

BEATA PAWŁOWSKA

Wydział Inżynierii i Procesowej i Ochrony Środowiska, Politechnika Łódzka, Łódź

Biotechnologiczne źródła barwników spożywczych

Wprowadzenie

Barwa służy jako pierwszy etap oceny jakości produktu spożywczego. Atrakcyjny, typowy dla produktu kolor zachęca do zakupu, a nieatrakcyjny, budzi podejrzenie, że żywność jest złej jakości lub nie nadaje się do spożycia. Podobnie, produkty o nietypowym kolorze są zwykle odrzucane przez konsumentów [1]. Naturalne barwniki znajdujące się w żywności są związkami stosunkowo mało odpornymi na działanie różnych czynników fizyko-chemicznych i mogą ulec zniszczeniu w procesie przetwarzania, pakowania i dystrybucji żywności. Poprawę barwy uzyskuje się poprzez *dobarwanie* produktów żywnościowych za pomocą barwników syntetycznych lub naturalnych. Stosowanie barwników regulowane jest odpowiednimi aktami prawnymi zawierającymi listę dozwolonych barwników z ich maksymalnymi dawkami [2]. Obecnie w Polsce do stosowania w przemyśle spożywczym dopuszczonych jest kilka barwników sztucznych. Do najpowszechniej stosowanych należą m.in. azorubina (E 122), czerń brylantowa (E 151), erytrozyna (E 127), żółta tartrazyna (E 102), żółcień pomarańczowa (E110). Stosowane są także barwniki *identyczne z naturalnymi*, to znaczy związki o identycznym składzie jak występujące w przyrodzie, ale otrzymane inną metodą niż z surowca naturalnego. W tej grupie znajdują się m.in. syntetycznie otrzymywane karotenoidy i ryboflawina. Do kolorowania żywności są stosowane także barwniki naturalne. Są to przede wszystkim roślinne ekstrakty barwników np: czerwony z buraków (betanina) i winogron (antocyjany), żółty z szafranu (szafran), pomarańczowy z arnoty właściwej (annatto, biksyna), zielony z warzyw liściastych (chlorofil). Ogromne możliwości stoją przed biotechnologicznym otrzymywaniem barwników, które mogą być produkowane przez mikroalgi, mikroorganizmy (grzyby, drożdże, bakterie), a także roślinne kultury tkankowe [1, 3]. Celem pracy było dokonanie przeglądu biotechnologicznych źródeł barwników spożywczych.

Biosynteza barwników spożywczych

Barwniki pełnią różne funkcje w organizmie drobnoustroju – chronią przed szkodliwym działaniem fotooksydacji i innych niekorzystnych czynników środowiska (karotenoidy, melaniny), posiadają aktywność jako kofaktory enzymów (związki flawinowe). Poza istotną rolę, jaką spełniają w organizmie, wykazują różną chemiczną strukturę i charakteryzują się nadzwyczajną paletą barw. Przykłady biosyntezy barwników przedstawiono w tablicy 1.

Źródłem naturalnych barwników mogłaby się stać biosynteza z użyciem alg i mikroorganizmów, które od lat powszechnie wykorzystywane są do otrzymywania różnych dodatków spożywczych np. substancji o właściwościach zagęszczających

i żelujących (ksantyn, kurdlan), intensyfikatorów smaku (hydrolizat drożdżowy, glutaminian sodu) i środków zakwaszających (kwas mlekowy, kwas cytrynowy) [1].

Wiele barwników jest produkowanych przez algi. Jedną z szerzej poznanych alg zielononiebieska *Spirulina maxima*, uważana za jedno z najbogatszych źródeł białka roślinnego, produkuje barwniki: fitocyjaniny, chlorofil i β -karoten [4]. Kolejnym przykładem jest *Dunaliella salina*, mikroskopijny glon spotykany zarówno w słodkich wodach jak i wysoko zasolonych, w odpowiednich warunkach może gromadzić duże ilości β -karotenu [5]. Mikroalga *Haematococcus pluvialis* jest źródłem czerwonej astaksantyny, uważanej za najsilniejszy antyoksydant, a także żółtej luteiny [6].

Mikroorganizmy są bogatym źródłem barwników karotenoidowych, które są rozpowszechnione w przyrodzie, ale jednocześnie szeroko stosowane w przemyśle spożywczym. Astaksantyna została otrzymana z użyciem bakterii *Agrobacterium auratiacum* [7], a także drożdży *Xanthophyllomyces dendrorhous* [8]. Pomarańczowy barwnik – kataksantyna został otrzymany z fotosyntetyzującej bakterii *Bradyrhizobium sp.*[9], a także z halofilowej bakterii należącej do rodzaju *Halobacterium* [10]. Kultury bakterii *Flavobacterium sp.* były zdolne do wyprodukowania żółtego barwnika – zeaksantyny [11]. Do produkcji β -karotenu stosowano grzyby z rodzaju *Blakeslea trispora* [12] i *Mucor circinelloides* [13], a także drożdże *Rhodotorula glutinis* [14] i *Sporobolomyces roseus* [15]. Do wytwarzania kolejnego karotenoidu – likopenu, wykorzystano grzyby *Blakeslea trispora* [12] i genetycznie modyfikowane *Fusarium sporotrichioides* [3]. Karotenoidy mogą być wytwarzane przez mikroorganizmy z wysoką wydajnością, np. w hodowli dzikiego szczepu *Blakeslea trispora* osiągnano 0,3 mg β -karotenu na g suchej masy, a w hodowli wysokoproduktywnego szczepu 39 mg β -karotenu i 15 mg likopenu na g suchej masy [12], podczas gdy bogata w α -karoten marchew zawiera ok. 7 mg w 100 g produktu.

Kilka charakterystycznych związków niekarotenoidowych jest także produkowanych przez mikroorganizmy. Przykładem jest ryboflawina, witamina B₂, która ma różnorodne zastosowanie m.in. jako żółty barwnik do żywności. Jest wiele mikroorganizmów produkujących ryboflawinę. Obok wysoko produktywnych *Ashbya gossypii* i *Eremothecium ashbyii* wytwarzających ryboflawinę z wydajnością 1÷5,5 g/dm³, są słabiej produkujące ryboflawinę drożdże *Candida flareri* i *Candida guilliermundii* (200÷600 mg/dm³) oraz bakterie *Bacillus subtilis* i *Clostridium acetobutylicum* (80÷100 mg/dm³) [16]. Czerwony antrachinonowy barwnik otrzymano wykorzystując szczep *Penicillium sp.* [17], a melaniny stosując *Paecilomyces variotii* i *Aspergillus carbonarius* [18]. Grzyby z rodzaju *Monascus sp.*, spotykane w orientalnej żywności i znane z leczniczych właściwości, zdolne są także do biosyntezy

Tablica 1
Przykłady biosyntezy barwników spożywczych

Lp.	Mikroorganizm	Barwnik	Literatura
Bakterie			
1.	<i>Agrobacterium auratiacum</i>	astaksantyna	[7]
2.	<i>Bacillus subtilis</i>	ryboflawina	[16]
3.	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	kataksantyna	[9]
4.	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	ryboflawina	[16]
5.	<i>Flavobacterium sp</i>	zeaksantyna	[11]
6.	<i>Halobacterium sp.</i>	kataksantyna	[10]
Drożdże			
7.	<i>Candida flareri</i>	ryboflawina	[16]
8.	<i>Candida guilliermundii</i>	ryboflawina	[16]
9.	<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i>	astaksantyna	[8]
10.	<i>Rhodotorula glutinis</i>	β-karoten, torulen, torularodyna	[14]
11.	<i>Sporobolomyces roseus</i>	β-karoten, torulen, torularodyna	[15]
Grzyby			
12.	<i>Ashbya gossypii</i>	ryboflawina	[16]
13.	<i>Aspergillus carbonarius</i>	melaniny	[18]
14.	<i>Aspergillus terreus</i>	ryboflawina	[16]
15.	<i>Blakeslea trispora</i>	β-karoten, likopen	[12]
16.	<i>Eremothecium ashbyii</i>	ryboflawina	[16]
17.	<i>Fusarium sporotrichioides</i>	likopen	[3]
18.	<i>Monascus sp</i>	monaskina, ankaflawina, monaskorubryna, rubropunktatyna, monaskorubramina, rubropunktamina	[19]
19.	<i>Mucor circinelloides</i>	β-karoten, likopen, γ-karoten	[13]
20.	<i>Paecilomyces variotii</i>	melaniny	[18]
21.	<i>Penicillium sp.</i>	barwnik antrachinonowy	[17]
Algi			
22.	<i>Spirulina</i>	fitocyjanina	[4]
23.	<i>Dunaliella</i>	β-karoten, luteina	[5]
24.	<i>Haematococcus pluvialis</i>	astaksantyna, luteina	[6]
25.	<i>Porphyridium</i>	fikoerytryna	[3]
Korzenie transformowane			
26.	<i>Beta vulgaris</i>	betaksantyna	[20]
27.	<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	szikonina	[20]

barwników. W różnych szczepach *Monascus* zidentyfikowano żółtą monaskinę i ankaflawinę, pomarańczową monaskorubrynę i rubropunktatynę oraz czerwoną monaskorubraminę i rubropunktaminę [19]. W roślinnych kulturach tkankowych można również otrzymywać barwniki. Przykładem są

kultury korzeni transformowanych *Beta vulgaris* produkujące betaksantynę i *Lithospermum erythrorhizon* produkujące szikoninę [20].

Podsumowanie

Pomimo ogromnych możliwości biosyntezy barwników przez drobnoustroje, technologie te nie są powszechnie wdrażane do komercyjnego użytku. Mikroalgi *Haematococcus* są organizmami zastowanymi do otrzymywania astaksantyny w USA, Japonii i Indiach. Technologia biosyntezy β-karotenu z wykorzystaniem grzybów *Blakeslea trispora* została wprowadzona jako pierwsza w Europie do komercyjnego otrzymywania tego barwnika. Obecnie grzyby te stosowane są także do otrzymywania likopenu [3]. Wykorzystując szczep *Penicillium oxalicum* czeska firma *Ascolor* zaproponowała proces produkcji czerwonego barwnika antrachinonowego; barwnik o nazwie *Arpink Red*TM otrzymał aprobatę do dystrybucji w krajach Unii Europejskiej [3].

Wprowadzenie naturalnych barwników otrzymanych drogą biosyntezy zostało przyjęte przez rynek z sukcesem marketingowym, odzwierciedlając w ten sposób konieczność wypełnienia niszy rynkowej. Uzasadnione jest więc rozwinięcie tematu biosyntezy barwników i próby komercjalizacji kolejnych, nowych, naturalnych barwników.

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2008-2011 jako projekt badawczy Nr N N208 021634^o.

LITERATURA

1. *L. Dufosse*: Food Technol. Biotechnol. 44 nr 3, 313, (2006).
2. Dz.U. 04.120.1257, Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 kwietnia 2004 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych i substancji pomagających w przetwarzaniu.
3. *L. Dufosse, P. Galaup, A. Arad, P. Blanc, K.N. Chidambara, G.A. Ravishankar*: Trends Food Sci. Technol., 16, 386, (2005).
4. *H.H. Abd El-Baky*: J. Med. Sci., 3 nr 4, 314 (2003).
5. *B.K. Lustigman*: Bull. Environ. Contam. Toxicol., 37, 710, (1986).
6. *M. Orosa, D. Franqueira, A. Cid & J. Abalde*: Biotechnol. Lett., 23: 373, (2001).
7. *A. Yokoyama, W. Miki*: Microbiol. Lett., 128, 139, (2006).
8. *H. Visser*: FEMS Yeast Research, 4, 221 (2003).
9. *J. Lorquin, F. Molouba, B.L. Dreyfus*: Appl. Environ. Microbiol., 63, 1151 (1997).
10. *D. Dalal, O. Yoshiyuki*: J. Biosci. Bioeng., 88, 617, (1999).
11. *A. Masetto, L.B. Flores-Cotera, C. Diaz, E. Langley, S. Sanchez*: J. Biosci. Bioeng., 92, 55, (2001).
12. *B.J. Mehta, I.N. Obratsova, E. Cerda-Olmedo*: Appl. Environ. Microbiol., 69, 4043, (2003).
13. *P.D. Fraser, M.J. Ruiz-Hidalgo, M.A. Lopez-Matas, M.I. Alvarez, A.P. Eslava, P.M. Bramley*: Biochimica et Biophysica Acta 1289, 203 (1996).
14. *P. Buzzini, A. Martini*: Bioresource Technology, 71, 41 (1999).
15. *P. Davoli, R.W.S. Weber*: Mycologist, 16, (2002).
16. *S.H. Lim, J.S. Choi, E.Y. Park*: Biotechnol. Bioprocess Eng., 6, 75, (2001).
17. *S. Gunasekaran, R. Poorniammal*: Afr. J. Biotechnol., 7, 1894, (2008).
18. *Y.Y. Tseng, M.T. Chen, C.F. Lin*: J. Appl. Microbiol., 88, 31, (2000).
19. *V.G. Babitskaya, V. V. Shcherba, T. V. Filimonova, and E. A. Grigorchuk*: Appl. Biochem. Microbiol., 3, 128 (2000).
20. *M. Kino-Oka, M. Taya, S. Tone*: Plant Tissue Culture Lett. 12, 201, (1995).