مقاله مروری

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۱۲، آذر ۱۳۹۵، صفحه ۴۸-۴۰

مروری بر عوامل مؤثر در تولید لواستاتین توسط قارچ *آسپرژیلوس ترئوس* ATCC 20542 در کشت مایع

فرشید جابری انصاری (MSc)[۱]، حسین جعفری منصوریان (MSc)[۲]، حسن جلیلی (PhD)[۳*]، مجید عزیزی (PhD)[۴]

۱-گروه نانوتکنولوژی پزشکی، دانشکده فناوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲-مرکز تحقیقات مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۳-گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران
۴-گروه باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

دریافت: ۹۵/۵/۲۶، اصلاح: ۹۵/۷/۶، پذیرش: ۹۵/۹/۶

خلاصه

سابقه و هدف: یکی از عوامل اصلی بیماری های قلبی عروقی، رسوب کلسترول در رگ ها می باشد. لواستاتین یک داروی کاهش دهنده کلسترول خون است که موجب مهار آنزیم ۳-هیدروکسی۳-متیل گلوتاریل-CoA ردوکتاز می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی عوامل مؤثر در تولید لواستاتین توسط قارچ *آسپرژیلوس ترئوس* ATCC 20542 می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مروری برای جمع آوری اطلاعات، مقالات دارای یکی از کلمات Cardiovascular disease, Lovastatin, HMG-CoA reductase, Liquid submerged fermentation, *Aspergillus terreus* در فاصله سالهای ۱۹۶۰ تا ۲۰۱۶ در پایگاه های Pubmed، Nature، Science Direct و WHO جستجو و بررسی شدند.

یافته‌ها: تعداد کل مقالات یافت شده ۱۸۰ مورد بود که از این تعداد، ۷۰ مقاله برای این مطالعه مناسب تشخیص داده شد. مطابق با نتایج مطالعات، لاکتوز به عنوان بهترین منبع کربنی، سویا و عصاره مخمر به عنوان بهترین منبع نیتروژنی، نسبت C/N برابر با ۴۱/۳، میزان 10^7 اسپور در میلی لیتر، pH برابر ۶/۵ عناصر معدنی Fe, Zn, Mn و القاءگرهایی مانند لینولئیک اسید در غلظت بهینه موجب بیشترین میزان تولید لواستاتین می‌شوند.

نتیجه گیری: بررسی مطالعات انجام شده نشان می‌دهد، منبع کربنی و نیتروژنی، نسبت C/N، میزان و نوع تلقیح، pH، عناصر معدنی و القاءگرها از جمله مهمترین عوامل مؤثر در مورفولوژی و جذب اکسیژن توسط قارچ *آسپرژیلوس ترئوس* بوده و از این رو در تولید لواستاتین نیز تأثیر می‌گذارند.

واژه‌های کلیدی: سنتز زیستی، بیماری قلبی عروقی، لواستاتین، HMG-CoA ردوکتاز، *آسپرژیلوس ترئوس*.

مقدمه

طی شش دهه گذشته ترکیبات تخمیری و سنتزی زیادی درست شده‌اند که دارای خاصیت کاهش کلسترول خون بوده و در نتیجه موجب پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی عروقی می‌شوند. این داروها که موجب جلوگیری از تولید کلسترول می‌شوند استاتین نام دارند، در سال ۱۹۷۱، دانشمندی به نام Akira Endo موفق به جداسازی داروی کمپکتین (Compactin) یا ML-236B از کشت *پنی‌سیلیوم سیترینیوم* (Penicillium citrinium) شد. این دارو آغاز تولید داروهای استاتینی به شمار می‌آید. لواستاتین به دلیل شباهت به موالونات (یک پیش ماده در مسیر سنتز کلسترول) موجب مهار رقابتی آنزیم HMG-CoA ردوکتاز می‌شود. لواستاتین یک ماده سفید رنگ و بصورت پودر کریستالی غیر نمگیر می‌باشد که نامحلول در **آب** ولی محلول در اتانول، متانول و استونیتریل است، فرمول مولکولی آن $C_{24}H_{36}O_5$ و وزن مولکولی آن ۴۰۴/۵۵ گرم بر مول است (۲و۱). Jaberi Ansari و همکاران در سال ۲۰۱۶ به بهینه سازی محیط کشت مرکب جهت افزایش تولید لواستاتین توسط قارچ آسپرژیلوس ترئوس پرداختند و نشان دادند شیره ی خرما منبع غنی از کربوهیدرات ها و عناصر معدنی برای رشد قارچ و تولید لواستاتین می باشد (۳). Mansoori و همکاران در سال ۲۰۱۵ مطالعه ای در زمینه بهینه سازی تولید موناکولین (یک پیش ساز در تولید لواستاتین) انجام دادند که نتایج حاصل شده نشان داد مالتوز در غلظت ۱۰g/l و $MgSO_4$ در غلظت ۰/۷۸g/l بر روی تولید لواستاتین و بیومس مؤثر هستند (۴). Razeghi yadak و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که ترکیب محیط کشت، pH و دما بر روی سرعت رشد میسلیومی قارچ شی تا مؤثر بوده و pH پایین برابر ۴/۵ و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد موجب بیشترین میزان رشد قارچ می شود (۵). Tvana و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بهینه سازی ترکیب های بستر کشت مایع قارچ دارویی گنودرما لوسیدیوم به منظور افزایش تولید بیومس و پلی ساکاریدهای برون سلولی پرداختند و طبق نتایج بدست آمده، قند مالتوز موجب بیشترین تولید بیومس و پلی ساکاریدهای برون سلولی توسط قارچ گنودرما لوسیدیوم می شود بهترین ترکیب برای تولید بیومس قند مالتوز با غلظت ۵۰g/l و pH برابر ۴/۵ و برای پلی ساکاریدهای خارج سلولی قند مالتوز با غلظت ۴۰g/l و pH برابر ۳/۵ می باشد (۶). Azizi و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ مطالعه ای در زمینه مواد مختلف زائد (سبوس) به عنوان سوبسترای قارچ گندورما لوسیدیوم انجام دادند و نشان دادند که بیشترین میزان بازده هاگ زایی در

*مسئول مقاله: دکتر حسن جلیلی
آدرس: تهران، میدان انقلاب، خیابان کارگر شمالی، دانشکده علوم و فنون نوین. تلفن: ۸۸۶۱۸۴۳۱- ۰۲۱
E-mail: hjalili@ut.ac.ir

[DOI: 10.22088/jbums.18.12.40]
[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.12.6.2]

هنگام استفاده از سبوس های ممرز بدست می آید (۷). Kamath و همکاران با انجام مطالعه ای در ارتباط با بهینه سازی شرایط محیطی برای تولید لواستاتین توسط آسپرژیلوس ترئوس به این نتیجه رسیدند که بیشترین تولید لواستاتین در pH ۶ دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی گراد و تلقیح 10^8 اسپور در میلی لیتر حاصل شد (۸). Karthika و همکاران اثر آب پنیر را بر روی تولید لواستاتین بررسی کرده‌اند و نتایج نشان داد که در شرایط بهینه پیش بینی شده بیشترین تولید لواستاتین ۳۵۸/۲mg/l بود (۹).

Sripalakit و همکاران اثر روغن های گیاهی را بر روی تولید لواستاتین بررسی نموده و نتایج نشان داد که بازده تولید لواستاتین با روغن پالم ۴/۵ برابر و روغن دانه سویا ۱/۵ برابر بیشتر از نمونه شاهد بود (۱۰). Pecyna و همکاران تأثیر لاکتوز و گلیسرول را بر تولید لواستاتین بررسی نمودند و به این نتیجه رسیدند که وقتی گلیسرول به عنوان خوراک و لاکتوز به عنوان بستر اولیه استفاده شد تولید لواستاتین به ۱۲۲/۴mg/l رسید ولی وقتی گلیسرول به عنوان بستر اولیه استفاده شد مقدار لواستاتین کاهش یافت (۱۱).

Porcel و همکاران اثر شرایط اسپورزایی را بر تولید لواستاتین مطالعه نموده و به این نتیجه رسیدند که با سن تلقیح اسپور ۱۶ روز، میزان تولید لواستاتین به ۱۸۶/۵mg/l رسید (۱۲). امروزه توجیه اقتصادی تولید صنعتی داروها و متابولیت های ثانویه بستگی به میزان تولید محصول و بازده آن دارد. از اینرو مطالعه‌ی پارامترها و روش هایی که موجب افزایش بازده محصول می‌شود یک مزیت رقابتی برای محصول تولیدی از نظر اقتصادی و کاهش هزینه ها در بازار موجود بوجود می آورد.

مطالعه حاضر نیز با هدف بررسی پارامترهای مؤثر در مورفولوژی قارچ *آسپرژیلوس ترئوس* که شامل منبع کربنی، منبع نیتروژنی، نسبت کربن به نیتروژن(C/N)، میزان اسپور و نوع تلقیح، هوادهی، گرانرویی، pH، آنزیم های مؤثر در تولید، عناصر معدنی و القاءگرها می باشند و در تولید و بازده لواستاتین تأثیرگذار هستند انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مروری به نتایج منتشر شده توسط محققین در زمینه عوامل مؤثر در تولید لواستاتین توسط قارچ *آسپرژیلوس ترئوس* ATCC 20542 در فاصله سالهای ۱۹۶۰ تا ۲۰۱۶ محدود می شود. برای دستیابی به مقالات مربوط از پایگاه‌های، Nature، Science Direct و WHO استفاده گردید. برای جمع آوری اطلاعات مورد نیاز، از واژه‌های کلیدی کلیدی Cardiovascular disease, Lovastatin, HMG-CoA reductase, Liquid submerged fermentation, *Aspergillus terreus* جهت جستجو استفاده شد.

یافته ها

از مجموع ۱۸۰ مورد مقاله یافت شده، مقالاتی که عوامل مؤثر در تولید لواستاتین توسط قارچ *آسپرژیلوس ترئوس* ATCC 20542 از قبیل منبع کربنی و نیتروژنی، نسبت C/N، میزان و نوع تلقیح، pH، عناصر معدنی و القاءگرها بودند ۷۰ مورد برای این مطالعه مناسب تشخیص داده شد.

میکروارگانیسم‌های تولید کننده لواستاتین: لواستاتین یک متابولیت ثانویه است که بیشتر در طی فاز دوم رشد (آیدیوفاز) ترشح می‌شود (۱۳)، این متابولیت توسط کشت گونه‌هایی از جمله پنی‌سیلیوم، موناسکوس، آسپرژیلوس، پلروتوس، هیپومایسز، دوراتومایسز، فوما، جیمنوآسکوس و تریکودرما تولید می‌شود (۱۶و۱۵و۱۴). که از مهمترین آنها آسپرژیلوس ترئوس، موناسکوس روبر و پنسیلیوم هستند (۲۰و۱۹و۱۸و۱۷و۱).

قارچ آسپرژیلوس ترئوس و محصولات آن: قارچ آسپرژیلوس ترئوس در طبقه بندی آرایه شناختی جزو فرمان رو قارچ‌ها، دسته آسکومیست‌ها، رده Eurotiomycetes، راسته Eurotiales، خانواده تریکومیست‌ها، جنس آسپرژیلوس و گونه‌ی آسپرژیلوس ترئوس طبقه بندی می‌شود. آسپرژیلوس ترئوس مهمترین سویه‌ی تولید کننده لواستاتین در محیط کشت مایع می‌باشد. این قارچ میکروسکوپی در سرتاسر کره زمین در خاک پیدا می‌شود. آسپرژیلوس ترئوس هم از طریق غیر جنسی و هم جنسی تولید مثل می‌کند (۲۱).

کشت جامد: به طور کلی انواع روش‌های کشت برای تولید لواستاتین به دو دسته‌ی کشت جامد و کشت مایع تقسیم بندی می‌شوند. کشت جامد روش ارزان قیمتی برای تولید لواستاتین می‌باشد (۲۲) در این نوع کشت از مواد زائد کشاورزی از قبیل بزان فلور، شکر زرد، شکر زرد پالم، بلک گرم، گرین گرم، جو، ساگو، گروند نات کیک، ضایعات کنجد، ارزن، راگی، سبوس گندم، سبوس برنج، دانه میوه و برنج دانه بلند به عنوان منبع تغذیه استفاده می‌شود(۲۳). این نوع کشت مراحل استخراج ساده ای دارد ، آب و انرژی مصرفی آن در مقابل با کشت مایع کمتر و بازده تولید آن نیز بیشتر است (۲۵و۲۴). میکروارگانیسم‌های غالب تولید لواستاتین در کشت حالت جامد قارچ موناسکوس با سویه‌های موناسکوس پورپورئوس MTCC ۳۶۹، موناسکوس روبر MTCC ۱۸۸۰، موناسکوس پیلوسوس ۶۹- M ۱۲ و پس از آن آسپرژیلوس با سویه‌های آسپرژیلوس ترئوس ATCC ۲۰۵۴۹ و آسپرژیلوس فلاووس BICC ۵۱۷۴ می‌باشند (۳۴-۲۶). Mansoori و همکاران در سال ۲۰۱۵ به بهینه سازی تولید لواستاتین در تخمیر مایع توسط قارچ موناسکوس پورپورئوس پرداخته اند و مشخص شد بهینه میزان تولید لواستاتین در شرایط ۲۶g/l مالتوز، $MgSO_4.7H_2O$ ۱g/l، ۵g/l پپتون، $MnSO_4$ ۵g/l، KH_2PO_4 ۴g/l، Vitamin B1 ۱g/L، pH برابر ۷، rpm برابر ۱۳۰ و دمای ۳۰ درجه سانتی گراد بدست می آید که برابر ۶۳g/l بود (۳۵). نتایج مطالعه Baneshi و همکاران نیز در سال ۲۰۱۴ با بررسی pH منابع کربنی و تاثیر دما بر روی تولید رنگریزه بوسیله این قارچ، نشان داد که بیشترین میزان تولید رنگریزه توسط قارچ در pH برابر ۳ مالتوز در غلظت ۲۵۰g/l و دمای ۲۵ درجه ی سانتی گراد بدست می آید (۳۶).

کشت مایع: امروزه تولید لواستاتین توسط قارچ آسپرژیلوس ترئوس در مقیاس بزرگ در کشت مایع صورت می‌پذیرد. پس از بهینه سازی در ارلن، از بیوراکتور به دلیل امکان کنترل پارامترهای مختلف به منظور تولید بیشتر محصول استفاده می‌شود، چرا که در آن حجم بیشتری وجود دارد و به دلیل وجود جریان در محیط به علت وجود همزن، دسترسی میکروارگانیسم به مواد غذایی افزایش می‌یابد. امروزه چندین نوع روش کشت مایع برای تولید بیشتر لواستاتین به کار گرفته می‌شود که عبارت از کشت بسته، کشت تغذیه‌ای، کشت نیمه پیوسته و کشت دو مرحله می باشد(۳۶). در کشت بسته به علت کمبود منبع کربن و همچنین اثر مهاری لواستاتین بر روی تولید خودش، میزان لواستاتین کمتری تولید می‌شود به همین دلیل از کشت تغذیه‌ای استفاده کردند. کشت تغذیه‌ای به خاطر رقیق کردن

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.12.6.2]
[DOI: 10.22088/jbums.18.12.40]

مایع و کاهش اثر مهاری لواستاتین بر خود موجب افزایش تولید لواستاتین می‌شود (۳۸-۳۶). یک روش نوین برای تولید بیشتر لواستاتین نسبت به کشت تغذیه‌ای، استراتژی تغذیه‌ای دو مرحله‌ای می‌باشد که تولید لواستاتین را توسط قارچ آسپرژیلوس ترئوس بهبود می‌بخشد (۳۹و۴۰). استراتژی تغذیه‌ای دو مرحله‌ای موجب افزایش تولید لواستاتین به میزان ۳۱۵٪ در مقایسه با کشت بسته می‌شود (۴۱).

غلظت و سن اسپور: دو فاکتور غلظت اسپور تلقیحی و شدت نور در دسترس، بر روی اسپورزایی مؤثر هستند. هر افزایشی در شدت نور و غلظت اسپور موجب کاهش دادن زمان اسپورزایی می‌شود (۱۱). به خاطر اینکه تعداد اسپور بر روی زیست توده مؤثر است تعداد اسپورها باید به دقت در حد خاصی نگه داری شود تا نتایج آزمایشات تکرار شدنی باشد، به طور میانگین باید حدود 10^7 اسپور در میلی لیتر به محیط کشت تلقیح شود (۴۲). تأثیر غلظت اسپور به این خاطر است که مصرف سریع مواد مغذی در غلظت بالای اسپور موجب اسپورزایی سریع‌تر می‌شود (۱۱). نور نیز به عنوان عامل القاءکننده مورفوژنیک در طول رشد و توسعه بسیاری از قارچها شناخته شده است (۴۳). همان طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، تأثیر سن اسپور در تولید لواستاتین بسیار بیشتر از غلظت اسپور و شدت نور می‌باشد (۱۱).

جدول ۱. بررسی میزان تأثیر نور، سن و غلظت اسپور بر تولید لواستاتین (۱۱)

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F-ratio
سن	۴۷۸۲۲	۱	۴۷۸۲۲	۴۳/۵۷
نور	۱/۵۶	۱	۱/۵۶	۰/۰۰
غلظت	۱۳۲/۸۵	۱	۱۳۲/۸۵	۰/۱۲
بلاک	۳۴۶۲/۶۸	۱	۳۴۶۲/۶۸	۳/۱۵
خطا	۲۷۴۴۱/۳	۲۵	۱۰۹۷/۶۵	
کل	۷۸۸۶۰/۴	۲۹		

منابع کربنی: طبق گزارشات منابع کربنی به عنوان پیش ماده و کوفاکتور برای ساختن لواستاتین استفاده می‌شوند. علاوه بر این منبع کربن به عنوان کمپلکس تنظیم کننده بیان ژن و فعال کننده آنزیم در سنتز لواستاتین کاربرد دارد (۲۷). انتخاب منبع کربن مناسب بیش از اینکه روی بازده زیست توده تأثیر بگذارد بر روی بازده لواستاتین تأثیرگذار است (۱۹). محیطهای کشت معمولا به گونه ای طراحی می‌شوند که بیشترین بازده را داشته باشند (۴۴). محیطهای کشت مورد نظر برای تولید لواستاتین به دو دسته‌ی محیطهای سنتزی و محیطهای مرکب یا پیچیده تقسیم بندی می‌شوند. مواد کربنی مورد استفاده در دسته‌ی اول معمولا شامل گلوکز و فروکتوز و ساکاروز (جزء منابع کربنی سریع متابولیزه شونده) لاکتوز و گلیسرول و مالتودکسترین و نشاسته و پلی ساکاریدها (جزء منابع کربنی دیرمصرف شونده) می‌باشد (۴۵).

بیشترین تولید لواستاتین و زیست توده در غلظت ۶٪ (وزنی/حجمی) گلوکز بوده و غلظت بیشتر از این مقدار منجر به افزایش تولید لواستاتین نمی‌شود (جدول ۲) (۴۸-۴۷و۴۶). میزان گلوکز در بالاتر از این غلظت موجب سرکوب کاتابولیکی متابولیت‌های ثانویه می‌شود و به این دلیل موجب کاهش تولید لولستاتین می‌شود (۴۹و۲۱). استفاده از فروکتوز موجب تولید بیشترین میزان زیست توده در میان دیگر منابع کربنی می‌شود، برعکس فروکتوز، لاکتوز کمترین میزان تولید زیست توده را دارد (۱۹). استفاده از منابع کربنی سریع متابولیزه شونده قارچ را به سمت رشد کنترل نشده‌ی رشته‌ای سوق می‌دهد و موجب افزایش گرانرویی و کاهش یافتن اکسیژن محلول و کاهش لواستاتین می‌شود (۵۰و۴۹و۳۶).

جدول ۲. تأثیر غلظت گلوکز در رشد و تولید لواستاتین (۵۱)

غلظت لواستاتین (میلی‌گرم بر لیتر)	تولید زیست توده (گرم بر لیتر)	غلظت گلوکز (وزنی\حجمی)
۶۵	۵/۲	۱/۵
۹۰	۹/۱	۳
۹۶	۱۰	۴/۵
۱۰۵	۱۱	۶
۱۰۰	۱۰	۷/۵
۱۰۰	۱۰	۹
۹۵	۹/۵	۱۲

استفاده از منابع کربنی دیرمصرف شونده هنگامی انجام می‌شود که استفاده از منبع کربنی سریع متابولیزه شونده مثل گلوکز تمام شده باشد و یا در محیط نباشد. استفاده از متابولیت های دیرمصرف شونده نه تنها از مهار کاتابولیتی جلوگیری می‌کند بلکه مواد مورد نیاز رشد و تولید متابولیت را هم به اندازه‌ی کافی تأمین می‌کند. در هنگام استفاده از منابع کربنی دیرمصرف شونده مورفولوژی بصورت پلت است، این مورفولوژی برای تولید متابولیت های ثانویه سودمند است و دلیل تولید بیشتر لواستاتین با منابع کربنی دیرمصرف شونده می‌باشد (۴۵).

گلیسرول نیز از دیگر منابع کربنی است که تولید لواستاتین بالایی دارد (۴۵). در آزمایشی برای تولید لواستاتین استفاده از گلیسرول موجب بهبود تولید لواستاتین تا ۳۰٪ نسبت به گلوکز در قارچ *آسپرژیلوس ترئوس* شده است (۱۴). میزان ۱، ۳ و ۵ درصد گلیسرول برای تولید لواستاتین مناسب است که میزان ۳ درصد بیشترین میزان تولید را در پی‌داشته است. البته باید در نظر داشت که افزایش غلظت گلیسرول به بالاتر از ۵ تا۱۰ درصد به دلیل افزایش نفوذپذیری سلول‌های قارچ موجب کاهش تولید لواستاتین می‌شود (۳۳).

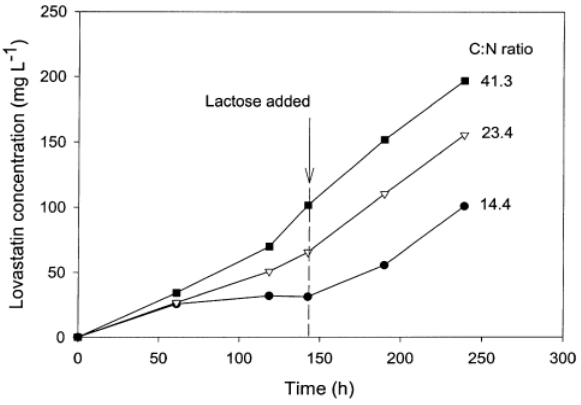
محیط های کشت مرکب معمولا نسبت به محیطهای کشت سنتزی، ارزان‌تر هستند و گاهی دارای چند منبع کربنی می‌باشند همچنین این مواد دارای عناصر معدنی و دیگر مواد ضروری برای رشد میکروارگانیسم‌ها هستند به همین جهت معمولا رشد و تولید لواستاتین در این محیطها نسبت به محیطهای پایه بالاتر است. تاکنون از رب‌گوجه و روغن گیاهی به عنوان منبع کربن برای تولید لواستاتین در کشت غوطه‌ور *آسپرژیلوس ترئوس* شامل روغن کنجد، آفتابگردان، زیتون، سویا، خرما و ذرت نیز استفاده شده است. تولید لواستاتین و زیست توده در ترکیب چند تا از این روغن‌ها بیشتر از محیط کنترل بوده است. میزان بیش از حد روغن‌های گیاهی نیز موجب کاهش تولید لواستاتین می‌شوند (۵۲، ۹). استفاده از پودر آب پنیر نیز به عنوان منبع کربن موجب تولید میزان لواستاتین زیادی شده است (۵۳).

منابع نیتروژنی: تنظیم نیتروژن در میکروبیولوژی صنعتی بسیار مهم بوده و بر روی سنتز آنزیم‌های درگیر در متابولیسم‌های اولیه و ثانویه تأثیر می‌گذارد. بسیاری از

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.12.6.2]
[DOI: 10.22088/jbums.18.12.40]

مسیرهای متابولیکی ثانویه از نیتروژن که برای رشد مطلوب است تأثیر منفی می‌پذیرند در نتیجه در تخمیرهایی با محیط پیچیده اغلب باید از منابع پروتئینی با اسیدهای آمینه دیرمصرف شونده مانند پرولین به منظور تولید بالای متابولیت های ثانویه استفاده کرد (۵۴). نیتروژن از تشکیل لواستاتین جلوگیری می‌کند ولی مقدار کم آن برای تولید لواستاتین لازم است (۴۳و۱۹). منابع نیتروژنی می‌توانند ارگانیک شامل عصاره مخمر، سویا، ذرت، پپتون، کازئین و غیر ارگانیک شامل سدیم نیترات، آمونیوم سولفات و اوره باشند. عصاره‌ی مخمر، سویا و ذرت از منابع نیتروژن موجب بیشترین افزایش سنتز لواستاتین می‌شوند و از پرکاربردترین منابع نیتروژنی برای تولید لواستاتین هستند (۵۵و۴۸و۴۷و۳۳و۱۹).

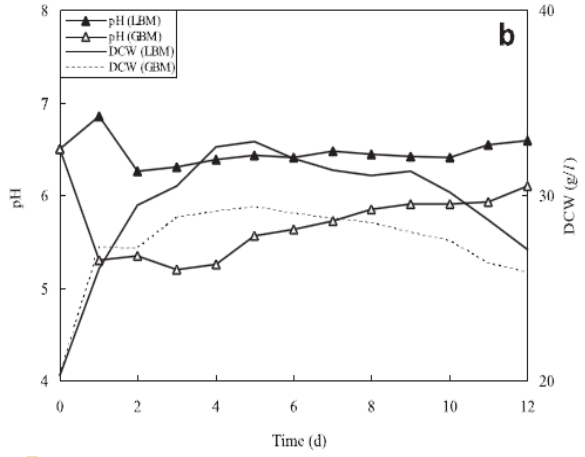
نسبت C/N: تولید لواستاتین و زیست توده افزون بر منبع کربن و منبع نیتروژن تحت تأثیر نسبت C/N می‌باشد که میزان بهینه نسبت C/N آغازی برای بیشترین تولید حدود ۴۱/۳ است. با افزایش نسبت C/N از ۱۴/۴ به ۲۳/۴ و ۴۱/۳ توانایی *آسپرژیلوس ترئوس* در تولید لواستاتین افزایش می‌یابد. کمترین نسبت C/N در قارچ *آسپرژیلوس ترئوس* برای تولید زیست توده به کار می‌رود (۱۹). در کمترین غلظت نیتروژن افزودن کربن اثر چندانی روی تولید زیست توده ندارد در این حالت نیتروژن محدود کننده است و تولید لواستاتین حداکثر است، اما در غلظت بالای نیتروژن غلظت زیست توده با افزایش میزان غلظت کربن افزایش چشمگیری می‌یابد زیرا کربن محدوده کننده رشد است و تولید لواستاتین پایین است (۵۶)(شکل ۱).



شکل ۱. تأثیر نسبت C/N آغازی بر تولید لواستاتین (۱۹)

pH: pH بصورت مستقیم کنترل متابولیسم و بیوسنتز لواستاتین را بر عهده دارد (۵۷). میزان بالای لواستاتین در pH آغازی بالای ۶/۵ به دست می‌آید (۵۸). هرچقدر pH بهینه (۷/۵-۶/۵) افزایش یابد موجب کاهش تدریجی تولید لواستاتین بخاطر تخریب و غیر فعال کردن سویه‌های میکروبی می‌شوند. زیرا pH قوی عبور مواد مختلفی را از عرض غشای سلولی که در رشد و تولید لواستاتین مؤثر هستند تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲).

استفاده از منابع کربنی مختلف بر روی pH در طول رشد تأثیر می‌گذارد. در محیط کشت حاوی لاکتوز ابتدا در روز اول pH از ۶/۵ به ۹/۶ افزایش یافته و سپس کم می‌شود و دوباره با شیب بسیار ملایمی زیاد می‌شود ولی در محیط کشت حاوی گلوکز pH ابتدا بسیار کاهش یافته از ۶/۵ به ۳/۵ و سپس با شیب ملایمی افزایش می‌یابد (شکل ۲) (۵۷). pH اولیه محیط اثر قوی بر روی جذب و به کار گرفتن منابع کربنی دارد. در کشت‌هایی با pH اولیه‌ی ۹/۵-۷/۵ شکل منحنی بصورت فرو رفته یا مقعر است و بدین معنی است که حجم جذب کربوهیدرات بالا می‌باشد و در کشت‌هایی با pH اولیه ۵/۵-۳/۵ منحنی pH بصورت محدب است و نشانگر این است که جذب کربوهیدرات پایین می‌باشد. در pH برابر۶/۵ منحنی حدواسط این دو (بصورت محدب و مقعر) است



شکل ۲. تغییرات pH در کشت با منابع کربنی گلوکز و لاکتوز (۵۷)

عناصر معدنی: کم یا اضافه بودن عناصر معدنی بر روی تولید متابولیت ها یا رشد سلولی اثر منفی می‌گذارد. برای بررسی اثر عناصر معدنی اثر شش تا از مهمترین کاتیون‌های فلزی دو ظرفیتی شامل Fe, Zn, Ca, Cu, Mg, Mn بصورت سولفاته بر روی رشد و تولید لواستاتین بررسی شده است. گزارشات نشان می‌دهند که کاتیون‌های فلزی دو ظرفیتی اثر مؤثری بر رشد سلولی و بیوسنتز لواستاتین دارند. این گزارشات نشان دادند که درست است که عناصر معدنی برای رشد میکروارگانیسم بسیار ضروری می‌باشند اما سطوح بالای آنها نیز بر رشد اثر معکوس گذاشته و موجب جلوگیری از رشد و تولید لواستاتین می‌شوند (۵۹).

القاءگرها: افزودن القاءگر بواسطه تأثیر بر آنزیم‌ها در هر یک از مراحل رشد و همچنین میزان افزودن آن در تولید متابولیت های ثانویه مؤثر می‌باشد. محققان انواعی از القاگرها از جمله هیدرات منیزیم سیلیکات، ایتاکونیک اسید، آمینواسید متیونین، آنتی‌بیوتیک‌های پلی‌کتید و لینولئیک اسید، کروم سنسینگ و لینولئیک اسید را جهت تولید بیشتر لواستاتین مورد بررسی قرار داده اند (۶۲و۶۱و۶۰) Gonciarz و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند که افزودن هیدرات منیزیم سیلیکات به محیط کشت *آسپرژیلوس ترئوس* موجب ایجاد پلت های کوچک تر، فشرده تر و تولید بیشتر لواستاتین می‌شود (۶۰). Sorrentino و همکاران نیز با انجام مطالعه ای در ارتباط با تاثیر لینولئیک اسید بر روی تولید لواستاتین به این نتیجه رسیدند که افزودن ۱۶۰ و ۳۲۰ میکرو مولار لینولئیک اسید در روز صفر موجب ۱/۶ و ۱/۸ برابر شدن تولید لواستاتین می‌شود اما افزودن ۳۲ میکرو مولار هیچ تأثیری بر روی تولید لواستاتین ندارد(۵۲).

دما: برای بیشترین تولید لواستاتین با استفاده از فاکتور دما کشت با دمای بهینه رشد آغاز می‌شود و در ادامه برای تولید لواستاتین دمای پایینتر ترجیح داده می‌شود این کار موجب توقف رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شود. جدا کردن فاز رشد از فاز تولید بوسیله‌ی تغییر دما از ۳۰ به ۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام می‌شود که موجب تولید ۲۰ برابری لواستاتین در مقایسه با دمای ثابت محیط کشت می‌شود (۶۳). برعکس افزایش دما تا ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد موجب مهار تولید لواستاتین توسط قارچ *آسپرژیلوس ترئوس* می‌گردد (۶۴).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.12.6.2]
[DOI: 10.22088/jbums.18.12.40]

بحث و نتیجه گیری

برای تولید صنعتی لواستاتین عموما از دو روش عمده شامل کشت جامد و مایع استفاده می‌شود. نتایج نشان داده‌اند که در کشت جامد تولید لواستاتین از قارچ‌های *موناسکوس روبر* و *موناسکوس پورپورئوس* بیشتر از کشت مایع می‌باشد (۶۵). اما در کشت مایع تولید لواستاتین توسط قارچ *آسپرژیلوس ترئوس* بیشتر از قارچ‌های *موناسکوس* گزارش شده است (۶۶).

شرایط بهینه برای تولید لواستاتین در کشت جامد در اکثر مقالات تقریبا مشابه است اگرچه در برخی آزمایش‌ها نسبت‌های بسیار متفاوت‌تری استفاده شده است، این فاکتورها شامل دما (بین ۲۰-۳۰ درجه ی‌سانتی گراد)، pH (بین ۵/۵-۶) و رطوبت (بین ۴۰-۷۰٪) می‌باشد. از معایب این نوع کشت می توان به عدم کنترل پارامترهای فرآیند (مانند اکسیژن، دما، رطوبت) در تولید صنعتی و مشکل تغییر مقیاس از سطح آزمایشگاهی به سطح صنعتی اشاره نمود، به همین دلیل معمولا از این نوع کشت در تولید صنعتی استفاده نمی‌شود(۶۸و۶۷).

در کشت مایع برای تکرار پذیری آزمایشات میزان اسپور باید ثابت نگه داشته شود و به طور میانگین باید حدود 10^7 اسپور در میلی لیتر به محیط کشت تلقیح شود (۴۲). علاوه بر میزان اسپور، سن اسپور نیز در تولید لواستاتین نقش دارد، مطابق گزارشات هنگامی که سن تلقیح اسپورها از ۹ روز به ۱۶ روز افزایش پیدا کند میزان لواستاتین نیز ۵۲٪ افزایش می یابد (۱۱). گلوکز به عنوان یکی از منابع کربنی است که تولید بالای لواستاتین را به همراه دارد (۴۸و۴۷). بیشترین تولید لواستاتین در غلظت ۶٪ (وزنی/حجمی) گلوکز بدست آمده است. بیشترین میزان تولید زیست توده نیز در هنگام استفاده از فروکتوز بدست آمده است (۴۹و۲۱).

لاکتوز نیز کمترین میزان زیست توده تولیدی و بیشترین میزان بازده تولید لواستاتین بر زیست توده را دارد (۴۵). از نظر منابع نیتروژنی بیشترین بازده‌ی تولید لواستاتین مرتبط با استفاده از سویا یا عصاره‌ی مخمر می‌باشد (۱۹). بیشترین میزان نسبت C/N برای تولید لواستاتین و کمترین میزان برای تولید زیست توده در قارچ *آسپرژیلوس ترئوس* به کار می‌رود (۱۹). pH آغازی نقش مهمی در رشد قارچ و تولید لواستاتین دارد به طوری که میزان بالای لواستاتین در pH بالای ۶/۵ به دست آمده است (۵۸). عناصر معدنی نیز همانند pH موجب تنظیم ژن‌ها می‌شوند که مهمترین آنها در تولید لواستاتین عناصر Fe و Zn می‌باشند (۵۹). از دیگر فاکتورهای مؤثر در تولید لواستاتین القاءگرها هستند که افزودن آنها در غلظت خاص و زمان مشخصی، موجب افزایش تولید لواستاتین می‌شود، افزودن این مواد در غلظت‌های بالاتر یا پایین تر اثر معکوس خواهد داشت و موجب کاهش تولید لواستاتین می‌شود، (۷۰و۶۹و۵۲) از پارامترهای مهم دیگر می‌توان به دما اشاره کرد، با تغییر دما (از ۳۰ به ۲۳ درجه سانتی گراد) می‌توان فاز رشد را از فاز تولید جدا کرد که موجب افزایش تولید لواستاتین در مقایسه با دمای ثابت محیط کشت می‌شود (۶۳)، برعکس افزایش دما موجب مهار تولید لواستاتین توسط قارچ *آسپرژیلوس ترئوس* می‌گردد (۶۴).

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از بنیاد ملی نخبگان و دکتر سورنا ستاری ریاست محترم بنیاد ملی نخبگان تشکر و قدردانی می‌گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.12.6.2]
[DOI: 10.22088/jbums.18.12.40]

A Review of the Effective Factors for Lovastatin Production by Aspergillus Terreus Atcc 20542 in Liquid Submerged Fermentation

F. Jaberi Ansari (MSc)[1], H. Jafari Mansoorian (MSc)[2], H. Jalili (PhD)*[3], M. Azizi (PhD)[4]

1.Department of Medical Nanotechnology, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
2.Environmental Health Engineering Research Center, Department of Environmental Health, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, I.R.Iran
3.Department of Life Science Engineering, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, I.R.Iran
4.Department of Medicinal Plants Production & Processing, Horticulture College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 18(12); Dec 2016; PP: 40-8.
Received: Aug 16th 2016, Revised: Sep 27th 2016, Accepted: Nov 26th 2016.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Deposition of cholesterol in the arteries is the one of the main causes of cardiovascular disease. Lovastatin is a blood cholesterol-lowering drug that inhibits 3-Hydroxy 3-methyl glutaryl-CoA reductase (HMG-CoA reductase) enzyme. The aim of this study was to evaluate the effective factors for lovastatin production by Aspergillus terreus ATCC 20542.

METHODS: This study is a literature review, In order to gather information, articles containing one of the words in their text, including: Cardiovascular disease, Lovastatin, HMG-CoA reductase, Liquid submerged fermentation, Aspergillus terreus were searched between 1960 and 2016 in PUBMED, NATURE, SCIENCE DIRECT and WHO databases.

FINDINGS: A total of 180 papers found that of these, 70 were diagnosed article suitable for this study. According to the results, lactose as the best carbon source, soya been and yeast extract as the nitrogen source, C/N ratio of 41.3, the 107 spores/ml, the pH equal to 6.5, Fe, Zn, Mn as mineral elements and inducer such as linoleic acid at a optimum concentration causes the highest amount of lovastatin.

CONCLUSION: The study shows, the source of carbon and nitrogen, the C/N, the amount and type of inoculation, pH, minerals and inducer are the most important factors affecting the morphology and oxygen uptake by the, Aspergillus terreus and hence also affect the production of lovastatin.

KEY WORDS: *Biosynthesis, Cardiovascular disease, Lovastatin, HMG-CoA reductase, Aspergillus terreus.*

Please cite this article as follows:

Jaberi Ansari F, Jafari Mansoorian H, Jalili H, Azizi M. A Review of the Effective Factors for Lovastatin Production By Aspergillus Terreus Atcc 20542 in Liquid Submerged Fermentation. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(12):40-8.

***Corresponding author: H. Jalili (PhD)**
Address: Faculty of New Sciences and Technologies, Kargar Shomali St., Enqelab Sq., University of Tehran, Tehran, I.R.Iran
Tel: +98 21 88618431
E-mail: hjalili@ut.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.12.6.2]
[DOI: 10.22088/jbums.18.12.40]

References

1.Alberts A, Chen J, Kuron G, Hunt V, Huff J, Hoffman C, et al. Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. Proc Nati Acad Sci. 1980;77(7):3957-61.

2.Goswami S, Vidyarthi A, Bhunia B, Mandal T.A review on lovastatin and its production. J Biochem Technol 2012;4(1):581-7.

3.Jaberi Ansari F Jalili H. Optimization of complex media for increase lovastatin production by Aspergillus terreus in Department of Life Science Engineering2016, Tehran university: Tehran university.

4.Mansoori S, Yazdian F, Azizi M, Sheikhpour5 M, Amooabedini G, Hamedi J, et al. Optimization of monacolin production in a controlled system. App Food Biotechnol. 2015; 2(4):21-26.[In Persian].

5.Razeghi Yadak L, Azizi M, Farsi M, Shahtahmasebi S. Evaluation effect of media formulation, pH and temperature on" shiitake " mycelium growth analysis on solid and liquid culture conditions. Ir J Hurticulture Sci 2009;23(1):18-26.[In Persian].

6.Tavana M, Azizi M, Farsi M, Baneshi F.Optimization of medium composition for efficient production of mycelial biomass and extracellular polysaccharides in the submerged culture of Ganoderma lucidum Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 2012;28(3):423-33.[In Persian].

7.Azizi M1, Tavana M, Farsi M, Oroojalian F.Yield performance of lingzhi or reishi medicinal mushroom, ganoderma iucidum (W.Curt.:Fr.) P. karst. (Higher Basidiomycetes), using different waste materials as substrates. Inter J Med Mushrooms. 2012;14(5):521-7.

8.Kamath P V, Dwarakanath B S, Chaudhary AJanakiraman S. Optimization of culture conditions for maximal lovastatin production by aspergillus terreus (KM017963) under solid state fermentation. HAYATI J Biosci. 2015;22(4):174-80.

9.Sripalakit P, Riunkesorn J, Saraphanchotiwitthaya A.Utilisation of vegetable oils in the production of lovastatin by aspergillus terreus ATCC 20542 in submerged cultivation. Maejo Int J Sci Technol. 2011;5(02):231-40.

10.Pecyna M Bizukojc M. Lovastatin biosynthesis by Aspergillus terreus with the simultaneous use of lactose and glycerol in a discontinuous fed-batch culture. J biotechnol. 2011;151(1):77-86.

11.Porcel E R, López J C, Ferrón M V, Pérez J S, Sánchez J GChisti Y. Effects of the sporulation conditions on the lovastatin production by Aspergillus terreus. Bioproc Biosys Engin. 2006;29(1):1-5.

12.Gupta K, Mishra PK, Srivastava P. A correlative evaluation of morphology and rheology of Aspergillus terreus during lovastatin fermentation. Biotechnol Bioproc Engine. 2007;12(2):140-6.

13.Alberts A W. Discovery, biochemistry and biology of lovastatin. Am J cardiol. 1988;62(15):10-5.

14.Jaivel N, Marimuthu P. Optimization of lovastatin production in solid state fermentation by Aspergillus terreus. International Journal of Engineering Science and Technology. 2010; 2(7): 2730-2733.

15.Endo A, HasumiA K, Yamada A, Shimoda Rtakeshima H. The synthesis of compactin (ML-236B) and monacolin K in fungi. J Antibio. 1986;39(11):1609-10.

16.Endo A, Kuroda MTanzawa K. Competitive inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase by ML-236A and ML-236B fungal metabolites, having hypocholesterolemic activity. FEBS letters. 1976;72(2):323-6.

17.Endo A, Kuroda MT, sujita Y. ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterogensis produced by Penicillium citrinum. The J Antibio. 1976;29(12):1346-8.

18.Jůzlová P, Martinkova L, Křen V. Secondary metabolites of the fungusMonascus: a review. J Indust Microbiol. 1996;16(3):163-70.

19.Lopez JC, Pérez JS, Sevilla JF, Fernandez FA, Grima E, MChisti Y. Production of lovastatin by Aspergillus terreus: effects of the C: N ratio and the principal nutrients on growth and metabolite production. Enzyme microbial technol. 2003;33(2):270-7.

20.Arabatzis M, Velegraki A. Sexual reproduction in the opportunistic human pathogen Aspergillus terreus. Mycologia. 2012;105(1): 71-9.

21.Radha K Lakshmanan D. A review: lovastatin production and applications. Asia J Pharma Clin Res. 2013;6(3):21-6.

22.Wei P l, Xu Z N, Cen P l. Lovastatin production by Aspergillus terreus in solid-state fermentation. Journal of Zhejiang University - Science A: Applied Physics & Engineering. 2007. 8(9):1521-1526.

23.Balakrishnan K Pandey A. Production of biologically active secondary metabolites in solid state fermentation. J sci Indust Res. 1996;55(5-6):365-72.

24.Chang YN, Huang JC, Lee CC, Shih LTzeng YM. Use of response surface methodology to optimize culture medium for production of lovastatin by Monascus ruber. Enzyme Microb Technol. 2002;30(7):889-94.

25.Chen F Hu X. Study on red fermented rice with high concentration of monacolin K and low concentration of citrinin. Inter J food Microbiol. 2005;103(3):331-7.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.12.6.2]
[DOI: 10.22088/jbums.18.12.40]

26.Chiu CH, Ni KH, Guu YKPan TM. Production of red mold rice using a modified Nagata type koji maker. App Microbiology Biotechnol. 2006;73(2):297-304.
27.Hajjaj H, Niederberger PDuboc P. Lovastatin biosynthesis by Aspergillus terreus in a chemically defined medium. App Environment Microbiol. 2001;67(6):2596-602.
28.Kohama Y, Matsumoto S, Mimura T, Tanabe N, Inada Anakanishi T. Isolation and identification of hypotensive principles in red-mold rice. Chem Pharmac Bull. 1987;35(6):2484-9.
29.Lee CL, Tsai TY, Wang JJ, Pan TM. In vivo hypolipidemic effects and safety of low dosage Monascus powder in a hamster model of hyperlipidemia. Applied microbiology and biotechnology. 2006;70(5):533-40.
30.Miyake T, Mori A, Kii T, Okuno T, Usui Y, Sato F, et al. Light effects on cell development and secondary metabolism in Monascus. J Indust Microbiol Biotechnol. 2005;32(3):103-8.
31.Miyake T, Uchitomi K, Zhang M-Y, Kono I, Nozaki N, Sammoto H, et al. Effects of the principal nutrients on lovastatin production by Monascus pilosus. Bioscience, biotechnol, biochem. 2006;70(5):1154-9.
32.Valera H, Gomes J, Lakshmi S, Gururaja R, Suryanarayan SKumar D. Lovastatin production by solid state fermentation using aspergillus flavipes. Enzyme Microbial Technol. 2005;37(5):521-6.
33.Xu BJ, Wang QJ, Jia XQ,Sung CK. Enhanced iovastatin production by solid state fermentation of Monascus ruber. Biotechnol Bioproc engine. 2005;10(1):78-84.
34.Mansoori S, Yazdian f, azizi M, Sheikhpour M, Amoabediny G, Hamedu J, et al. Optimization of iovastatin production by monascus purpureus in submerged fermentation. Tarbiat modares biotechnology. 2015;2(4):21-6.
35.Baneshi F, Azizi M, Saberi MFarsi M. Evaluation of pH, carbon source and temperature effect on the pigments production by Monascus purpureus in a liquid culture using response surface methodology. Inter J Current Microbiol App Sci. 2014;3(10):405-11.[In Perian]
36.Kumar MS, Jana SK, Senthil V, Shashanka V, Kumar S VSadhukhan A. Repeated fed-batch process for improving lovastatin production. Process Biochem. 2000;36(4):363-8.
37.Novak N, Gerdin SBerovic M. Increased lovastatin formation by Aspergillus terreus using repeated fed-batch process. Biotechnol Lett. 1997;19(10):947-8.
38.Porcel E R, López J C, Pérez J S, Sevilla J FChisti Y. Effects of pellet morphology on broth rheology in fermentations of Aspergillus terreus. Biochem Engine J. 2005;26(2):139-44.
39.Porcel EMR, Lopez JLC, Perez JA SChisti Y. Lovastatin production by Aspergillus terreus in a two-staged feeding operation. J Chem technol biotechnol. 2008;83(9):1236-43.
40.Rodriguez Porcel E, Casas Lopez J, Sanchez Perez JChisti Y. Enhanced production of lovastatin in a bubble column by Aspergillus terreus using a two-stage feeding strategy. J Chem Technol Biotechnol. 2007;82(1):58-64.
41.López J C, Pérez J S, Sevilla J F, Porcel E RChisti Y. Pellet morphology, culture rheology and lovastatin production in cultures of Aspergillus terreus. J biotechnol. 2005;116(2005):61-77.
42.Bizukojc M, Ledakowicz S. Biosynthesis of lovastatin and (+)-geodin by aspergillus terreus in batch and fed-batch culture in the stirred tank bioreactor. Biochemical Engine J. 2008;42(3):198-207.
43.Flaherty J E Dunkle L D. Identification and expression analysis of regulatory genes induced during conidiation in exserohilum turcicum. Fungal Genet Bio. 2005;42(5):471-81.
44.Gupta RB, Kumar R, Betageri GV. Phase behavior of mixtures containing antibiotics. Chloramphenicol partitioning. Indust Engin Chem Res. 1997;36(9):3954-9.
45.Jia Z, Zhang XCao X. Effects of carbon sources on fungal morphology and lovastatin biosynthesis by submerged cultivation of Aspergillus terreus. Asia-Pacific J Chem Engin. 2009;4(5):672-7.
46.Greenspan MD Yudkovitz JB. Mevinolinic acid biosynthesis by Aspergillus terreus and its relationship to fatty acid biosynthesis. J bacterial. 1985;162(2):704-7.
47.Gunde-Cimerman N, Friedrich J, Cimerman ABenički N. Screening fungi for the production of an inhibitor of HMG CoA reductase: Production of mevinolin by the fungi of the genus Pleurotus. FEMS microbiol lett. 1993;111(2):203-6.
48.Endo A. Monacolin K, A new hypocholesterolemic agent produced by a Monascus species Endo. J Antibio. 1979;32(8):852-4.
49.Feng B, Friedlin E, Marzluf GA. A reporter gene analysis of penicillin biosynthesis gene expression in Penicillium chrysogenum and its regulation by nitrogen and glucose catabolite repression. App Environment Microbio. 1994;60(12):4432-9.
50.Martín J F, Casqueiro J, Kosalková KMarcos AT. Penicillin and cephalosporin biosynthesis: mechanism of carbon catabolite regulation of penicillin production. Antonie van Leeuwenhoek. 1999;75(1-2):21-31.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.12.6.2]
[DOI: 10.22088/jbums.18.12.40]

51.Shindia A. Some nutritional factors influencing mevinolin production byAspergillus terreus strain. Folia microbiol. 2001;46(5):413-16.

52.Sorrentino F, Roy IKeshavarz T. Impact of linoleic acid supplementation on lovastatin production in aspergillus terreus cultures. App Microbiol Biotechnol. 2010;88(1):65-73.

53.Karthika C, Sharmila G, Muthukumaran CManikandan K. Utilization of whey powder as an alternate carbon source for production of hypocholesterolemic drug by aspergillus terreus MTCC 1281. Food Sci Biotechnol. 2013;22(5):1-7.

54.Sanchez S, Demain AL. Metabolic regulation of fermentation processes. Enzyme Microb Technol. 2002;31(7):895-906.

55.Gunde-Cimerman N, Cimerman A. Pleurotus fruiting bodies contain the inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase—lovastatin. Experiment Mycol. 1995;19(1):1-6.

56.Casas Lopez J, Sanchez Perez J, Fernandez Sevilla J, Acien Fernandez F, Molina Grima E, Chisti Y. Fermentation optimization for the production of lovastatin by Aspergillus terreus: use of response surface methodology. J Chem Technol Biotechnol. 2004;79(10):1119-26.

57.Lai L-S T, Hung C-SLo C-C. Effects of lactose and glucose on production of itaconic acid and lovastatin by Aspergillus terreus ATCC 20542. J Biosci Bioengin. 2007;104(1):9-13.

58.Osman M, Khattab O, Zaghlol GEl-Hameed R MA. Optimization of some physical and chemical factors for lovastatin productivity by local strain of Aspergillus terreus. Australia J Basic App Sci. 2011;5(6):718-32.

59.Jia Z, Zhang X, Zhao YCao X. Effects of divalent metal cations on lovastatin biosynthesis from Aspergillus terreus in chemically defined medium. World J Microbiol Biotechnol. 2009;25(7):1235-41.

60.Gonciarz J, Bizukojc M. Adding talc microparticles to Aspergillus terreus ATCC 20542 preculture decreases fungal pellet size and improves lovastatin production. Engin Life Sci. 2014;14(2):190-200.

61.Chan JK, Moore RN, Nakashima TT,Vederas JC. Biosynthesis of mevinolin. Spectral assignment by double-quantum coherence NMR after high carbon-13 incorporation. J Am Chem Soc. 1983;105(10):3334-6.

62.Shiao M-S, Don H-S. Biosynthesis of mevinolin, a hypocholesterolemic fungal metabolite, in Aspergillus terreus. P M C. 1987;11(3):223-31.

63.Tsukahara M, Shinzato N, Tamaki Y, Namihira T, Matsui T. Red yeast rice fermentation by selected Monascus sp. with deep-red color, lovastatin production but no citrinin, and effect of temperature-shift cultivation on lovastatin production. Appl biochem biotechnol. 2009;158(2):476-82.

64.Chang Y, Lin Y, Lee C, Liu BT,zeng Y. Effect of rice-glycerol complex medium on the production of lovastatin by monascus ruber. Folia microbiol. 2002; 47 (6): 677-684.

65.Sayyad SA, Panda BP, Javed S, Ali M. Optimization of nutrient parameters for lovastatin production by monascus purpureus MTCC 369 under submerged fermentation using response surface methodology. App Microbiol Biotechnol. 2007;73(5):1054-8.

66.Szakács G, Morovján G, Tengerdy RP. Production of lovastatin by a wild strain of Aspergillus terreus. Biotechnol Let. 1998;20(4):411-5.

67.Faseleh Jahromi M, Liang JB, Ho YW, Mohamad R, Goh Y MShokryazdan P. Lovastatin production by Aspergillus terreus using agro-biomass as substrate in solid state fermentation. Bio Med Res Int 2012;2012:1-11 .Article ID 196264.

68.Wei P-l, Xu Z-nCen P-l. Lovastatin production by Aspergillus terreus in solid-state fermentation. J Zhejiang Univ Sci. 2007;8(9):1521-6.

69.Crueger W Crueger A. Biotechnology: a textbook of industrial microbiology. 2006;

70.Lai L-ST, Pan C-CT, zeng BK. The influence of medium design on lovastatin production and pellet formation with a high-producing mutant of Aspergillus terreus in submerged cultures. Proc Biochem. 2003;38(9):1317-26.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1395.18.12.6.2]
[DOI: 10.22088/jbums.18.12.40]