

## کاربرد میکروارگانیسیمها در تولید رنگ

حمید بخش ابادی<sup>۱\*</sup>، حبیب الله میرزایی<sup>۲</sup>، فاطمه عرب عامریان<sup>۳</sup>، محسن مختاریان<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی گرگان

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی گرگان

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی دانشگاه آزاد سبزوار

E- mail:h.bakhshabadi@yahoo.com



### چکیده:

مهمترین رنگهای میکروبی که تولید می‌شوند، رنگدانه‌های کاروتینوئیدی می‌باشند. کاروتینوئیدها رنگدانه‌های زرد و نارنجی مایل به قرمزی هستند که در طبیعت موجود می‌باشند و ساختار شیمیایی آنها دارای ۴۰ اتم کربن می‌باشد هدف از این تحقیق شناسایی و مرور کلی بر میکروارگانیسیمهای تولیدکننده رنگ میکروبی می‌باشد. اهمیت این موضوع از این جهت است که امروزه، تحقیقات نشان می‌دهد که رنگهای سنتزی دارای اثر بیماریزایی مانند سرطان و غیره در بدن می‌باشند به همین دلیل نگاه‌ها به سوی تولید رنگ از منابع طبیعی معطوف شده است که یکی از این منابع میکروارگانیسیمها می‌باشند. میکروارگانیسیمهای متفاوتی در سرتاسر جهان قادر به تولید رنگ می‌باشند که محققین در پی آن هستند که بهترین آنها را پیدا کنند. باکتریها و قارچها و جلبکهای سبز قادر به تولید رنگ می‌باشند که در میان این میکروارگانیسیمها ۴ گونه از آنها که عبارتند از *Monascus*، *Dunaleilla*، *Heamatococcus* و *Penicillium* به تولید صنعتی رسیده‌اند و در موارد مختلفی رنگدانه‌های آنها مورد استفاده قرار می‌گیرد.

کلید واژگان: رنگ، میکروارگانیسیمها، کاروتینوئید

### ۱- مقدمه

مهمترین رنگهای میکروبی که تولید می‌شوند، رنگدانه‌های کاروتینوئیدی می‌باشند. کاروتینوئیدها رنگدانه‌های زرد و نارنجی مایل به قرمزی هستند که در طبیعت موجود می‌باشند و ساختار شیمیایی آنها دارای ۴۰ اتم کربن می‌باشد. کاروتینوئیدها گاهی اوقات حلقوی و گاهی اوقات نیز خطی می‌باشند و گزانتوفیلها نیز با قسمتهای مختلفی شامل گروههای هیدروکسیل،



کتو، متوکسی ، اپوکسی یا گروه کربوکسیل از کاروتینوئیدها مشتق شده اند مشتقاتی که دارای گروههای نامبرده نیستند کاروتن نامیده می شوند. شاید شناخته شده ترین کاروتینوئیدها رنگدانه هایی از قبیل  $\alpha$  کاروتن و بتاکاروتن و بتاکریپتو گزانتین می باشد که اینها پروویتامین A هستند [۱].

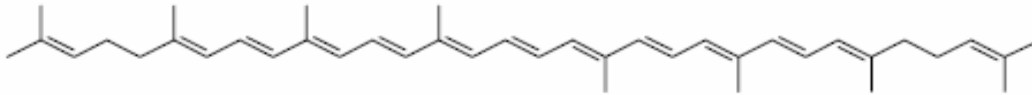
## ۱،۲- بتا کاروتن

بتا کاروتن به طور ویژه به وسیله قارچها تولید می شود. مخلوطی از دسته ها یا گونه های متنوعی از فیکومیست ها ، از دسته موکورالس بطور ویژه توانایی انباشته کردن بتا کاروتن را در سلول خود دارند . بتا کاروتن همچنین مشخصه بسیاری از آسکومیست ها و دوترومیست ها نیز می باشد. بطور معمول دارای مخلوطی از یک حلقه ای ها و دو حلقه ای ها می باشند. گروه دومی که دارای اهمیت از نظر تولید رنگ می باشند جلبکهای سبز هستند. منابع قارچی بتا کاروتن از آسکومیست ها بطور مثال *Neurospora Crassa* و *Penicillium Sclerotium* و یا از گروه دوترومیستها می توان به *Rhodotorula Aurantice* اشاره کرد. موکورالسها نیز قادر به تولید بتا کاروتن هستند که به دو گونه آنها توجه ویژه ای شده است که عبارتند از *Phycomyces* و *Blackesleanus* . این در میکروارگانسیم ها به عنوان مدل خوبی از یک میکروارگانسیم برای مطالعه ژنتیکی می باشد. این دو میکروارگانسیم به سادگی می توانند در مراحل مختلف تولید بتا کاروتن دچار جهش شوند. وقتی جلبک سبز *Dunaliella Salina* در معرض استرس قرار می گیرد به طور استثنایی مقدار بتا کاروتن جمع آوری شده سلولهایش افزایش می یابد ( بیشتر از ۱۴ درصد از وزن خشک ) . شکل گیری پیگمان ها همانند شکل گیری متابولیت های ثانویه بیشترین محصول تولیدی در حین فاز رشد اتفاق می افتد شرایط مناسب تولید بتاکاروتن شامل نور زیاد ، دمای بالا ، کمبود نیتروژن و فسفر و به طور ویژه مقدار نمک بالا می باشد بیشترین محصول بتا کاروتن تولیدی در نتیجه استفاده از فرآیند دو مرحله ای است که در آن تغییر رشد در فاز تولید به وسیله انتقال از محیط با مقدار نمک کم ، به محیط با مقدار نمک زیاد به وجود می آید . تولید تجاری بتاکاروتن توسط این میکروارگانسیم ها در کنار دریاچه های نمک در از کشورها مانند استرالیا ، اسرائیل و ابرلند انجام میشود . در این محیطهای کشت به علت وجود مقدار نمک بالا ( ۲۰ - ۳۰ درصد نمک ) میکروارگانسیم رقابتی وجود ندارد . در اینجا میزان نمک و نور دو عامل مهم برای دقت در کنترل فرآیند محسوب می شوند. [۲].

## ۲،۲- لیکوپن

لیکوپن به ندرت یک محصول پایانی در میکروارگانسیمها می باشد . لیکوپن همچنین بیشتر از گزانتوفیلهای مارپیچی مثل *Rhodopin* و *Sprillioxin* در یک فتوسنتز باکتریایی مثل حلقوی شدن و راههای دیگر بوجود می آید همچنین لیکوپن از بتا کاروتن و مشتقات اکسیده آن نیز به وجود می آید. در قارچ *Blakslea Trispora* از سیکلیزاسیون لیکوپن به بتا کاروتن با استفاده از تغییر در شرایط رشد و اضافه کردن بازدارنده ها به محیط کشت می توان جلوگیری کرد . یک عامل محیطی برای کنترل سیکلیزاسیون عامل pH می باشد شرایط طبیعی دارای قلیائیت کم برای تولید رنگ لیکوپن مناسب است . در حالی که pH بالا باعث هدایت بیشتر به سمت تولید بتاکاروتن می شود برای تنظیم pH به بالای ۶/۶ از کربنات سدیم استفاده می شود. آمین های مختلفی نظیر ۲ (۴ کلروفنولیتو) تری اتیل آمین و نیتروژن هتروسیکلیک ( به طور مثال پایپریدین ) بطور موثری

جلوی آنزیم کاتالاز که باعث سیکلیزاسیون لیکوپن به بتاکاروتن می شود را می گیرد مقدار لیکوپن تولید شده ۰/۷ - ۱ گرم درلیتر گزارش شده است [۲].



شکل ۱ - ساختار شیمیایی لیکوپن

### ۳،۲- لوتئین

لوتئین در جلبکهای سبز فراوان هستند اما در سیانو باکتریها و باکتریهای فتوتوروف وجود ندارند. وقتی جلبک سبز *Spongiococcum* بطور هتروتروپیک رشد می کند مقدار تولیدی به ۲۴۹ میلی گرم به لیتر در ۹ روز می رسد. اخیراً *Chlorella Pyrenodosa* به عنوان یک میکروارگانیسم مناسب برای تولید لیکوپن معرفی شده است به دلیل اینکه سریعتر رشد میکند و مقاومت بیشتری در مقایسه با *Spongiococcum* در تبادل با گلوکز دارد و محصول لوتئین بیشتری تولید می کند. سوش *Chlorella sorokiniana* 7-11-05 در شرایط ساده محیط کشت که دارای گلوکز، اوره، مواد معدنی و مواد ضروری هستند رشد می کنند. وزن سلولهای خشک ۱۰۰ گرم درلیتر از محصول به اندازه ۲۳۰-۲۶۰ گرم گلوکز در لیتر در ۷ روز فرآیند بدست آمد [۶].

### ۴،۲- زی گزانتین

زی گزانتین در سیانو باکتریها و تعداد معدودی از باکتریهای غیر فتوسنتز کننده تولید می شود. همچنین وجود زی گزانتین آزاد در فلاوباکتریهای دریایی اثبات شده است. اگرچه اطلاعات به ندرت درباره تولید صنعتی یا تجاری زی گزانتین از فلاوباکتریها وجود دارد اما قابلیت دستیابی آن تا حدی امیدوار کننده است. سوشهای جهش یافته ۳۳۵ میلی گرم در لیتر زی گزانتین تولید می کنند رسیدن به این محصول عمدتاً به وسیله فراهم نمودن محیط کشت پایه دارای گلوکز و شربت ذرت اشباع با استرهای پالمیتیک، متانوئیک اسید، پیرویدوکسین و نمکهای آهن پذیر است رشد آن ها در ماههای پایین صورت می گیرد [۵].

### ۵،۲- کانتا گزانتین

چهار باکتری غیر فتوسنتز کننده دارای کانتا گزانتین هستند. اگر چه ۲ تا از آنها توانایی تولید کانتا گزانتین به صورت تجاری را ندارند. اولین باکتری که مورد توجه قرار گرفت یک پاتوژن گیاهی جهش یافته به نام *Corynebacterium michiganense* است که در سال ۱۹۵۴ کشف شد و دومین مورد *Micrococcus roseus* بود که در این مورد آزمایشات انجام شده تمامی با شکست مواجه شد کانتا گزانتین بیشتر در سیانوباکتریها تولید میشود. معمولاً در این رنگدانه ها یک رنگدانه فرعی در هنگام استفاده از پیش ماده مونوکوتوآکینون می باشد. جلبکهای سبز بطور عادی دارای کانتاگزانتین نمی باشند. در شرایط

تغذیه ای نامناسب بویژه کمبود نیتروژن در بعضی کلروفیت ها مقدار زیادی EXTRAPLASTIDIC کتوکاروتینوئیدی مثل اکینون و کانتاگزانتین تولید می کنند [۷].

## ۱،۵،۲- بهینه سازی رشد:

یک روش ساده برای افزایش رشد اینست که از محیط کشت هیدروکربنی بطور متناوب مواد سمی را خارج کنیم . در سیستم دو فازی به راحتی کاهش مقدار آب امکان پذیر است . با هر محیط جدیدی هیدروکربن اضافی نیز به مقدار معینی اضافه می شود . جدا از تخمیر هیدروکربنها در اثر استفاده از فرمولاسیون جدید در محیط کشت که دارای فوماریک اسید ، ملاس ، عصاره مالت می باشد، بیومس و کانتاگزانتین نتیجه شده است. نتیجه اینکه بیشترین محصول کانتاگزانتین در یک حجم پایه در فلاسکهای لرزان با ۴/۲ میلی گرم در لیتر ( BHI به اضافه پروپان و سولفات روی ) ۳/۶ گرم محیط هیدروکربن و ۹/۳ گرم ( فوماریک اسید ، ملاس ، عصاره مالت ) در ۳۰ درجه سانتی گراد بعد از ۷ روز تخمیر در ۲ لیتر محصول تخمیری ماکسیمم ۷/۲ میلی گرم در لیتر محصول تولید شده است.

## ۶،۲- آستاگزانتین

آستاگزانتین تا اندازه ای شبیه کانتاگزانتین است. آستاگزانتین در یک جنس از قارچهای بازیدیومیست و در باکتریهای هیدروکربنی و در بسیاری از جلبکهای سبز که در معرض کمبود نیتروژن هستند مشاهده می شود. *Phiffa rhodozyma* یک مخمر بازیدیومیست می باشد و دارای آستاگزانتین است. به منظور تسهیل در آزاد کردن رنگدانه ها یک اتولیز مقدماتی سلولها در آب مقطر یا در بافر پیشنهاد می شود . به نوبت با توجه به مقاومت سلولها ، به وسیله آنزیم ترشح شده از باسیلوس سیرکولانس دیواره سلولی آنها تخریب می شود. [۳].



شکل ۲- نحوه تشکیل کلنی های *Hematococcus* برای تشکیل آستاگزانتین

## ۷،۲- رنگهای تولیدی از موناסקوسها

موناסקوس روی محیط جامد رشد میکند و در کشورهای آسیایی تولید می شود و به عنوان رنگ قرمز به نام *anka* در غذاها استفاده می شود . موناסקوس اغلب در غذاهای شرقی بخصوص در جنوب چین ، ژاپن و جنوب شرق آسیا استفاده می شود.

متابولیت های اصلی تولید شده به وسیله موناسکوس پلی کتیدی است که با تغلیظ استیل کوآ شکل می گیرید. همچنین در صورت ادامه تولید متابولیت ها با استفاده از malonvl coA با عملی شبیه دکربوکسیلاسیون باعث تولید مواد لیپیدی میشود. رنگدانه های موناسکوس گروهی از متابولیت های قارچی هستند که Azaphilones نامیده میشود که دارای ساختارهای مولکولی مشابه و خواص شیمیایی مشابه هستند. [۴].



شکل ۴- برنج قرمز چینی خشک شده به دست آمده از موناسکوس

شکل ۳- رنگ تولید شده توسط موناسکوس

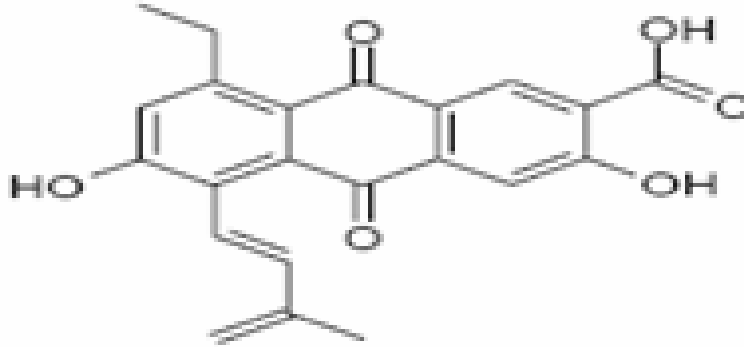
## ۱،۷،۲- تولید موناسکوس با استفاده از محیط های کشت متفاوت

تناقض های زیادی در کارهای منتشر شده به عنوان بهترین منبع کربن برای تولید رنگ قرمز در محیط مایع وجود دارد بطور سنتی موناسکوس بر روی نان و برنج کشت داده شد در واقع موناسکوس روی هر کشت آمیلوزی رشد می کند. موناسکوس بطور مناسب روی نشاسته، دکسترین، گلوکز و مالتوز و فروکتوز رشد می کند. منبع نیتروژن اهمیت بیشتری نسبت به منابع کربنی دارد. آمونیوم و پپتون به عنوان منبع نیتروژن رشد بهتری را نشان داد. بهترین نتیجه در مورد استفاده از گلوکز و هیستیدین بدست آمد. چینی ها از روشی استفاده می کردند به این صورت که با تلقیح *Monascus anka* در برنج بخارپز در قفسه های بزرگ این قارچ را کشت می دادند. این عمل در اتاق هایی که دارای هوادهی و دمای مناسب هستند و در مدت زمان ۲۰ روز انجام میشود. در این نوع از محیط های کشت محتوای رطوبتی، سطح اکسیژن و دی اکسید کربن در گاز های محیطی و همچنین در محیط کشت غلاتی کنترل این پارامترها خیلی مهم است. محتوای رطوبتی یک پارامتر خیلی مهم می باشد. رنگدانه های قرمز درون کیف پلاستیکی دارای برنج تولید شده بود. مشاهده شد که تولید پیگمان فقط در شرایط نسبتاً کم رطوبت (۲۶-۳۲٪) انجام می گیرد. محتوای رطوبت اولیه سوپسترا تنظیم کننده تولید پیگمان می باشد بنابراین محتوای رطوبتی بالا از تولید پیگمان جلوگیری می کند [۵].

## ۸،۲- رنگ های تولیدی از *Penicillium oxalicum*

تحقیقات نشان داد که یک سوش جدید قارچی دارای ویژگی های تولید رنگ قرمز است که می تواند برای مواد غذایی و آرایشی استفاده شود که این قارچ *Penicillium oxalicum* subsp *Armeniaca* ccm 8242 می باشد که از خاک بدست آمد که تولید کروموفور نوع آنتراکینون می کند. کشت قارچ در محیط کشت مایع نیازمند کربوهیدرات از قبیل ساکاروز و

ملاس و همچنین نیتروژن ( عصاره ذرت ، مخمراتولیزشده یا عصاره آن ) سولفات روی و منیزیم می باشد. بهترین شرایط برای سنتز میکروبی آن pH ۶/۲-۵/۶ و دمای ۲۷-۲۹ درجه می باشد [۱].



شکل ۵- ساختار شیمیایی کروموفور آنتراکینون

### ۳- نتیجه گیری

میکروآلگها به عنوان بهترین و عالیترین منبع پیگمان شناخته شده اند. فرآورده جلبکی درمقیاس صنعتی در مناطق کشت خارجی و نزدیک به منابع آبی تولید میشود. رنگدانه هایی می توانند در مقیاس زیاد تولید شوند که میکروارگانسیم های آنها توانایی و پایداری خوبی داشته باشند. آستاگزانتین بدست آمده از *Heamatococcus* دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و قدرت رنگ دهی بالاست. تولید بتاکاروتن از *Dunaliella* یک دستاورد مهم از نظر ارزش تجاری است. بنابراین آلگهای مورد نظر پتانسیل زیادی برای تولید رنگ و مواد دارویی از خود نشان دادند از این رو امید است که این میکروارگانسیم ها باعث توقف تولید سنتتیک مواد رنگی شوند و به تدریج تولید رنگ میکروبی گسترش یابد.

### ۴- منابع

- 1- Larena, I., Melgarejo, P., & De Cal, A. Drying of conidia of *Penicillium oxalicum*, a biological control agent against *Fusarium wilt* of tomato. *Journal of Phytopathology*, (2003). 151, 600-606.
- 2- Fang Xu, Qi-Peng Yuan, Yan Zhu, Improved production of lycopene and b-carotene by *Blakeslea trispora* with oxygen-vectors, *Process Biochemistry* 42 (2007) 289-293
- 3- Torrissen, O. J., Hardy, W. H., & Shearer, K. D. Pigmentation of salmonids-carotenoid deposition and metabolism. *Review of Aquatic Sciences*, (1989). 1, 209-227.
- 4- Blanc, P. J., Laussac, J. P., Le Bars, J., Le Bars, P., Loret, M. O., Pareilleux, A., et al. Characterization of monascidin A from *Monascus* as citrinin. *International Journal of Food Microbiology*, (1995a). 27, 201-213.
- 5- Blanc, P.J., Loret, M. O., Santerre, A. L., Pareilleux, A., Prome', D., Prome', J. C., et al. Pigments of monascus. *Journal of Food Science*, (1995b). 59, 862-865.





- 6- Lers, A., Biener, Y., & Zamir, A. (1990). Photoinduction of massive b-carotene accumulation by the alga *Dunaliella bardawil*. Kinetics and dependence on gene activation. *Plant Physiology*, (1990). 93, 389–395
- 7- Avron, M., & Ben-Amotz, A. *Dunaliella: Physiology Biochemistry and biotechnology*. London: CRC Press.(1992)

#### Abstract

The most important microbial pigments that are produced are carotenoid pigments. Yellow and orange carotenoid pigments that are reddish in nature are available and their chemical structure with 40 carbon atoms purpose of this research is to identify and overview of microorganisms producing microbe is the color Importance of this is because today, research shows that synthetic dyes have pathogenic effects such as cancer and so are the body why the color eyes toward the production of natural resources has been paid to one of these sources are microorganisms. Throughout the world different microorganisms capable of producing colors that are researchers are seeking to find the best of them. Bacteria and fungi and green algae can produce colors that are among the four species of microorganisms that include *Monascus*, *Dunaliella*, *Haematococcus* and *Penicillium* have reached the industrial production in many cases they used pigments

