

Produkce přírodních barviv houbou *Monascus*

II. Extrakce pigmentů z mycelia a jejich stabilita

Ing. PETRAJÚZLOVÁ, Ing. LUDMILA MARTÍNKOVÁ, CSc., RNDr. LEOPOLD SEICHERT, CSc., Mikrobiologický ústav ČSAV, Praha

Klíčová slova: *Monascus*, barviva, pigmenty, extrakce, stabilita.

579 663

ÚVOD

O optimalizaci podmínek pro extrakci pigmentů z mycelia houby *Monascus* se literatura příliš nezmiňuje. Jako vhodná extrakční činidla jsou uváděny různé koncentrované roztoky ethanolu ve vodě [1,4] nebo fyziologickém roztoku [2], methanol [3,5], případně jiná organická rozpouštědla [4,5]. Extrakční teplota není obvykle uváděna, pouze v článku [1] se autoři zmiňují, že jde o laboratorní teplotu. V názorech na optimální dobu extrakce se literatura různí, Lin [1] uvádí 1 hodinu, Carels a Shepherd [2] 15 minut. Množství extrakčního činidla se doporučuje jen v článku [2], a to 10 ml činidla na 1 ml homogenizované kultury.

Velkou komplikací při používání přírodních barviv pro barvení potravinářských výrobků je otázka jejich stability, přičemž se jedná jak o odolnost pigmentu vůči změně pH, teplotě a době skladování, tak o možnost nežádoucí reakce pigmentu s ostatními složkami barvené potraviny. Tento problém velmi omezuje např. aplikovatelnost červených barviv z řepy [6]. Většinu přírodních pigmentů je možno používat jen ve velmi omezeném rozmezí pH a teplot nebo je nutno je před použitím stabilizovat [7]. Shirakawa [8] srovnával stabilitu pigmentu získaného z houby *Monascus* se stabilitou pigmentů z červené řepy a z ibišku a zjistil, že pigment z houby *Monascus* je nejstabilnější.

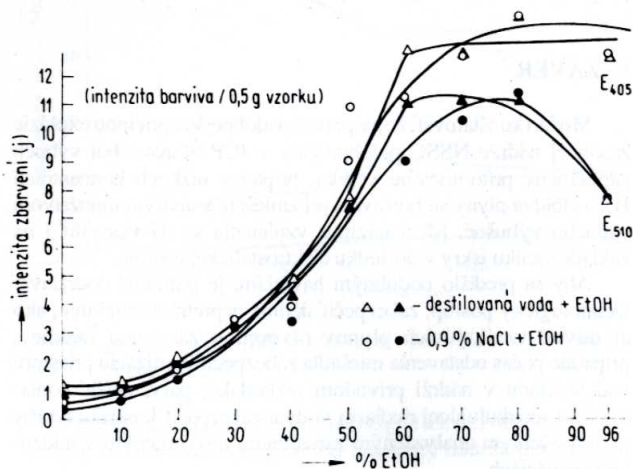
MATERIÁL A METODY

Způsob uchovávání houby *Monascus* sp., její stacionární kultivace na rýži a stanovení barviv bylo popsáno v naší předchozí práci [9]. Jednotka intenzity zbarvení [j] odpovídá absorpci násobené ředěním vzorku.

VÝSLEDKY A DISKUSE

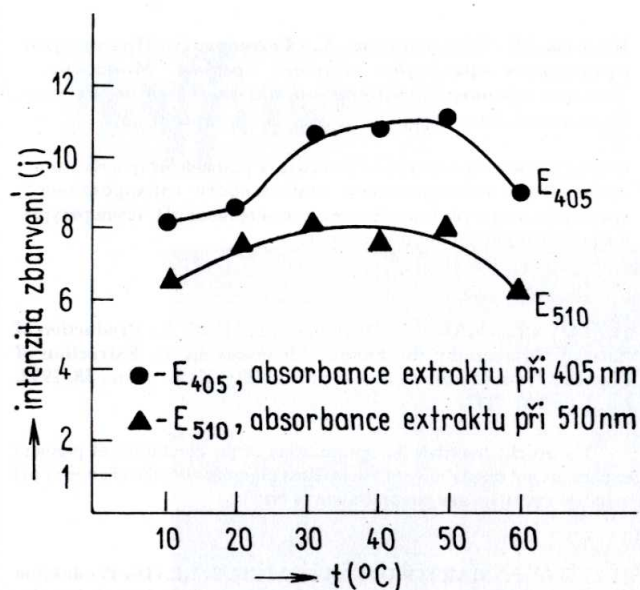
1. Optimalizace podmínek pro extrakci pigmentů z mycelia na fermentované rýži

0,5 g rozemleté fermentované rýže jsme extrahovali 10 ml vody nebo ethanolu ředěného vodou nebo 0,9% roztokem chloridu sodného na koncentraci 10 až 96% (obr. 1). Dále jsme sledovali vliv teploty v rozmezí 10 až 60 °C (obr. 2), doby

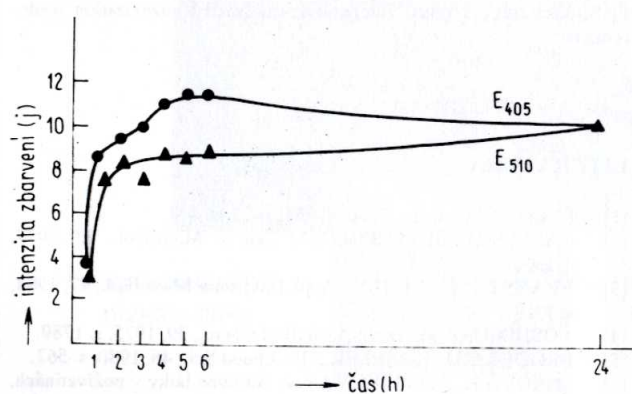


Obr. 1 Závislost absorpce extraktu z rozemleté rýže při 405 nm (E_{405}) a 510 nm (E_{510}) na složení extrakčního činidla

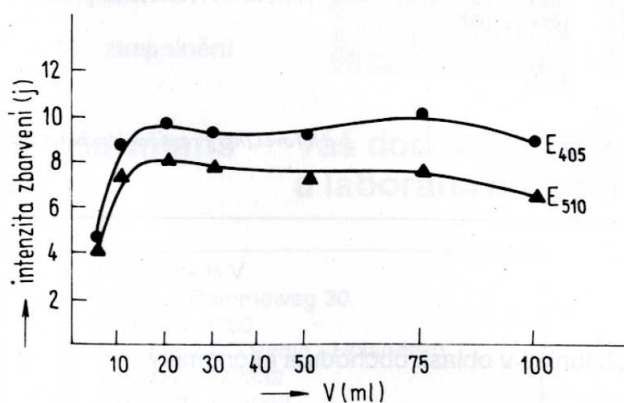
Δ ▲ - destilovaná voda + EtOH
○ ● - 0,9 % NaCl + EtOH



Obr. 2 Vliv teploty na extrahovatelnost pigmentů



Obr. 3 Vliv doby extrakce na extrahovatelnost pigmentů (popis - viz obr. 2)

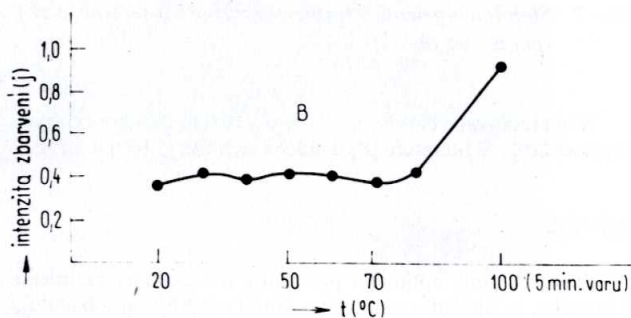
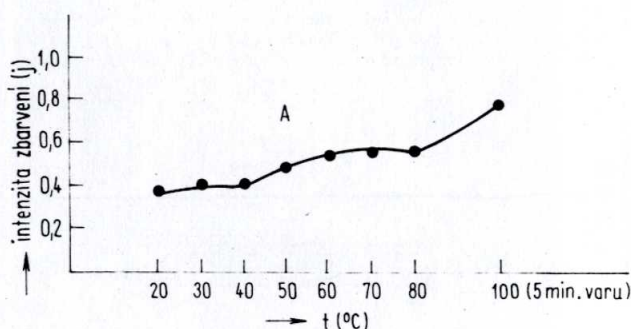


Obr. 4 Vliv množství extrakčního činidla na extrahovatelnost pigmentů, která je vyjádřena jako absorpance extraktu přepočtená na 10 ml činidla (popis - viz obr. 2)

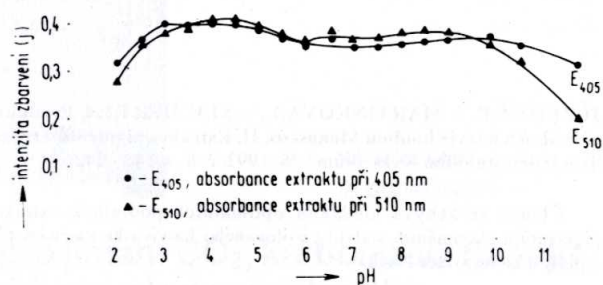
extrakce (obr. 3) a množství extrakčního činidla na extrahovatelnost pigmentů (obr. 4). Všechny pokusy kromě prvního jsme prováděli s množstvím 0,5 g rozemleté fermentované rýže a s 10 ml extrakčního činidla o složení ethanol : voda (1 : 1).

2. Stabilita izolovaného barviva

Zkoumali jsme odolnost pigmentů v ethanolovém extraktu vůči změnám teploty (obr. 5), pH (obr. 6) a koncentraci NaCl v roztoku (obr. 7).



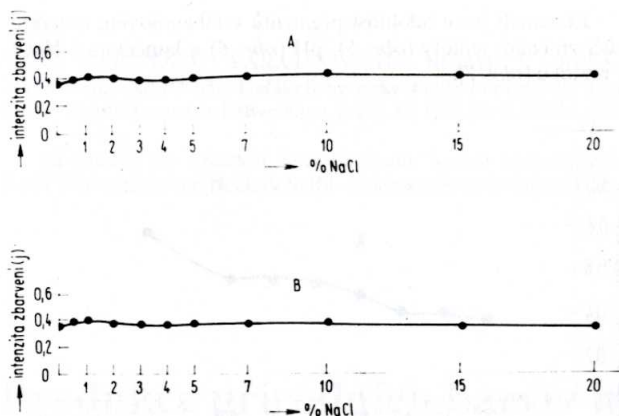
Obr. 5 Tepelná stabilita pigmentů po 5 minutovém zahřátí
A - absorpance při 405 nm
B - absorpance při 510 nm



Obr. 6 Stabilita pigmentů v závislosti na pH

Zřetelný nárůst intenzity zbarvení v obr. 5 je pravděpodobně způsoben odpařením ethanolu během zahřívání a varu. V referátu [6], který se zabývá použitelností červených barviv z řepy, jsou uvedeny hodnoty poločasu rozpadu β -kyanů v závislosti na pH a teplotě. Při teplotě 90 °C v rozmezí pH od 3,0 do 7,0 se tato hodnota mění od $2,4 \pm 0,1$ min do $11,9 \pm 0,5$ min. Naše izolované barvivo z houby *Monascus species* se při teplotě 90 °C v roztocích o pH 3,0 až 9,0 po dobu 1 hodiny nerozpadá vůbec. Intenzita zbarvení roztoků se za tuto dobu zvýší asi o 20 - 25 %, což lze opět vysvětlit odpařením roztoku.

Ve velmi kyselém (pod pH 3,0) a velmi zásaditém (nad pH 10,0) prostředí se zbarvení roztoků barviv kmene *Monascus* species mění z oranžovočerveného nebo červeného na žluté. Změna zbarvení při pH pod hodnotu 1,0 a nad hodnotu 12,0 je ireverzibilní.



Obr. 7 Stabilita pigmentů v roztocích o různé koncentraci NaCl (popis - viz obr. 5)

Námi izolované barvivo je stabilní v roztocích o koncentraci NaCl až 20%. V literatuře [8] uváděná stabilita je 10krát nižší.

ZÁVĚR

Stanovili jsme optimální podmínky pro extrakci pigmentů z mycelia, tj. složení extrakčního činidla (80% obj. ethanolu), teplotu při extrakci (30 °C), dobu extrakce (4 hodiny) a množství extrakčního činidla (40 ml/g rozemleté fermentované rýže).

Prokázali jsme, že pigmenty v roztocích jsou stále v rozmezí pH od 3,0 do 10,0, v roztocích o koncentraci NaCl 0 až 20% hm. a vydrží i 5minutový var. Ve srovnání s β -kyany jsou pigmenty izolované z houby *Monascus* mnohem stabilnější.

JŮZLOVÁ, P. - MARTÍNKOVÁ, L. - SEICHERT, L.: Produkce přírodních barviv houbou *Monascus* sp. II. Extrakce pigmentů z mycelia a jejich stabilita. Kvas. prům., 38, 1992, č. 8, s. 240 - 242

Článek se zabývá hledáním optimálních podmínek extrakce pigmentů a zkoumáním stability izolovaného barviva ke změnám pH, teploty a koncentrace NaCl.

Юзлова, П. - Мартинкова, Л. - Сейхерт, Л.: Продукция природных красящих веществ грибом *Монаскус*. Экстрагирование пигментов из мицелия и их стабильность. Квас. прум., 38, 1992, № 8, стр. 240 - 242

Статья занимается поиском оптимальных условий экстрагирования пигментов и исследованием стабильности изолированного красящего вещества в отношении к изменениям pH, температуры и концентрации хлористого натрия.

JŮZLOVÁ, P. - MARTÍNKOVÁ, L. - SEICHERT, L.: Production of Natural Pigments by the Fungus *Monascus* sp. II. Extraction of Pigments from Mycelium and their Stability. Kvas. prům., 38, 1992, No. 8, pp 240 - 242

The article describes the optimization of the conditions of pigment extraction and the stability of the isolated pigment with the change of pH value, temperature and concentration of NaCl.

JŮZLOVÁ, P. - MARTÍNKOVÁ, L. - SEICHERT, L.: Die Produktion der Farbstoffe durch den Pilz *Monascus* sp. II. Extraktion der Farbstoffe aus dem Mycelium und ihre Stabilität. Kvas. prům., 38, 1992, Nr. 8, S. 240 - 242

Der Artikel beschreibt die Optimierung der Bedingungen der Farbstoffextraktion und die Untersuchung der Stabilität des isolierten Farbstoffes mit pH-Wert, Temperatur und NaCl-Konzentration Änderungen.

LITERATURA

- [1] LIN, C.F.: J. Ferment. Technol., 51, 1973, s. 407.
- [2] CARELS, M., SHEPHERD, D.: Can. J. Microbiol., 23, 1977, s. 1360.
- [3] EVANS, P.J., WANG, H.Y.: Appl. Environm. Microbiol., 47, 1984, s. 1323.
- [4] YOSHIMURA, M., et al.: Agric. Biol. Chem., 39, 1975, s. 1789.
- [5] BRODER, C.U., KOEHLER, P.E.: J. Food Sci., 45, 1980, s. 567.
- [6] MÍKOVÁ, K., HAVLÍKOVÁ, L. v: Aditivní látky v poživatinách, sborník referátů II. celostátní konference, Banská Bystrica 1984, s. 143.
- [7] TAYLOR, A.J. v: Developments in Food Colours - 2 (ed. Walford J.), Elsevier Applied Science Publishers Ltd, Londýn a New York 1984, s. 163.
- [8] SHIRAKAWA, T.: Kagawa-ken Hakkō Shokulin Shikenjo Hokoku 79, 1986, s. 71.
- [9] JŮZLOVÁ, P., MARTÍNKOVÁ, L., UJCOVÁ, E.: Kvas. prům., 37, 1991, s. 199