



## تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز، نیترات سدیم و سولفات روی بر میزان تولید رنگینه توسط *موناسکوس پریپورئوس*

محسن صابری نجفی<sup>۱\*</sup>، خلیل ملک‌زاده<sup>۱</sup>، مجید عزیزی<sup>۲</sup>

۱- مری، جهاد دانشگاهی، گروه زیست فناوری قارچ‌های صنعتی، مشهد، ایران، صندوق پستی: ۹۱۷۷۵-۱۳۷۶

۲- دانشیار، گروه باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران، صندوق پستی: ۹۱۷۷۵-۱۱۶۳

تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۲۱ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۱۵ در دسترس به صورت الکترونیکی از: ۱۳۹۰/۹/۲۰

### چکیده

در سال‌های اخیر مطالعات فراوانی بر روی محیط‌های کشت مناسب رشد قارچ *موناسکوس پریپورئوس* به منظور ایجاد شرایط مناسب در فرآیند افزایش تولید رنگینه، صورت گرفته است. در این پژوهش میزان تولید رنگینه و بیوماس توسط *موناسکوس پریپورئوس* (DSMZ 1603) با استفاده از سه سطح نیترات سدیم (۰، ۱، ۳ و ۴،۵ گرم در لیتر) ۵ سطح ساکارز (۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰ و ۱۷۵ گرم در لیتر) در قالب طرح فاکتوریل و پنج سطح سولفات روی (۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) در قالب طرح کاملاً تصادفی بررسی شد. تیمارهای کشت شده در محیط مایع درون انکوباتور شیکردار در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. براساس نتایج، تولید رنگینه‌ها با افزایش سطح ساکارز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت اما با افزایش سطح نیترات سدیم افزایش معنی‌داری نداشت. بیشترین تولید رنگینه در سطح ۱۷۵ گرم در لیتر ساکارز همراه با ۳ گرم در لیتر نیترات سدیم، مشاهده شد. علاوه بر این بیشترین مقدار بیوماس در غلظت ۱۷۵ گرم در لیتر ساکارز همراه با ۴،۵ گرم در لیتر نیترات سدیم مشاهده گردید. همچنین نتایج نشان داد، تولید رنگ با افزایش سطح سولفات روی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد به طوری که بیشترین مقدار تولید رنگینه‌ها در تیمار بدون سولفات روی به دست آمد.  
واژه‌های کلیدی: *موناسکوس پریپورئوس* (DSMZ 1603)، رنگینه طبیعی، متابولیت‌های قارچی.

## Effect of Sodium Nitrate, Saccharose and Zinc Sulfate Concentration on Pigment Production by *Monascus purpureus*

M. Saberi nadjafi<sup>1\*</sup>, K. Malekzadeh<sup>1</sup>, M. Azizi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Industrial Fungi Biotechnology, Academic Center For Education, Culture & Research (ACECR), P.O. Box: 91775-1376, Mashhad branch, Iran

<sup>2</sup> Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, P.O. Box: 91775-1163, Mashhad, Iran

Received: 11-09-2010

Accepted: 6-03-2011

Available online: 11-12-2011

### Abstract

In recent years, numerous studies have been conducted on *monascus* growth media to optimize different conditions of pigment production in this fungus. In this research, biomass and pigment production of *Monascus purpureus* strain DSMZ 1603 was studied using three levels of sodium nitrate (1.5, 3 and 4.5 g/l) and five levels of saccharose (75, 100, 125, 150 and 175 g/l) in a factorial design and five levels of zinc sulfate (0, 5, 10, 15, 20 mg/l) in a completely randomized design. Treatments were cultured in a broth medium at 25 °C and 150 rpm rotating shaker. The results showed pigment production was enhanced significantly by increasing the saccharose level whereas the effect of sodium nitrate was not significant on the pigment production. The highest rate of pigment production was induced in 175 g/l saccharose with 3 g/l sodium nitrate. The highest biomass produced in the medium contained 175 g/l saccharose with 4.5 g/l sodium nitrate. The results showed pigment production decreased significantly by increasing the levels of zinc sulfate while the highest rate of pigment production was induced in the medium without zinc sulfate. *J. Color Sci. Tech.* 5(2011), 199-206 © Institute for Color Science and Technology.

**Keywords:** *Monascus purpureus* (DSMZ 1603), Natural pigment, Fungal metabolites.

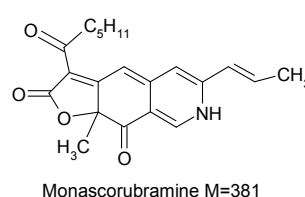
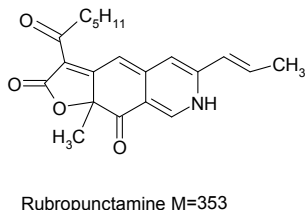
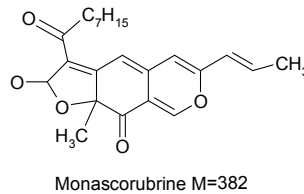
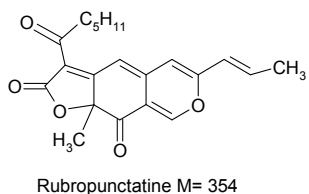
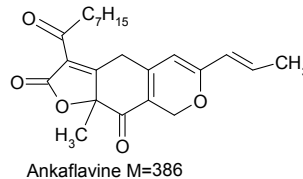
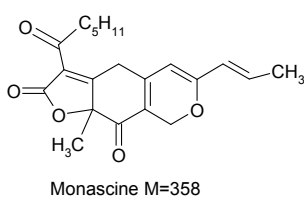
## ۱- مقدمه

گونه موناסקوس پرپورئوس<sup>۱</sup> متعلق به خانواده موناکاسه<sup>۲</sup> و شاخه آسکومایکوتا<sup>۳</sup> می باشد و جزء کپک های واقعی محسوب می شود. جنس موناסקوس اولین بار توسط دانشمندان آلمانی جدا و طبقه بندی گردید. در کاتالوگ ATCC، ۹ گونه و ۷۵ سویه موناסקوس لیست شده است که از این تعداد ۲۱ سویه مربوط به گونه موناסקوس پرپورئوس می باشد [۱-۳].

کپک های جنس موناסקوس متابولیت های مختلفی تولید می کنند که بیشتر ساختار پلی کتیدی<sup>۴</sup> دارند. این متابولیت ها شامل رنگینه ها<sup>۵</sup>، موناکولین ها<sup>۶</sup>، لواستاتین<sup>۷</sup>، موکوروئیک<sup>۸</sup> و سم قارچی به نام سیتیرنین<sup>۹</sup> می باشند. [۱-۵]

رنگینه های تولید شده توسط این کپک (شکل ۱) مخلوطی از رنگ های متفاوت می باشد که عبارتند از: رنگ های نارنجی (Monascorubrin و Rubropunctatin)، زرد (Monascin و Ankaflavin) و قرمز (Monascorubramin و Rubropunctamin) [۵].

شناخت و استفاده از رنگینه های موناסקوس به ۲۸۰۰ سال پیش در چین برمی گردد. اولین بررسی ها در ارتباط با خواص رنگینه های موناסקوس پرپورئوس در یک کتاب علمی که ۲۰۰۰ سال قبل نگارش شده است موجود می باشد که کاربرد رنگینه ها به عنوان یک ماده رنگی و دارویی برای درمان بیماری های مختلف ذکر شده است. از قرن هشتم میلادی به بعد این رنگینه با نام RYR<sup>۱۰</sup> به عنوان یک ماده غذایی- دارویی در چین و شرق آسیا استفاده شده است [۹-۱۱]. در اروپا و امریکا علاوه بر استفاده از رنگ تولید شده توسط موناסקوس از متابولیت موناکولین آن در داروهای کاهش چربی و کلسترول خون



شکل ۱: ساختار مولکولی رنگ های موناסקوس پرپورئوس (۵).

استفاده می شود [۱۱-۴].

در کشورهای آسیای شرقی به طور سنتی موناסקوس را بر روی دانه های برنج سفید بخار داده شده، پرورش می دهند و بعد از رشد و تولید رنگ، آن را پودر و عرضه می نمایند، بنابراین دخالت در میزان تولید رنگ میسر نمی باشد. در سال های اخیر به منظور ایجاد شرایط مناسب در فرآیند افزایش تولید رنگینه، مطالعات فراوانی بر روی محیط های کشت مناسب رشد این کپک صورت گرفته [۷،۸،۱۲] و نتایج آنها نشان داده است که میزان، نوع و کیفیت رنگینه تولید شده در گونه موناסקوس پرپورئوس تحت تأثیر عواملی از قبیل نوع سویه، pH محیط کشت، رطوبت، سرعت رشد سویه، درجه حرارت و منبع کربن و ازت قرار دارد [۵].

در این پژوهش غلظت های مختلف نیترا تسدیم، ساکارز و سولفات روی در یک محیط کشت پایه به منظور معرفی محیط کشتی که بتواند کارایی تولید رنگینه را در این کپک افزایش دهد، مورد ارزیابی قرار گرفته است. همچنین ادامه پروژه تا مرحله تجاری سازی در جهاد دانشگاهی مشهد و دانشگاه فردوسی در حال انجام می باشد.

- 1- Monascus purpureus
- 2- Monascaceae
- 3- Ascomycota
- 4- Polyketides
- 5- Pigments
- 6- Monacolins
- 7- Lovastatin
- 8- Mevacoric
- 9- Citrinin
- 10- Red Yeast Rice

## ۲- بخش تجربی

### ۱-۲-۱ مواد

سویه ۱۶۰۳ موناکوس پرپورئوس از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌ها و کشت سلولی DSMZ<sup>۱</sup> تهیه و استفاده گردید. سویه ابتدا بر روی محیط کشت پیشنهادی مرکز، محیط کشت YpS<sub>8</sub>، کشت و فعال گردید. نمک‌ها و ترکیبات محیط‌های کشت از شرکت مرک خریداری شد.

### ۲-۲-۲ روش کار

#### ۱-۲-۲-۱ محیط کشت بذری

محیط کشت بذری جهت تلقیح کشت‌های اصلی شامل ترکیبات ۰٫۲٪، عصاره مخمر، ۰٫۱٪ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>، ۰٫۵٪ MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O، ۰٫۵٪ FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O، ۰٫۵٪ کاز آمینو اسید، ۰٫۵٪ KCl، ۰٫۰۱٪ FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O و ۰٫۲٪ NaNO<sub>3</sub> / ۰٫۵٪ ساکارز و در pH=۶ تهیه گردید. ۵۰ میلی‌لیتر از محیط تهیه شده در ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و ضد عفونی گردید. برای تلقیح محیط کشت بذری، یک ظرف پتری از کشت چهارده روزه که اسپور تشکیل داده بود با آب مقطر ضد عفونی شستشو داده شد تا اسپورها جدا شوند و چند میلی‌لیتر از آن به طوری که غلظت اسپور در محیط نهایی ۱۰<sup>۵</sup> اسپور در میلی‌لیتر باشد تلقیح شد و به مدت ۴۸-۴۰ ساعت درون انکوباتور شیکردار در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شدند.

#### ۲-۲-۲-۲ محیط کشت اصلی

#### ۱-۲-۲-۲-۱ تیمار ساکارز و نیترات سدیم

محیط پایه شامل ترکیبات ۰٫۲ درصد عصاره مخمر، ۰٫۱٪ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>، ۰٫۵٪ MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O، ۰٫۵٪ کاز آمینو اسید، ۰٫۵٪ KCl، ۰٫۰۱٪ FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O بود. محیط کشت تیمارها در پنج سطح ساکارز ۰٫۵، ۱٫۰، ۱٫۲، ۱۵ و ۱۷٫۵٪ و سه سطح ۰٫۱۵، ۰٫۳ و ۰٫۴۵٪ نیترات سدیم در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی در چهار تکرار و به حجم ۲۵ میلی‌لیتر درون ویال‌های ۱۲۵ میلی‌لیتری تهیه گردید. اسیدیته تمام محیط‌های کشت روی pH=۶ تنظیم گردید و استریل شدند. محیط‌ها با ۴۰۰ میکرولیتر از محیط کشت بذری حاوی ۱۰<sup>۵</sup> اسپور در میلی‌لیتر تلقیح شدند و به مدت دو هفته در شیکر انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفتند.

1- Deutsche Sammlung Von Mikroorganism Und Zellkulturen GmbH

### ۲-۲-۲-۲ تیمار سولفات روی

محیط‌ها شامل ترکیبات ۰٫۲ درصد عصاره مخمر، ۰٫۱٪ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>، ۰٫۵٪ FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O، ۰٫۳٪ نیترات سدیم و ۱۷٫۵٪ ساکارز و ۵ سطح ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O در پنج تکرار و در حجم ۲۰ میلی‌لیتر درون ویال‌های ۱۲۵ میلی‌لیتری تهیه گردید و در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. بعد از ضد عفونی کردن نمونه‌ها، ویال‌ها با ۴۰۰ میکرولیتر از محیط بذری حاوی ۱۰<sup>۵</sup> اسپور بر میلی‌لیتر تلقیح گردید و به مدت دو هفته درون انکوباتور شیکردار در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شد.

### ۲-۲-۳ جداسازی رنگینه‌ها

به منظور جداسازی رنگینه‌ها و محلول نمودن آنها، چهارده روز بعد از تلقیح نمونه‌ها، هم حجم محیط کشت درون ویال‌ها اتانول ۹۶ درصد اضافه گردید و به مدت ۲ ساعت بر روی شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن فاز مایع از بیوماس جدا گردید. برای اندازه‌گیری غلظت رنگینه‌ها از اسپکتروفوتومتر CECIL (مدل CE 2021) استفاده گردید و طول موج‌های ۴۰۰، ۴۶۰ و ۵۰۰ نانومتر به ترتیب برای تخمین رنگینه‌های زرد، نارنجی و قرمز قرائت شد [۱۳، ۱۴]. برای اندازه‌گیری وزن خشک بیوماس کاغذهای صافی حاوی بیوماس درون آون ۷۵ درجه خشک و سپس وزن آن‌ها اندازه‌گیری گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و آزمون مقایسه میانگین حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) توسط نرم افزار JMP4 انجام شد و نمودارها به کمک نرم‌افزار اکسل رسم گردید.

## ۳- نتایج و بحث

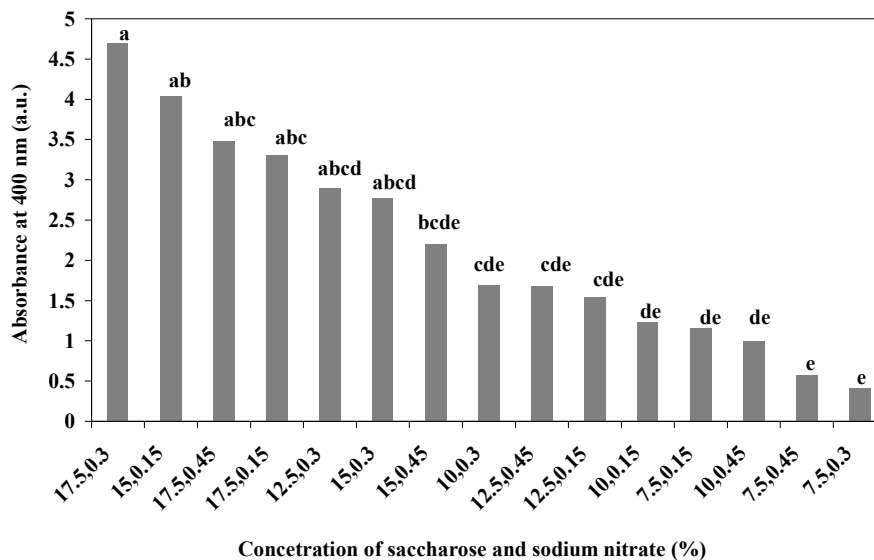
### ۱-۳-۱ تیمار ساکارز و نیترات سدیم

تجزیه و تحلیل عوامل آزمایش معنی‌دار بودن آزمایش را در سطح ۵ درصد نشان داد. بررسی اثر هر یک از عوامل نشان داد تغییر سطوح نیترات سدیم در افزایش تولید هر سه رنگینه زرد، نارنجی و قرمز اثر معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارد ولی افزایش مقدار ساکارز باعث افزایش مقدار هر سه رنگینه گردیده است. به طوری که بیشترین مقدار رنگینه تولیدی در سطح ۱۷٫۵٪ ساکارز به دست آمد. همچنین تأثیر اثرات متقابل نشان داد که تیمار سطح ۱۷٫۵٪ ساکارز همراه با ۰٫۳٪ نیترات سدیم بالاترین مقدار هر سه رنگینه را تولید نموده است (شکل ۲، ۳ و ۴).

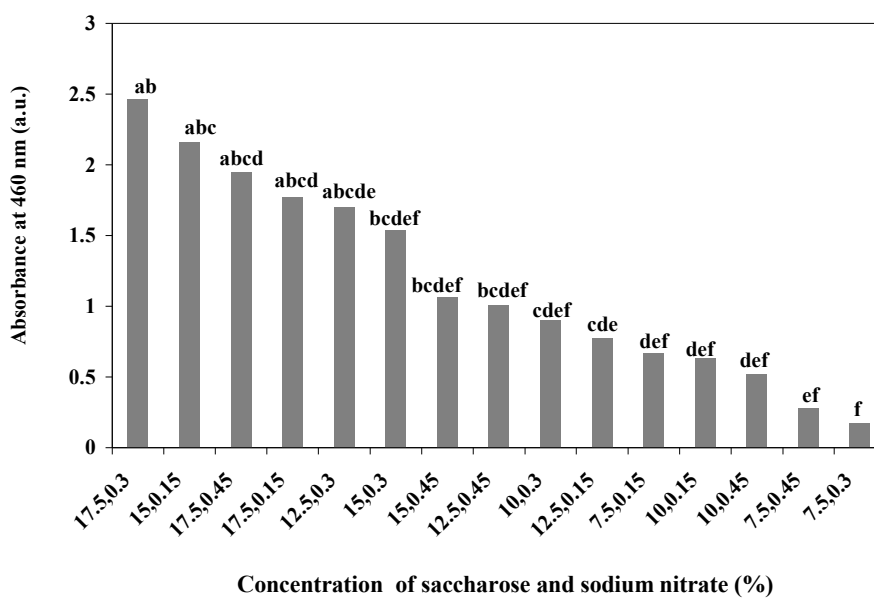
بیشترین مقدار بیوماس در سطح ۱۷٫۵٪ ساکارز با سطوح مختلف نیترات سدیم به دست آمد (شکل ۵) و نشان داد که سطوح مختلف ساکارز در مقدار بیوماس تغییر معنی‌داری ایجاد کرده است. نتایج آزمون همبستگی نشان داد بین تولید هر سه رنگینه

موناسکوس پریپروئوس به منظور افزایش تولید رنگ تأیید نموده [۲۰-۱۴، ۱۱] و غلظت ۵۰-۱۰ گرم در لیتر را برای دستیابی به بازده مطلوب در تولید رنگینه توصیه نموده‌اند.

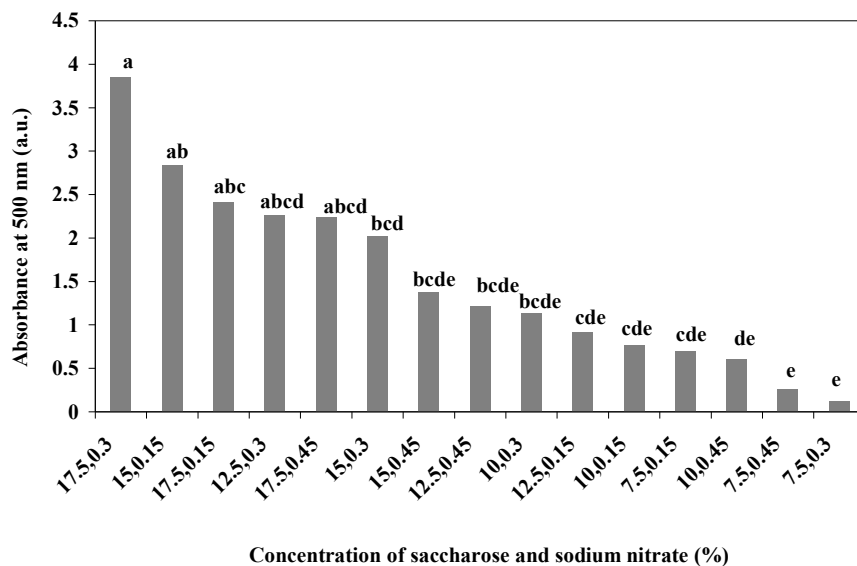
همبستگی بسیار معنی‌داری وجود دارد ولی بین بیوماس میکروبی و تولید رنگینه همبستگی کامل وجود ندارد. بسیاری از محققین استفاده از ساکارز را در محیط کشت



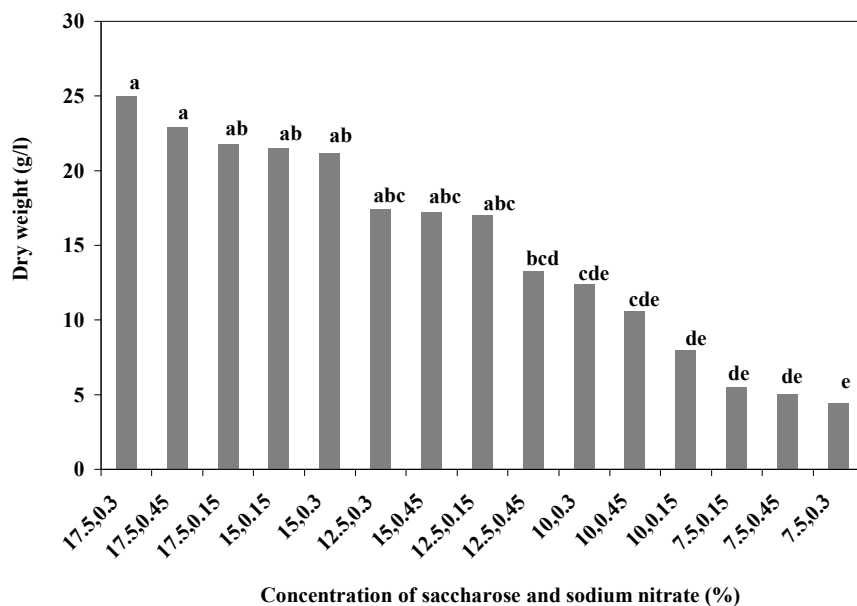
شکل ۲: اثر سطوح مختلف ساکارز همراه با نیترات سدیم بر تولید رنگینه زرد (حروف a,b,c,e مربوط به دسته‌بندی گروه‌های آماری است).



شکل ۳: اثر سطوح مختلف ساکارز همراه با نیترات سدیم بر تولید رنگینه نارنجی (حروف a,b,c,e,f مربوط به دسته‌بندی گروه‌های آماری است).



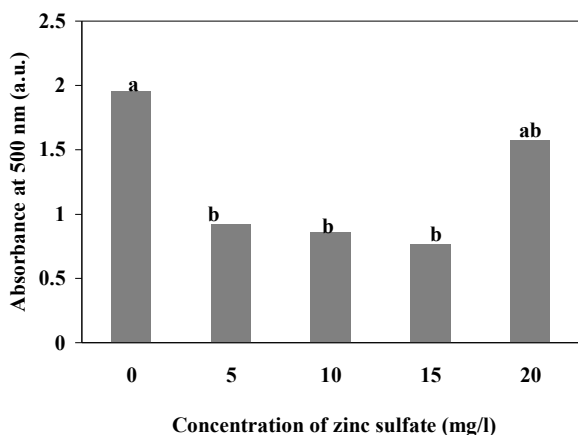
شکل ۴: اثر سطوح مختلف ساکارز همراه با نیترات سدیم بر تولید رنگینه قرمز (حروف a,b,c,e مربوط به دسته‌بندی گروه‌های آماری است).



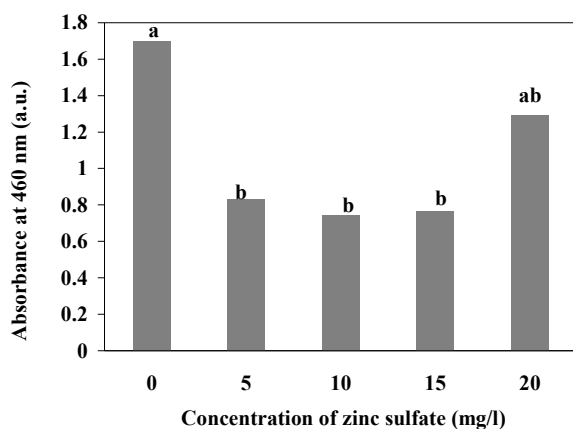
شکل ۵: اثر تیمارهای مختلف ساکارز همراه با نیترات سدیم بر تولید بیوماس (حروف a,b,c,e مربوط به دسته‌بندی گروه‌های آماری است).

همکاران [۱۶] و جان و همکاران [۲۳] یکسان می‌باشد. ضمن آنکه افزایش ساکارز به میزان ۱۷٫۵ گرم درصد همراه با ۰٫۳ گرم درصد نیترات سدیم می‌تواند به عنوان ترکیب برتر در تولید رنگینه‌های قرمز، نارنجی و زرد معرفی شود [۲۴]. علاوه بر این با افزایش درصد ساکارز مقدار بیوماس افزایش داشت و بیشترین مقدار بیوماس نیز در غلظت ۱۷٫۵ گرم درصد حاصل شد. ضمن آنکه بالاترین مقدار بیوماس در سطوح ۰٫۳ و ۰٫۴۵ گرم درصد نیترات سدیم همراه با ۱۷٫۵ گرم درصد ساکارز مشاهده گردید. لذا از آنجا که کربن و نیتروژن نقش

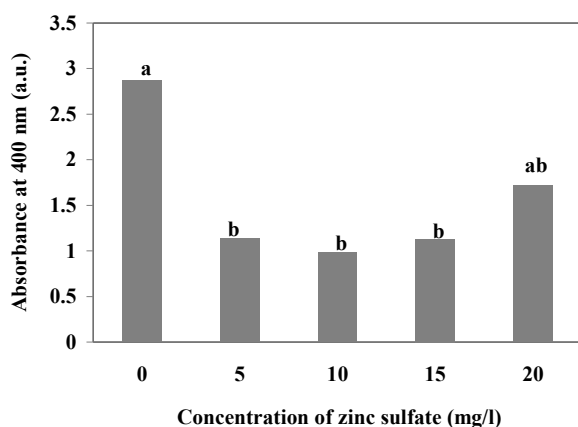
مطالعه حاضر نشان داد که مناسب‌ترین غلظت برای دستیابی به حداکثر مقدار رنگینه در محیط کشت مونسکوس پرپورئوس مقدار ۱۷٫۵ گرم درصد می‌باشد. همچنین در خصوص تأثیر میزان نیترات سدیم بر تولید رنگینه با توجه به نتایج لی و همکاران [۲۱] که استفاده از ۰٫۱۵ گرم درصد و بونیاپرانال و همکاران [۱۳] و وانگ و همکاران [۲۲] که استفاده از ۰٫۵ گرم درصد توصیه نموده‌اند، تحقیقات این پروژه مقدار ۰٫۳ گرم درصد را به عنوان غلظت مطلوب در تولید حداکثر مقدار رنگینه توصیه می‌نماید که با نتایج صابری و



شکل ۷: اثر سولفات روی بر تولید رنگینه قرمز (حروف a,b مربوط به دسته‌بندی گروه‌های آماری است).



شکل ۸: اثر سولفات روی بر تولید رنگینه نارنجی (حروف a,b مربوط به دسته‌بندی گروه‌های آماری است).

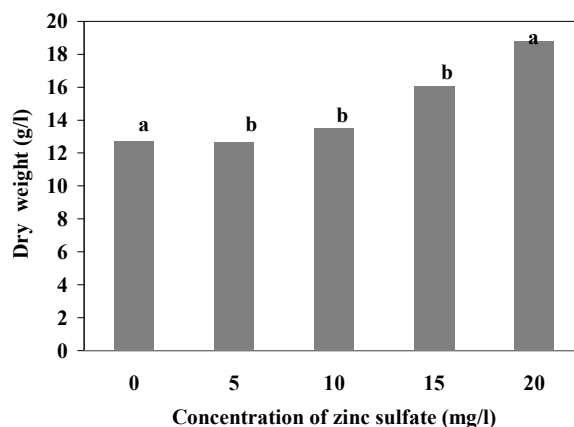


شکل ۹: اثر سولفات روی بر تولید رنگینه زرد (حروف a,b مربوط به دسته‌بندی گروه‌های آماری است).

بسیار تعیین‌کننده‌ای در متابولیسم سلولی و تولید رنگینه در کپک موناسکوس پرپورئوس دارند بنابراین بدیهی است که نوع و غلظت مناسب منابع مذکور در میزان تولید رنگینه بسیار تأثیرگذار باشند. بخصوص آنکه چگونگی تولید رنگ نیز باید به لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه باشد. این منابع باید بتوانند اسپورسازی را حمایت و رشد را محدود و تولید رنگینه را افزایش دهند. ضمن آنکه نباید از نظر دور داشت که چون نسبت کربن به ازت (C/N) نیز در تولید رنگ بسیار اهمیت دارد، لذا انتخاب این دو منبع به طوری که بتوانند اثر هم‌افزایی در تولید رنگینه داشته باشند بسیار ضروری است. به همین دلیل با توجه به نتایج این پژوهش، توصیه می‌گردد که برای دستیابی به اقتصادی‌ترین حالت تولید رنگینه از دو منبع ساکارز و نیترات سدیم بعنوان منابع کربن و نیتروژن با نسبت مطلوب ۳:۱۷۵ گرم در لیتر به عنوان ترکیب برتر در تولید رنگینه‌های قرمز، نارنجی و زرد استفاده گردد. توصیه می‌شود که در هنگام در نظر گرفتن شرایط لازم برای تولید رنگینه در فرایندهای مختلف تخمیر (کشت غوطه‌ور- کشت حالت جامد و حتی روش سنتی) ارتباط مؤثر این دو منبع را در نظر داشته و مرتباً نسبت توصیه شده کنترل شود.

### ۳-۲- تیمار سولفات روی

تجزیه و تحلیل عوامل آزمایش معنی‌دار بودن آزمایش را در سطح ۵ درصد نشان داد. با افزایش غلظت سولفات روی مقدار بیوماس نیز افزایش نشان داد به طوری که بیشترین مقدار بیوماس در سطح ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد ولی با افزایش مقدار سولفات روی تولید هر سه رنگینه قرمز، نارنجی و زرد کاهش پیدا کرد به طوری که بیشترین مقدار رنگینه در تیمار بدون سولفات روی به دست آمد (شکل ۶، ۷، ۸ و ۹).



شکل ۶: اثر سطوح سولفات روی بر تولید بیوماس (حروف a,b مربوط به دسته‌بندی گروه‌های آماری است).

معنی‌داری مهار اما تولید رنگینه و فعالیت ضد باکتریایی به مقدار زیادی پیشرفت می‌کند. البته افزایش غلظت گلوکز در پیشرفت تولید رنگینه و آنتی‌بیوتیک مؤثر می‌باشد [۲۸].

با وجود آنکه فلزات سنگینی مثل روی به مقدار ناچیز برای حیات قارچ‌ها ضروری به نظر می‌رسند اما اکثراً دارای اثرات مهاری و سمی می‌باشند. زیرا با اتصال به پروتئین‌هایی که اغلب نقش آنزیمی دارند باعث اختلال در متابولیسم قارچ‌ها می‌شوند. نتایج این پژوهش نیز نشان داد که در هنگام فراهم نمودن شرایط لازم برای تولید رنگینه در سامانه کشت در صورتی که از روی استفاده شود به دلیل افزایش مقدار بیوماس، و کاهش قابل توجه تشکیل اسپور تولید رنگ متوقف خواهد شد. لذا توصیه می‌شود در هنگام فراهم نمودن شرایط بهینه دستیابی به بالاترین بازده تولید رنگینه در محیط کشت از بستر فاقد روی استفاده گردد.

#### ۴- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که در هنگام در نظر گرفتن شرایط لازم برای تولید مناسب رنگینه در فرآیندهای مختلف تخمیر (کشت غوطه‌ور- کشت حال جامد و حتی روش سنتی) ارتباط مؤثر ساکارز و نیترات سدیم را به عنوان دو منبع کربن و نیتروژن باید در نظر داشت و مرتباً نسبت ۳:۱۷۵ گرم درلیتر را به عنوان ترکیب برتر در تولید رنگینه‌های قرمز، نارنجی و زرد کنترل نمایند تا بتوانند بالاترین بازده تولید رنگینه را داشته باشند. همچنین استفاده از سولفات روی به دلیل افزایش مقدار بیوماس و کاهش قابل توجه تشکیل اسپور موجب توقف تولید رنگینه‌ها خواهد شد.

در بسیاری از پژوهش‌ها شرایط محیطی مطلوب برای رشد جنس موناسکوس از جمله ارتباط مؤثر منابع مختلف کربن و نیتروژن تحت شرایط متفاوتی از کشت بررسی شده است. این تحقیقات تاکنون ادامه داشته و تأثیر عوامل مختلف از جمله pH، عناصر کمیاب، و ... را مورد بررسی قرار داده‌اند [۲۳]. در خصوص اثر عنصر روی بر افزایش تولید رنگینه در موناسکوس پرپورئوس بسیاری از محققین از جمله جانسون [۲] و مکهان [۲۵] افزایش رشد و تولید رنگینه را در حضور روی تأیید نموده‌اند و همچنین ذکر گردیده است اضافه کردن روی موجب کاهش بیوماس و افزایش تولید رنگینه می‌شود [۲، ۲۲، ۲۶، ۲۷]. اما در مطالعه حاضر نتایج متفاوتی بدست آمد به طوری که مشخص شد افزایش مقدار سولفات روی موجب افزایش بیوماس در سطوح ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم درلیتر و کاهش تولید رنگینه‌های قرمز، نارنجی و زرد شده و بیشترین مقدار تولید رنگ در تیمار بدون سولفات روی صورت می‌گیرد. به طوری که در سطح ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین مقدار بیوماس بدست می‌آید. این نتیجه با تحقیقات ان‌جی و همکاران [۱۵] مطابقت داشته و با سایر تحقیقاتی که ذکر گردید متفاوت است. دلیل این مغایرت‌ها می‌تواند متفاوت بودن منابع کربن، نیتروژن، سوبیه مورد استفاده و یا غلظت‌های انتخاب شده باشد [۱۵].

بائو و ونگ معتقد بودند روی در غلظت‌های  $2 \times 10^{-3}$  M و  $3 \times 10^{-3}$  M در محیط مایع تقریباً رشد سوبیه، تولید رنگینه و آنتی‌بیوتیک را متوقف می‌نماید. در صورتی که با همین غلظت مشاهده می‌شود که رشد نسبتاً شدید، تولید رنگینه بالا و فعالیت ضد باکتریایی قوی وجود دارد. ضمناً غلظت کمتر از  $2 \times 10^{-3}$  M روی در محیط کشت تأثیر بسیار کمی دارد و در غلظت  $5 \times 10^{-5}$  M رشد به طور

#### ۵- مراجع

- O. Erdogru, S. Azirak, Reviv of the studies on the red yeast rice (*Monascus purpureus*). *Turk. Electr. J. Biotechnol.* 2(2004), 37-49.
- G. T. Johnson, F. Mchan, Some effects of zinc on the utilization of nitrogen sources by *Monascus purpureus*. *Mycologia.* 67(1975), 806-816
- G. J. Lauro, J. Francis, Natural food colorants, science and technology. Marsel Dekker, Inc., NewYork. 2000, 32-73.
- D. J. Carvalho, B. O. Oishi, A. Pandey, C. R. Soccol, Biopigments from *Monascus*: Strains selection, citrinin production and color stability. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 48(2005), 885-894.
- M. Schmitt, P. Blance, Innovative Aspects in Biotechnology of Eukaryotes: Biotechnology of Fungi. BiolNEP published series., National bank for industrial microorganisms and cell cultures. 2001, 30-45.
- S. Babitha, Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Microbial Pigments. Springer, Inc., U.K. 2009, 148-160.
- J. Chen, Red yeast rice: Rediscovery of an ancient herb. *Acupuncture Today.* 05(2004), 1-4.
- K. Chen, T. T. Chen, Chinese Medical Herbology and Pharmacology. Art of Medicine Press, Inc., USA. 2004, 52-72.
- Y. L. Lin, L. T. Wang, M. H. Lee, Biologically active components and nutraceuticals in the *Monascus*-fermented rice: A review. *Appl. Microbiol. Biotech.* 77(2008), 965-973.
- C. Lung Kao, Study on the flavor of red rice chiew effected by the addition of *Monascus*, yeast Strains, and Culture temperature. M.Sc. Thesis, Tatung University, Taiwan, 2004.
- P. Pattanagul, R. Pinthong, A. Phianmongkhol, N. Leksawasdi, Reviv of angkak production (*Monascus purpureus*). *Chiang Mai J.Sci.* 34(2007), 319-328.
- F. Dlgado-Vargas, O. Paredes-Lopes, Natural colorants for food and nutraceutical uses. CRC Press Inc., USA. 2003, 248-250.
- K. BoonyaPanai, R. TungProdit, S. LhieochaiPhant, S. Phutrakul, Optimization of submerged culture for the



- production of naphthoquinones pigment by *Fusarium verticillioides*. *Chiang Mai J. Sci.* 35(2008), 457-466.
14. S. Babitha, C. R. Soccol, A. Pandey, Jackfruit seed- A novel substrat for the production of *Monascus* pigments through solid-state fermentation. *Food Technol. Biotechnol.* 44(2006), 465-471.
  15. C. C. Ng, F. sheu, C. L. wang, Y. T. shyu, Fermentation of *Monascus purpureus* on agri-by-Products to make colorful and functional bacterial cellulose (Nata) food. FFTC (Food and Fertilizer Technology Center for Asia and Pacific Region. available online at <http://www.agnet.org/library/tb/168/tb168.pdf>, 2004.
  16. M. Saberi Nadjafi, The ability of different media to support the growth and the yield of pigment production in *Monascus purpureus*. The agriculture and resources natural group of ACECR, code number: 1092-10, 2006.
  17. L. Dufosse, P. Galaup, A. yaron, S.M. Arad, P. Blance, K. Murthy, G. Ravishankar, Microorganism and microalgae as sources of pigments for food use: A scientific oddity or an industrial reality? *Trends Food Sci. Technol.* 16(2005), 389-406.
  18. H. S. Lim, S. K. Yoo, C. S. shin, Y. M. Hyun, *Monascus* red pigment over production by coculture with recombinant *Saccharomyces cerevisiae* secreting glucoamylase. *J. Microbiol.* 38(2000), 48-51.
  19. D. Ochaikul, K. Chotirittikrai, J. chantra, S. Wutigornsombatkul, Studies on fermentation of *Monascus purpureus* TISTR 3090 with bacterial cellulose from *Acetobacter xylinum* TISTR 967. *Kmitl Sci. Tech. J.* 6(2006),13-17.
  20. C. S. Shin, H. J. Kim, M. J. Kim, J. Y. Ju, Morphological change and enhanced pigment production of *Monascus* when cocultured with *Saccharomyces cerevisiae* or *Aspergillus oryzae*. *Biotechnol. Bioeng.* 59(1998), 576-581.
  21. B. K. Lee, N. H. Park, H. Y. Piao, W. J. chung, Production of red pigments by *Monascus purpureus* in submerged culture. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 6(2001), 341-346.
  22. H. C. Wong, Y. C. Lin, P. E. koehler, Regulation of growth and pigmentation of *Monascus purpureus* by carbon and nitrogen concentration. *Mycologia.* 73(1981), 649-654.
  23. M. R. Johns, D. M. Stuart, Production of pigments by *Monascus purpureus* in solid culture. *J. Ind. Microbiol.* 8(1991), 23-38.
  24. P. Juzlova, L. M. Kova, V. Kren, Secondary metabotites of the fungus *monascus*: A review. *J. Ind. Microbiol.* 16(1996), 163-170.
  25. F. Mchan, G. T. Johnson, Zinc and amino acids: important components of a medium promoting growth of *Monascus purpureus*. *Mycologia.* 62 (1970), 1018-1031.
  26. A. Q. M. Al- Sarrani, M. Y. M. EL-Naggar, Application of plackett- burman factorial design to improve citrinin production in *Monascus ruber* batch cultures. *Botanical Studies.* 47(2006), 167-174.
  27. Y. J. Cho, J. P. Park, H. J. Hwang, S. W. Kim, J. W. choi, J. W. Yun, Production of red pigment by submerged culture of *Paecilomyces sinclairii*. *Lett. Appl. Microbiol.* 35(2002), 195-202.
  28. Y. S. Bau, H. C. Wong, Zinc effects on growth, pigmentation and antibacterial activity of *Monascus purpureus*. *Physiol. Plant.* 46(2006), 63-67.