



[🏠 IVES](#) » [IVES Conference Series](#) » [OIV](#) » [OIV 2024](#) » [Short communications - Oenology, methods of analysis](#) » Correlation between stable isotopic composition of the fungus aspergillus niger and its growth substrate and the extracted chitin

Correlation between stable isotopic composition of the fungus aspergillus niger and its growth substrate and the extracted chitin

Abstract

Wine is one of the most consumed and appreciated beverages in the world. Due to the growing attention paid to consumer health, there is a continuous search for sustainable alternatives to common additives (such as sulfur dioxide) used to preserve wine. An example is represented by chitosan, the main derivative of chitin, approved for the treatment of must and wine since 2009 by the "international organization of vine and wine" (oiv/oen 338a/2009) and by the european commission (ec reg. No. 606/2009). This product can be used in the winemaking field only if of fungal origin, while products obtained from the exoskeleton of crustaceans are not permitted. The methods reported in the oiv monograph to discriminate between the two origins of chitosan are often ineffective or contradictory and the analysis of the stable isotope ratio (sira) of the main bioelements (oxygen $\delta^{18}\text{O}$, hydrogen $\delta^2\text{H}$, carbon $\delta^{13}\text{C}$ and nitrogen $\delta^{15}\text{N}$), already widely used to studying the geographical and botanical origin of foods and food supplements, has also been successfully tested for the characterization of chitosan. The variability ranges of the fungal product for the different isotopic parameters have recently been defined (perini et al., 2020 and claverie et al. 2023) and the inclusion of this analytical method in the polysaccharide monograph has been proposed. To better understand the mechanisms of fungal synthesis of chitin and the chitosan obtained from it by deacetylation, for the first time, in this work the correlation between the isotopic composition of the substrates used for growth, that of the fungus (*aspergillus niger*) and that of the chitin obtained from it was studied. The fungus was fed with four different diets (diet a-d), based on different sources of carbon (glucose having different $\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen (KNO_3 and NH_4Cl having different $\delta^{15}\text{N}$), to verify the differences between the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ isotope ratios of chitin produced and those of the diet followed by the fungus. The variations in the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ isotope ratios of chitin obtained from cultures of *A. niger* on two different substrates (diet a, b) during the various phases of its biosynthesis, between 5 and 12 days, were also monitored. For carbon, the change in $\delta^{13}\text{C}$ (defined as $\delta^{13}\text{C}_{\text{chitin}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{diet}}$) was -6.8‰ and -7.1‰ for diets a and c, respectively, given a C_4 carbon source ($\delta^{13}\text{C} = -10.9$ ‰), and -0.4‰ and 0.6‰ for diets b and d, respectively, given a C_3 carbon source ($\delta^{13}\text{C} = -23.7$ ‰). Regarding

nitrogen, the $\delta^{15}\text{N}$ variation (defined as $\delta^{15}\text{N}_{\text{chitin}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{diet}}$) was -6.9‰ and -3.0‰ for diets a and d, respectively, given KNO_3 ($\delta^{15}\text{N} = 1.3\text{‰}$) as nitrogen source, and $+12.5\text{‰}$ and -3.0‰ for diets b and c respectively, considering NH_4Cl ($\delta^{15}\text{N} = -1.8\text{‰}$) as the nitrogen source. Observing the results of the four samplings performed during the growth phase of the fungus on two different substrates (diet a and b), the $\delta^{13}\text{C}$ reached a constant value from the first sampling of the chitin while the $\delta^{15}\text{N}$ progressively increased during the sampling in diet b and decreased progressively in diet a. To try to understand the phenomenon, various factors were considered, such as the pH of the nutrient solution in which the fungus grows, and the nitrogen sources used.

Correlazione tra composizione isotopica stabile del fungo aspergillus niger e del suo substrato di crescita e della chitina estratta

Il vino è una delle bevande più consumate e apprezzate al mondo. A causa della crescente attenzione rivolta alla salute dei consumatori vi è una continua ricerca di alternative sostenibili ai comuni additivi (come l'anidride solforosa) utilizzati per la conservazione del vino. Un esempio è rappresentato dal chitosano, il principale derivato della chitina, approvato per il trattamento del mosto e del vino dal 2009 dall'organizzazione internazionale della vigna e del vino" (oiv/oeno 338a/2009) e dalla commissione europea (reg. Ce n. 606/2009). Questo prodotto può essere utilizzato in campo enologico solo se di origine fungina, mentre non sono ammessi prodotti ottenuti da esoscheletro di crostacei. I metodi riportati in monografia oiv per discriminare tra le due origini del chitosano sono spesso inefficaci o contraddittori e l'analisi del rapporto isotopico stabile (sira) dei principali bioelementi (ossigeno $\delta^{18}\text{O}$, idrogeno $\delta^2\text{H}$, carbonio $\delta^{13}\text{C}$ e azoto $\delta^{15}\text{N}$), già ampiamente utilizzata per studiare l'origine geografica e botanica di alimenti e integratori alimentari, è stata testato con successo anche per la caratterizzazione del chitosano. Recentemente sono stati definiti gli intervalli di variabilità del prodotto fungino per i diversi parametri isotopici (perini et al., 2020 e claverie et al. 2023) ed è stata proposta l'inclusione di questo metodo analitico nella monografia del polisaccaride. Per meglio comprendere i meccanismi di sintesi fungina della chitina e del chitosano da essa ottenuto per deacetilazione, per la prima volta, in questo lavoro è stata studiata la correlazione tra la composizione isotopica dei substrati utilizzati per la crescita, quella del fungo (aspergillus niger) e quella della chitina da esso ottenuta. Il fungo è stato alimentato con quattro diverse diete (dieta a-d), basate su diverse fonti di carbonio (glucosio avente $\delta^{13}\text{C}$ diverso) e azoto (KNO_3 e NH_4Cl avente $\delta^{15}\text{N}$ diverso), per verificare le differenze tra i rapporti isotopici $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ della chitina prodotta e quelli della dieta seguita dal fungo. Sono state inoltre monitorate le variazioni dei rapporti isotopici $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ della chitina ottenuta da colture di a. Niger su due diversi

substrati (dieta a, b) durante le varie fasi della sua biosintesi, compresa tra 5 e 12 giorni. Per il carbonio, la variazione del $\delta^{13}C$ (definita come $\delta^{13}C_{chitin} - \delta^{13}C_{diet}$) è stata -6,8‰ e -7,1‰ per le diete a e c, rispettivamente, data una fonte di carbonio C_4 ($\delta^{13}C = -10,9$ ‰), e -0,4‰ e 0,6‰ per le diete b e d, rispettivamente, data una fonte di carbonio C_3 ($\delta^{15}N = -23,7$ ‰). Per quanto riguarda l'azoto, la variazione $\delta^{15}N$ (definita come $\delta^{15}N_{chitin} - \delta^{15}N_{diet}$) è stata -6,9‰ e -3,0‰ per le diete a e d, rispettivamente, dato KNO_3 ($\delta^{15}N = 1,3$ ‰) come fonte di azoto, e +12,5‰ e -3,0 ‰ rispettivamente per le diete b e c, considerando NH_4Cl ($\delta^{15}N = -1,8$ ‰) come fonte di azoto. Osservando i risultati dei quattro campionamenti eseguiti durante la fase di crescita del fungo su due diversi substrati (dieta a e b), il $\delta^{13}C$ raggiungeva un valore costante fin dal primo campionamento della chitina mentre il $\delta^{15}N$ aumentava progressivamente durante il campionamento nella dieta b e diminuiva progressivamente nella dieta a. Per cercare di comprendere il fenomeno sono stati considerati diversi fattori, come il pH della soluzione nutritiva in cui cresce il fungo, e le fonti di azoto utilizzate.

взаимосвязь стабильного изотопного состава гриба *aspergillus niger* с его ростовым субстратом и экстрагируемым хитином

Вино – один из самых потребляемых и ценимых напитков в мире. В связи с растущим вниманием, уделяемым здоровью потребителей, ведется постоянный поиск устойчивых альтернатив обычным добавкам (таким как диоксид серы), используемым для консервирования вина. Примером может служить хитозан, основное производное хитина, одобренный для обработки суслу и вина с 2009 года «международной организацией винограда и вина» (oiv/oen 338a/2009) и европейской комиссией (ec reg. № 606/2009). Этот продукт можно использовать в винодельческой сфере только в том случае, если он имеет грибковое происхождение, в то время как продукты, полученные из экзоскелета ракообразных, не допускаются. Методы различения двух источников хитозана, представленные в монографии oiv, часто неэффективны или противоречивы, а анализ соотношения стабильных изотопов (*sira*) основных биоэлементов (кислорода $\delta^{18}O$, водорода δ^2H , углерода $\delta^{13}C$ и азота $\delta^{15}N$) уже широко используемый для изучения географического и ботанического происхождения продуктов питания и пищевых добавок, он также был успешно протестирован для характеристики хитозана. Недавно были определены диапазоны изменчивости грибного продукта для различных изотопных параметров (перини и др., 2020 и клавери и др., 2023), и было предложено включение этого аналитического метода в монографию по полисахаридам. Для лучшего понимания механизмов грибного синтеза хитина и хитозана, полученного из него

деацетилированием, в данной работе впервые была изучена корреляция между изотопным составом субстратов, используемых для роста, и гриба (*asperigillus niger*). И полученного из него хитина. Грибу давали четыре разных рациона (диета α -d), основанных на разных источниках углерода (глюкоза с разным $\delta^{13}\text{C}$) и азота (KNO_3 и NH_4Cl с разным $\delta^{15}\text{N}$), чтобы проверить различия между соотношениями изотопов $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ образующегося хитина и те из диеты, за которой следует гриб. Также отслеживали изменения изотопных соотношений $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ хитина, полученного из культур *A. Niger* на двух разных субстратах (диета а, б) в разные фазы его биосинтеза, от 5 до 12 дней. Что касается углерода, изменение $\delta^{13}\text{C}$ (определяемого как $\delta^{13}\text{C}_{\text{chitin}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{diet}}$) составило -6,8‰ и -7,1‰ для рационов α и γ соответственно, учитывая источник углерода C_4 ($\delta^{13}\text{C} = -10,9\text{‰}$), и -0,4‰ и 0,6‰. Для рационов β и δ соответственно с учетом источника углерода C_3 ($\delta^{15}\text{N} = -23,7\text{‰}$). Что касается азота, вариация $\delta^{15}\text{N}$ (определяемая как $\delta^{15}\text{N}_{\text{chitin}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{diet}}$) составляла -6,9‰ и -3,0‰ для рационов α и δ соответственно, учитывая KNO_3 ($\delta^{15}\text{N} = 1,3\text{‰}$) в качестве источника азота, и +12,5‰ и -3,0‰. Для рационов β и γ соответственно, рассматривая NH_4Cl ($\delta^{15}\text{N} = -1,8\text{‰}$) в качестве источника азота. Наблюдая за результатами четырех отборов проб, выполненных во время фазы роста гриба на двух разных субстратах (диета α и β), $\delta^{13}\text{C}$ достиг постоянного значения с момента первого отбора хитина, тогда как $\delta^{15}\text{N}$ постепенно увеличивался во время отбора проб на диете β . И постепенно снижался в диете α . Чтобы попытаться понять это явление, были рассмотрены различные факторы, такие как pH питательного раствора, в котором растет гриб, и используемые источники азота.

Publication date: November 18, 2024

Issue: OIV 2024

Type: Article

Authors

Matteo Perini¹, Raffaele Guzzon¹, Francesca Violardo¹, Silvia Pianezze¹, Roberto Larcher¹

¹ Fondazione Edmund Mach, Via E. Mach n. 2, San Michele all'Adige (Trento), Italy

Contact the author*

matteo.perini@fmach.it

Tags

IVES Conference Series | OIV | OIV 2024

Citation

Copy Citation

APA 6th Edition

Matteo Perini, Raffaele Guzzon, Francesca Violardo, Silvia Pianezze, Roberto Larcher (2024). Correlation between stable isotopic composition of the fungus aspergillus niger and its growth substrate and the extracted chitin. *IVES Conference Series, OIV 2024*.