

BEATA PAWŁOWSKA
STANISŁAW LEDAKOWICZ

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

Grzyby nitkowate *Monascus purpureus* w hodowli w kolbach wstrząsanych

Wprowadzenie

Szczep *Monascus* należy do gromady *Ascomycetes* i rodziny *Monascaceae*. Zdrowotne właściwości grzybów *Monascus purpureus*, fermentowanych na ryżu są od wieków znane i wykorzystywane w krajach azjatyckich. W *Starożytnej Chińskiej Farmakopei* znajdują się informacje o zastosowaniu sfermentowanego czerwonego ryżu *ank-kak* w celu poprawienia funkcjonowania układu krążenia. Tradycyjne zastosowanie zostało potwierdzone przez odkrycie, że ta odmiana grzybów wytwarza substancje, które przyczyniają się do utrzymania właściwego poziomu cholesterolu. *Ank-kak* wykorzystywany jest także do barwienia żywności: wina ryżowego, sera sojowego, ryb i mięsa.

Monascus może produkować różne metabolity wtórne o poliketydowej strukturze. Wśród nich znajdują się barwniki żółty: monaskina i ankaflawina, pomarańczowy: monaskorubryna i rubropunktatyna oraz czerwony: monaskorubramina i rubropunktamina [1].

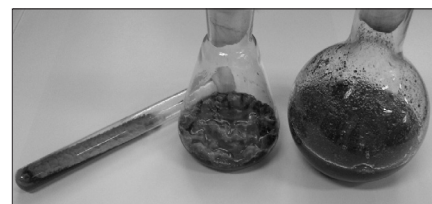
Tradycyjne hodowle *Monascus* prowadzone są na podłożu stałym. Metoda polega na inokulacji *Monascus* na gotowanych ziarnach ryżu rozrzuconych na dużych tacach i ich inkubacji w kontrolowanych warunkach napowietrzania i temperatury. Taki typ hodowli był prowadzony także z wykorzystaniem innego niż ryż substratu, m.in. na ziarnach pszenicy, soi, kukurydzy, podłożu z otrąb i mąki pszennej, mąki kukurydzianej, zmielonych ziarnach chlebowca [2, 3]. Jednakże w takiej hodowli na stałym, nieruchomym podłożu nie ma możliwości kontrolowania parametrów środowiska lub jest ono utrudnione. Ponieważ grzyby mogą rosnąć na podłożu ciekłym dąży się do otrzymania optymalnego płynnego, naturalnego lub syntetycznego podłoża, zapewniającego wysoką wydajność barwników.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu wybranych czynników hodowli na wzrost biomasy i biosyntezę barwników grzyba strzępkowego *Monascus purpureus* w hodowli okresowej w kolbach wstrząsanych.

Materiały i metody

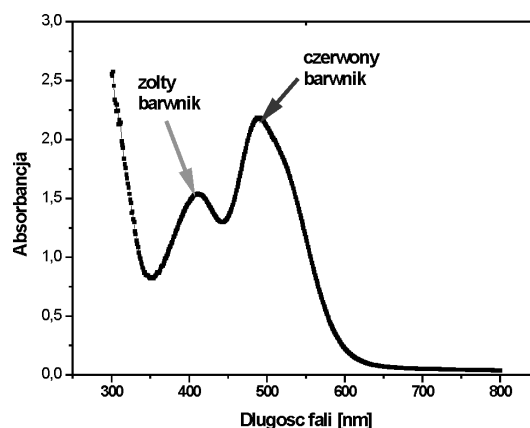
W pracy wykorzystano szczep grzybów *Monascus purpureus* DSM 1379 (*German Collection of Microorganisms and Cell Cultures*, Braunschweig, Niemcy). Szczep był przechowywany na skosach agarowych zawierających: glukozę, ekstrakt drożdżowy, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , w temperaturze 4°C [4]. Na rys. 1 przedstawiono kolejne etapy hodowli *Monascus purpureus*. Spory ze skosów zmywano za pomocą wody destylowanej do 250 cm³ kolb *Erlenmeyera*, do płynnego podłoża o składzie takim jak podłoże agarowe. Po 7 dobach grzybnie homogenizowano i przenoszono do 500 cm³ kolb okrągłych, do

płynnego podłoża na 1 dobę, a następnie zaszczepiano podłoże produkcyjne aktywną grzybnią w ilości 5%. Kontrolnym podłożem produkcyjnym było podłoże zastosowane dla szczepu *Monascus*



Rys. 1. Kolejne etapy hodowli grzybów *Monascus purpureus* DSM 1379

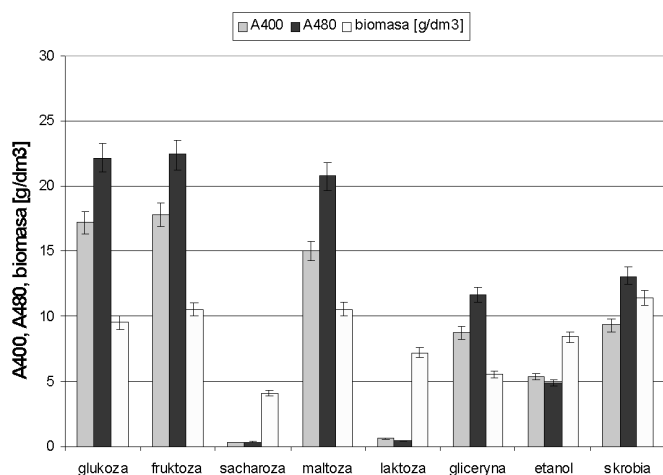
purpureus CBS 10907 przez Hamdi i wsp. [5]. W celu zbadania wpływu wybranych czynników hodowli na wzrost i biosyntezę barwników gatunku *Monascus purpureus* DSM 1379, w podłożu kontrolnym zmieniano źródło węgla, azotu i pH. Jako źródło węgla zastosowano: glukozę, fruktozę, maltozę, sacharozę, laktozę, skrobię, glicerol, etanol. Źródło azotu stanowiły: NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4Cl , pepton, glutaminian sodu, ekstrakt drożdżowy. Początkowe pH podłoża ustalone było w granicach od 4,0 do 8,5. Hodowlę prowadzono przez okres 7 dni na wytrząsarce 110 rpm, w temperaturze 30°C. Po zakończeniu hodowli wyznaczano suchą masę metodą wagową i stężenie barwników w oparciu o pomiar absorbancji przy długości fali 400 – żółty barwnik i 480 nm – czerwony barwnik (Rys. 2).



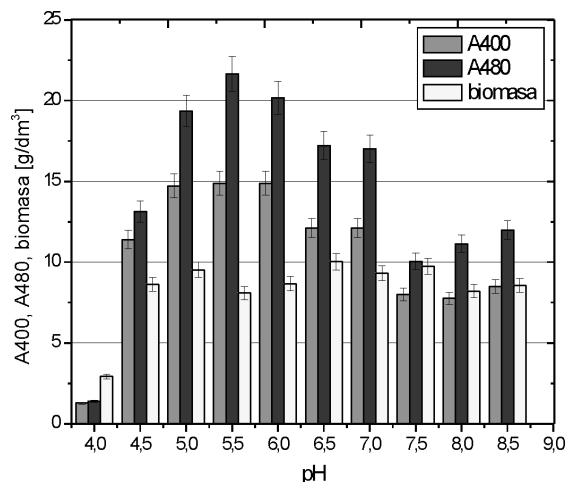
Rys. 2. Widmo absorbancji cieczy pohodowlanej *Monascus purpureus*

Wyniki i dyskusja

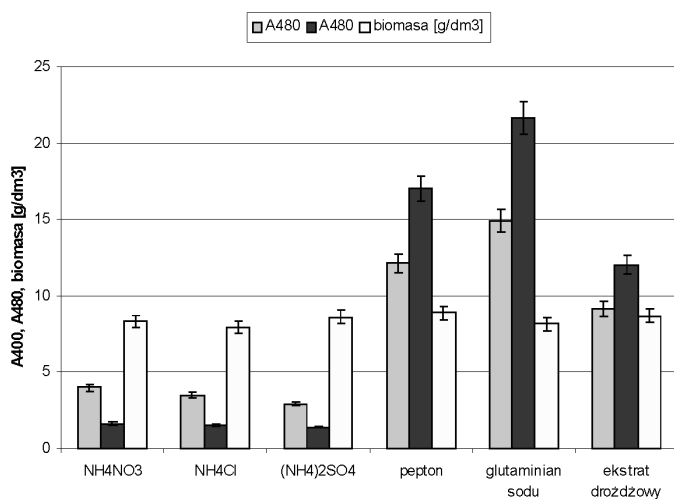
Wyniki wpływu źródła węgla na wzrost i biosyntezę barwników przedstawiono na rys. 3. W podłożu kontrolnym źródło węgla stanowiła glukoza. W porównaniu z podłożem kontrolnym, najwyższy przyrost biomasy uzyskano stosując skrobię, mniejszy w podłożu z fruktozą, maltozą i glukozą. Biosyntezę barwników na najwyższym poziomie obserwowano w podłożu zawierającym fruktozę, glukozę i maltozę. Biosynteza barw-



Rys. 3. Wzrost i biosynteza barwników *Monascus purpureus* w hodowli wglębnej w podłożu zawierającym różne źródło węgla



Rys. 5. Wzrost i biosynteza barwników *Monascus purpureus* w hodowli wglębnej w podłożu o różnym pH



Rys. 4. Wzrost i biosynteza barwników *Monascus purpureus* w hodowli wglębnej w podłożu zawierającym różne źródło azotu

ników była zahamowana, gdy w podłożu była sacharoza lub laktoza. W pracy Lee i wsp. [6] uzyskano podobne rezultaty, najwyższy wzrost biomasy na podłożu ze skrobią, a wysokie stężenie czerwonego barwnika w podłożu zawierającym glukozę, skrobię, fruktozę i maltozę. Sacharoza i laktoza również hamowały wzrost i syntezę barwnika grzyba *Monascus purpureus* ATCC 16365 [6].

Zmiana źródła azotu nie powodowała dużych zmian we wzroście biomasy, ale znacząco wpływała na biosyntezę barwników (Rys. 4). Najwyższą zawartość czerwonego i żółtego barwnika stwierdzono w przypadku zastosowania w podłożu glutaminianu sodu, mniej w przypadku peptonu i ekstraktu drożdżowego. Znaczne zahamowanie biosyntezy barwników następowało, gdy podłoże zawierało nieorganiczne źródło azotu w postaci NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄ lub NH₄Cl, przy czym obserwowano wyższe wartości absorbancji przy długości fali 400 nm, charakterystyczne dla żółtego barwnika. Podobne zależności zaobserwowali Lee i współ. [6] dla szczepu *Monascus purpureus* ATCC 16365, zmiana źródła azotu nieznacznie wpływała na wzrost biomasy, ale zmniejszała biosyntezę czerwonego barwnika, natomiast nieorga-

niczne źródła azotu hamowały jego syntezę, a najwyższe stężenie otrzymano stosując glutaminian sodu [6]. Negatywny wpływ azotanów amonowych na produkcję barwników obserwowali także Lin i wsp. dla *Monascus sp.* [7].

Wyniki wpływu pH przedstawiono na rys. 4. W szerokim zakresie pH od 4,5 do 8,5 wzrost biomasy był na podobnym poziomie. Zahamowanie wzrostu następowało przy pH równym 4,5. W większym stopniu pH podłoża wpływało na biosyntezę barwników, najwyższe stężenie obserwowano gdy pH było w zakresie 5÷6, niższe dla wartości 6,5÷8,5 i najniższe przy pH równym 4,5. W przeprowadzonych eksperymentach, Lee i wsp. obserwowali wysoki przyrost biomasy z jednoczesną niską biosyntezą czerwonego barwnika przy niskich wartościach pH 4÷4,5, wzrost biomasy i stężenie barwnika na wysokim poziomie w zakresie pH 5÷8 oraz zarówno gwałtowny spadek wzrostu i biosyntezy przy pH poniżej 8,5 [6]. Hamdi i wsp. uzyskali wysoki wzrost biomasy w podłożu o pH równym 4,5÷5,5, a najwyższe stężenie czerwonego barwnika w podłożu o pH – 6,0 [5].

Prezentowane wyniki stanowią jeden z etapów badania wpływu wybranych czynników hodowli na wzrost biomasy i biosyntezę barwników przez *Monascus purpureus* DSM 1379 w hodowli okresowej w kolbach wstrząsanych. Dalsze badania nad doбором optymalnych warunków biosyntezy barwników są kontynuowane.

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

LITERATURA

1. Y.L.Lin, T.H.Wang, M.H. Lee, N. W. Su: Appl. Microbiol. Biotechnol., 77: 965, (2008).
2. L. Dufosse: Food Technol. Biotechnol. 44 nr 3, 313, (2006).
3. L. Dufosse, P. Galaup, A. Arad, P. Blanc, K.N. Chidambara, G.A. Ravishankar: Trends Food Sci. Technol., 16, 386, (2005).
4. S.S.Teng: Chromatographia, 47, 529, (1998).
5. M. Hamdi, P.J. Blanc, M.O. Loret, G. Goma: Bioprocess. Biosyst. Eng. 17, 75, (1997).
6. B.K. Lee, H.Y. Piao, W.J. Chung: Biotechnol. Bioprocess Eng., 7: 21, (2002).
7. T.F. Lin, A.L. Demain: Appl Microbiol Biotechnol, 43, 701, (1995).