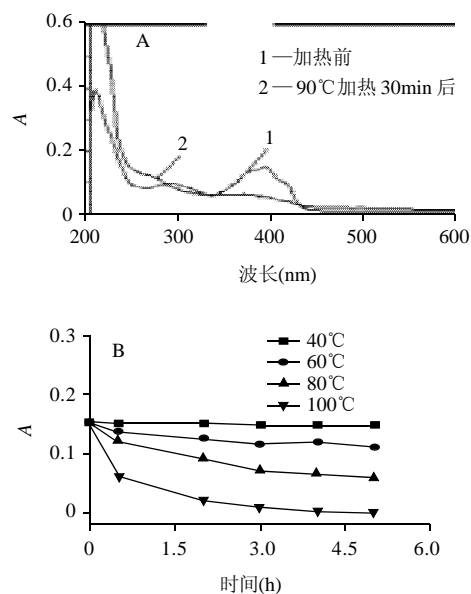


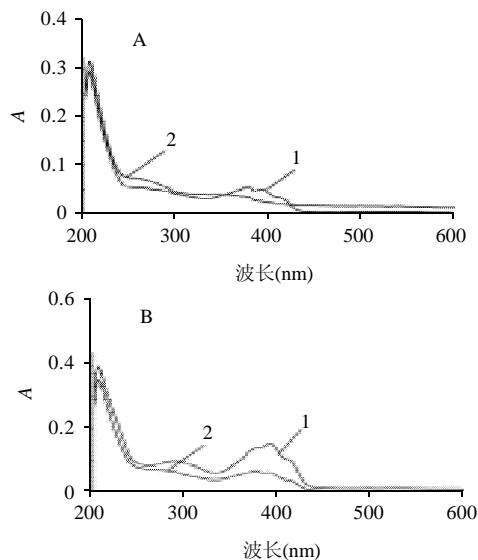
图3 温度对 MFB 吸光度的影响

Fig.3 Effect of temperature on UV absorbance of MFB

由图 3A 可看出, 在较高温度下, 经紫外-可见和荧光光谱扫描发现, 荧光强度迅速降低, 吸光度及最大吸收峰的位置均发生较大变化。由图 3B 可看出, 40 $^{\circ}$ C

时, MFB 的吸光度变化较小, 稳定性较好; 而 90℃ 时, 在半小时内, 吸光度迅速下降。MFB 随温度升高 (40℃ 至 100℃), 稳定性逐渐降低, 温度越高 MFB 分解越快。MFA 也出现与 MFB 同样的规律, 表明其热稳定性较差。

2.3 两荧光代谢产物的光稳定性



曲线 1. 未光照; 曲线 2. 于太阳光下 1h。

图 4 光照对 MFA (A) 和 MFB (B) 紫外-可见光光谱的影响

Fig.4 Effect of light on absorption spectra of MFA and MFB

通过测定在不同照射时间后溶液的荧光强度, 发现 MFA 和 MFB 的荧光强度迅速降低。从图 4 可看出, MFA 和 MFB 光照后的紫外-可见光谱明显发生变化, 吸光度和最大吸收峰均发生了变化, 说明 MFA 和 MFB 对光不稳定。

3 结论

采用光谱法研究了红曲菌两种荧光代谢产物的稳定性, 结果表明: MFA 和 MFB 的热稳定性和光稳定性差, 在酸性条件下比碱性条件稳定。

参考文献:

- [1] 李浩然, 冯雅丽, 伍军. 降脂红曲研究进展[J]. 北京农学院学报, 2001, 16 (3): 80-85.
- [2] MA J, LI Y, YE Q, et al. Constituents of red yeast rice, a traditional Chinese food and medicine[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(11): 5220-5225.
- [3] HUANG Z, XU Y, LI L, et al. Two new monascus metabolites with strong blue fluorescence isolated from red yeast rice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56: 112-118.