مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال نهم، شماره 2، تابستان 1393، صفحات 66-59

استفاده از منبع کربوهیدراتی و پسماندهای روغنی در تولید لیپید از قارچ *موکور هیمالیس*

مینا محمدی نصر، مریم السادات میرباقری، ایرج نحوی

1- نویسنده مسئول: کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه اصفهان، ایران
پست الکترونیکی: mina.mohammadynasr@gmail.com
2- دکتری میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، ایران
3- استاد بیوتکنولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: 92/5/2 تاریخ پذیرش: 92/7/7

چکیده

سابقه و هدف: تولید لیپید میکروبی به دلیل داشتن سوبسترای ارزان، محتوای اسیدهای چرب با ارزش و سرعت رشد میکروارگانیسم‌ها قابل توجه پژوهشگران است. در این مطالعه، بازده تولید لیپید و نوع اسیدهای چرب تولید شده از قارچ *موکور هیمالیس* PTCC 5292، با استفاده از منبع کربوهیدراتی و پسماندهای روغنی بررسی و مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها: تعداد 1×10^7 اسپور قارچ *موکور هیمالیس* به 50ml محیط تولید در حضور سه نوع منبع کربن شامل گلوکز یا پسماند روغنی مرغ و یا پسماند روغنی ماهی در دمای 28°C برای 72 ساعت کشت داده شد. محیط‌های تولید شامل دو نوع محیط بود که محیط "الف" منحصراً دارای منبع کربن و نیتروژن بوده و محیط "ب" محدودیت منبع نیتروژنی بیشتری نسبت به محیط "الف" داشت. در نهایت، پروفایل اسید چرب لیپید تولید شده توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی آنالیز شد.

یافته‌ها: بازده تولید لیپید در محیط "ب" برای گلوکز، پسماند روغنی مرغ و پسماند روغنی ماهی به ترتیب 33%، 66% و 68% بود که این میزان در مقایسه با محیط "الف" افزایش نشان می‌داد. زیرا محدودیت منبع نیتروژن در محیط "ب" سبب می‌شود که در فاز رشد لگاریتمی، میکروارگانیسم سریعتر به مرحله تولید لیپید برسد. همچنین اسیدهای چرب متفاوتی مانند لینولئیک اسید با استفاده از گلوکز به عنوان منبع کربن در محیط "ب" تولید شد.

نتیجه گیری: یافته‌های این تحقیق نشان داد استفاده از پسماندهای روغنی علاوه بر دسترسی آسان و کاهش هزینه، منجر به افزایش تولید لیپید در *موکور هیمالیس* می‌شوند. اسیدهای چرب غیر اشباع ضروری تولید شده توسط این قارچ نیز از ویژگی‌های بارز آن برای تولید لیپید میکروبی مفید در صنایع غذایی هستند. ضمن این که داده ها نشان داد محدودیت منبع نیتروژن نیز تأثیر معنی داری در تولید لیپید میکروبی توسط این قارچ دارد.

واژگان کلیدی: اسیدچرب، کروماتوگرافی گازی، لیپید میکروبی، *موکور هیمالیس*

• مقدمه

ترکیبات اسیدهای چرب موجود در روغن‌ها و چربی‌ها، تعیین کننده کیفیت و نوع کاربرد آن‌ها است. برای کاربرد تغذیه‌ای، وجود اسیدهای چرب اشباع نشده لازم است و هرچه میزان اسید های چرب غیر اشباع بیشتر باشد تأثیر مثبت آن بر روی سلامتی بیشتر است. با توجه به افزایش روز افزون جمعیت و افزایش تقاضا برای روغن‌ها و چربی‌ها و همچنین نوساناتی که در این بازار وجود دارد نیاز به پیدا کردن منابع جدید در این زمینه می‌باشد. از جمله منابع جدید که دانشمندان در سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای روی آن‌ها انجام داده‌اند میکروارگانیسم‌ها می‌باشند (1).

با توجه به این که اسیدهای چرب در منابع گیاهی و حیوانی در مقادیر کم وجود دارند، محققین نسبت به یافتن منابع جدید آن‌ها مطالعات گسترده‌ای انجام داده‌اند، یکی از این منابع، میکروارگانیسم‌های روغنی یا دربردارنده روغن

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

می‌باشند. به میکروارگانیسم‌هایی که بیش از 20 درصد بیومس خشک آن‌ها را روغن تشکیل دهد میکروارگانیسم روغنی می‌گویند. بیوشیمی فرآیند تولید لیپید به صورت گسترده‌ای مطالعه شده است. انواع گوناگونی از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها که قادر به تجمع چربی در ساختارشان هستند در منابع کربنی متفاوت رشد می‌کنند و مقادیر خاصی از لیپید را در خود ذخیره‌سازی می‌کنند (2). لیپیدهای میکروبی تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها کاربردهای متفاوتی دارند. لیپیدهای مخمری در تولید بیودیزل بسیار کارا هستند و لیپیدهای باکتری‌ها و قارچ‌ها از نظر اسیدهای چرب غیر اشباعی که تولید می کنند بیشتر مورد توجه هستند.

اولین تلاش جدی در زمینه استفاده از میکروارگانیسم‌ها برای تولیدات صنعتی روغن در جنگ جهانی اول، زمانی‌که کشورهای دشمن عرضه روغن را قطع کردند آغاز گردید اما پس از پایان جنگ به دلیل قیمت پایین منابع قدیمی تحقیق و تولید روغن صنعتی متوقف گردید (3). Mona و همکاران سویه ای از باکتری *گوردونیا* را شناسایی نمودند که دارای 80% بازده تولید لیپید بود در حالی که تولید 1/88 گرم وزن خشک می‌کرد (4). در بین 600 سویه مخمری تنها 30 مورد قادر به ذخیره بیش از 20% لیپید در بیومس خود می‌باشند (5). بهترین سویه های مخمر تولید کننده روغن شامل *لیپومایسس، یاروویا، کریپتوکوکوس، رودوتورولا* و *تریکوسپورون* هستند (6).

بیشتر قارچ‌ها از جمله زیگومایست‌ها شامل *مورتیرلا، کانینگاملا، موکور و ریزوپوس* قادر به تجمع لیپید هستند (7). این سویه‌ها وقتی در منابع کربنی مختلف کشت داده می‌شوند قادر به ذخیره لیپید با ارزش در ساختار خود می‌باشند و استفاده تجاری آن‌ها مقرون به صرفه است.

Papanikolaou و همکاران در سال 2004 با استفاده از گلوکز به عنوان منبع کربن از قارچ *مورتیرلا آلپینا* لیپید با بازده 50% (8) و در سال 2007 با منبع کربن نامبرده با استفاده از قارچ *کانینگاملا اکی نولاتا* لیپید با بازده 35% تولید کردند. Andre و همکاران نیز در سال 2000 با استفاده از منبع کربن گلیسرول از قارچ *آسپرژیلوس نایجر* به بازده لیپید 39% در pH 5 تا 6 رسیدند (9). Mamatha و همکاران در سال 2010 با بررسی قارچ‌های *موکور هیمالیس* و موکور روکسی به ترتیب به بازده 24/35 و 27/12 در تولید لیپید رسیدند (10). Tauk-tornisielo در سال 2007 از روغن‌های گیاهی برای تولید اسیدهای چرب از جمله گاما لینولنیک اسید (GLA) در چند سویه از *موکور هیمالیس* بهره گرفت که بهترین میزان GLA برای این سویه‌ها در محیط حاوی روغن آفتابگردان (15/8g برای سویه M2) گزارش شد (11).

روغن‌هایی که با کشت قارچ‌ها ایجاد می‌شوند، اساساً دارای مقادیر زیادی پالمیتیک اسید، اولئیک اسید، لینولئیک اسید و لینولنیک اسید می‌باشند. توانایی بسیاری از قارچ‌ها برای تولید اسیدهای چرب غیراشباع مهم تغذیه‌ای مربوط به زنجیره n-3 و n-6 می‌شود و همین امر باعث مزیت این گروه میکروارگانیسم‌ها نسبت به مخمرها در کاربرد تجاری آن‌ها شده است. سویه های مختلف قارچ‌های *کانینگاملا* (*Cunninghamella*)، *موکور* (*Mucor*)، *مورتیرلا* (*Mortierella*) و *ریزوپوس* (*Rhizopus*) از مهمترین تولید کننده‌های اسیدهای چرب به حساب می‌آیند (12).

در این تحقیق، تولید لیپید و بررسی پروفایل اسیدچرب قارچ رشته‌ای *Mucor hiemalis* مورد بررسی قرار گرفت. در روش‌های رایج اغلب از گلوکز، نشاسته، ساکارز و فروکتوز به عنوان منبع کربن برای تولید اسیدهای چرب استفاده شده (13، 7) و در مطالعات دیگر از گلیسرول یا روغن تجاری میکروبی بهره گرفته شده است (11). در مطالعه حاضر برای اولین بار از پسماندهای روغنی مرغ و ماهی به عنوان منبع کربن برای تولید لیپید و اسیدچرب استفاده شد. همچنین مقایسه تولید لیپید و اسیدچرب آن‌ها با محیط حاوی گلوکز (به عنوان منبع کربن) صورت گرفت. سپس مقایسه بین یک محیط پایه شامل گلوکز و عصاره مخمر (منحصراً) و محیطی که علاوه بر این دو ماده دارای نمک‌های معدنی و منبع نیتروژن محدود شده بود، صورت گرفت.

• مواد و روش‌ها

شرایط کشت و تلقیح: سویه مورد استفاده در این تحقیق قارچ رشته‌ای *Mucor hiemalis* با PTCC 5292 خریداری شده از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران بود. ابتدا سویه مورد نظر بر روی PDA استریل در دمای 28°C به مدت 7 روز کشت داده شد و بعد از تولید اسپور در این زمان، سرم فیزیولوژی استریل به آن اضافه شد. سپس تعداد 1×10^7 اسپور به انواع محیط‌های تولید تلقیح شد. این محیط‌ها به میزان 50 میلی‌لیتر در ارلن مایر 250 ml با ترکیبات متفاوت تهیه شدند. دو نوع محیط کشت مورد استفاده شامل مواد زیر بود (g/l):

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

محیط" الف": منبع کربن(30)، عصاره مخمر (10)
محیط "ب": منبع کربن (30)، عصاره مخمر (5)، KH_2PO_4 (2/4)، $FeCl_3.6H_2O$ (0/015)، $CuSO_4.5H_2O$ (0/0005)، KNO_3 (1)، $CaCl_2.H_2O$ (0/1)، $MgSO_4.7H_2O$ (0/5)، $ZnSO_4.7H_2O$ (0/0075) (14).

محیط تولید به مدت 72 ساعت در دمای 28°C و با دور 150 rpm قرار گرفت. منابع کربنی مورد آزمایش شامل ضایعات روغنی مواد غذایی سرخ کردنی (مرغ و ماهی) جمع آوری شده از سطح شهر اصفهان یا گلوکز بود که هرکدام به میزان 3 درصد به دو نوع محیط کشت ذکر شده اضافه گردید. نمک‌های مورد استفاده در آزمایش‌ها از شرکت Merck آلمان و گلوکز از شرکت Pareac ایتالیا تهیه شد.

رنگ آمیزی واکوئل‌های چربی با سودان سیاه B: به منظور بررسی تولید چربی از آنالیز کیفی سودان سیاهB استفاده گردید (15). در این روش از نمونه اسمیر تهیه شد و روی شعله تثبیت گردید. اسمیرها به مدت 15- 5 دقیقه درون سودان سیاه قرار گرفتند. سپس رنگ اضافه با آب مقطر شسته شد و نمونه ها در مجاورت هوا خشک شدند. در مرحله‌ی بعد با زایلل شست و شو داده شدند و به مدت 5 تا 10 ثانیه درون سافرانین یا محلول فوشین بازی 1% قرار گرفتند. پس از شست و شو و خشک شدن، نمونه های رنگ آمیزی شده با عدسی 100 میکروسکوپ نوری مشاهده شدند البته از یک روش اصلاح شده نیز استفاده شد که مقداری نمونه و رنگ سودان سیاه به مدت 1 دقیقه در میکروتیوب در مجاورت هم قرار گرفتند و سپس سافرانین به مدت 1 دقیقه اضافه شد در این حالت تصاویر به دست آمده واضح تر بود.

تعیین وزن خشک سلول: بعد از اتمام زمان تولید، میسلیوم‌ها به وسیله کاغذ فیلتر واتمن شماره یک از محیط کشت مایع جدا شدند و پس از 3 مرتبه شستشو با آب مقطر، به مدت 24 ساعت درون آون با دمای 80°C قرار گرفتند و وزن خشک آن‌ها محاسبه گردید.

استخراج لیپید: استخراج لیپید بر اساس روش اصلاح شده Bligh و Dyer انجام شد. میسلیوم‌ها از50 میلی لیتر محیط کشت تولید به وسیله کاغذ فیلتر واتمن شماره یک جدا شدند و پس از آن که 6-5 مرتبه با آب مقطر و سپس با اتانول و مجدداً 3-2 مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند، به آن‌ها 10 ml هیدروکلریدریک اسید 4 نرمال اضافه شد و در دمای 60°C به مدت 2-1 ساعت قرار گرفتند.

سپس توده هیدرولیز شده با اسید، با 20 ml از مخلوط کلروفرم/ متانول (1:1) در دمای اتاق برای 3- 2 ساعت به صورت افقی روی شیکر با دور 180 rpm قرار داده شد. به دنبال آن سانتریفوژ (2000g) برای 5 دقیقه صورت گرفت تا 2 فاز آبی و آلی از هم جدا شوند. فاز بالایی (آبی) توسط پی‌پت پاستور دور ریخته شد و فاز پایینی (آلی) که در برگیرنده‌ی لیپیدها بود، با سمپلر برداشته شد. این فاز که حاوی لیپید محلول در کلروفرم بود به مدت 24 ساعت در آون 50 درجه قرار داده شد. وزن لیپید اندازه گیری و با توجه به وزن خشک، درصد بازده تولید لیپید محاسبه گردید(16).

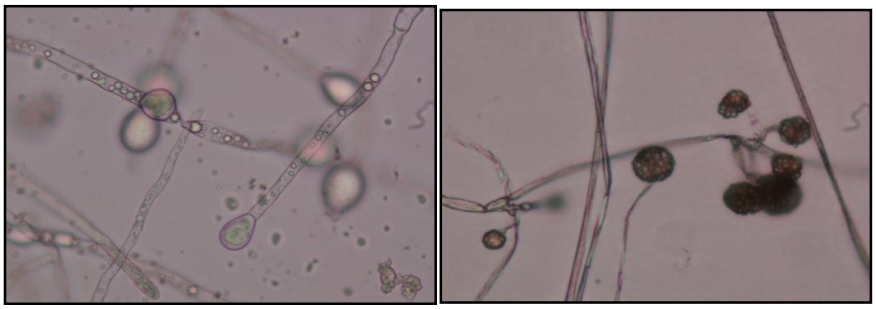
آنالیز اسیدچرب: ابتدا اسیدهای چرب موجود در نمونه متیل استره شدند. نمونه لیپید با 1 ml تولوئن در لوله آزمایش با سرپوش تفلونی حل گردید. سپس 2 ml از اسید سولفوریک در متانول 1% به آن اضافه شد و در دمای 50°C به مدت 24 ساعت نگه داشته شد. به لیپیدهای متیله شده 5 ml از محلول سدیم کلرید 5 % اضافه شد، سپس با افزودن 5 ml n- هگزان در آن حل شدند. بعد از آن سانتریفوژ شدند و لایه بالایی که حاوی نمونه متیل استره محلول در n- هگزان بود جداسازی شد (17).

شناسایی ترکیب اسیدهای چرب با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) مدل 19091J-413 از شرکت Agilent آمریکا مجهز به آشکارساز FID صورت گرفت و از نیتروژن به عنوان گاز حامل استفاده شد. ستون دستگاه از نوع HP-5 (طول ستون30 متر، قطر داخلی 0/25 میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن آن 0/25 میکرومتر) بود. از دمای ثابت 260°C برای ستون و فشار گاز 6/12 psi در محل خروجی سیلندر برای گاز حامل، استفاده شد. مقدار 1 میکرولیتر از نمونه به دستگاه تزریق گردید، زمان‌های خروج اسیدهای چرب از ستون مشخص شد و نمودار آن توسط دستگاه رسم شد. با مقایسه این زمان ها با زمان خروج اسیدهای چرب استاندارد، تک تک اسیدهای چرب نمونه مشخص شدند.

• یافته‌ها

مطالعه مورفولوژیک: به منظور بررسی تولید چربی و مشاهده واکوئل‌های چربی توسط قارچ نامبرده از رنگ سودان سیاه B استفاده شد (شکل 1).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

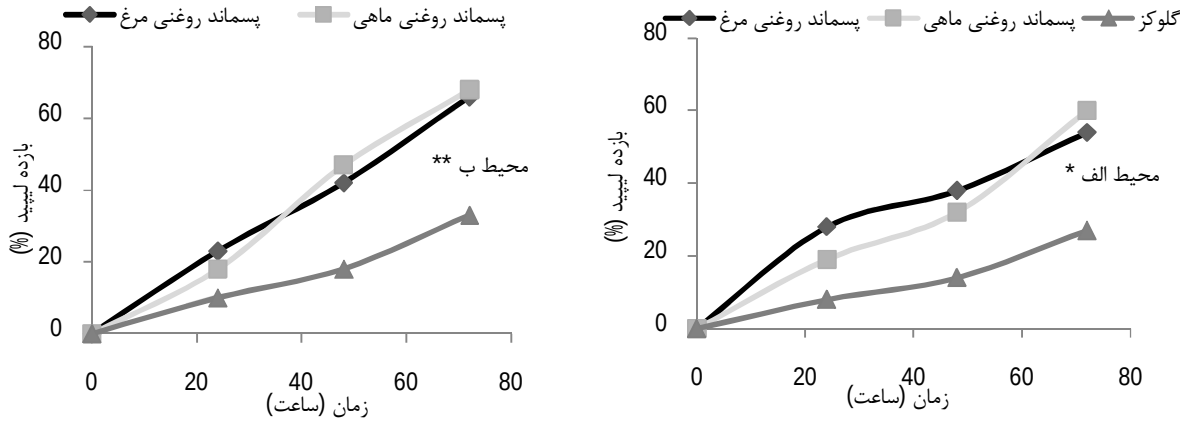


ب الف

شکل1. تصویر میکروسکوپی از قارچ موکور هیمالیس. الف- تصویر قارچ موکور هیمالیس کشت داده شده بر روی محیط PDA، ب- تصویر میسلیوم‌های حاوی واکوئل‌های چربی قارچ نامبرده (رنگ آمیزی شده با سودان سیاه B).

بررسی بازده تولید لیپید در طول زمان: همان طور که در شکل 2 مشاهده می‌شود، با بررسی بازده تولید لیپید در طول ساعات 24، 48 و 72 در هر دو محیط "الف" و "ب"، ساعت 72 بازده بالاتری در هر دو محیط داشت. با توجه به داده‌های حاصل مشخص شد که در ساعت 72، بازده تولید لیپید در محیط "ب" نسبت به محیط "الف" بالاتر است. همچنین محیط‌های حاوی روغن‌های حاصل از پسماند مرغ و ماهی نسبت به گلوکز بازده بیشتری داشتند و این میزان، برای پسماند روغنی ماهی نسبت به پسماند روغنی مرغ بیشتر بود (جدول 1).

شناسایی ترکیب اسیدهای چرب با گازکروماتوگرافی: درصد اسیدهای چرب قارچ موکور هیمالیس به تفکیک نوع آن‌ها در دو نوع محیط "الف" و "ب"، با گازکروماتوگرافی مشخص شد(جدول 1). مقادیر و در برخی موارد نوع اسیدچرب به دست آمده برای محیط "الف" و "ب" متفاوت بود. درصد عمده اسیدچرب محیط‌های حاوی پسماند روغنی در هر دو محیط "الف" و "ب" مربوط به استئارئیک اسید (C18:0)، و برای محیط‌های حاوی گلوکز مربوط به اولئیک اسید (C18:1) بود. ضمناً پروفایل اسیدچرب پسماندهای روغنی مرغ و ماهی نیز تعیین گردید و با پروفایل اسیدهای چرب محیط‌های حاوی پسماندها مقایسه شد. در مورد پسماندهای ماهی و مرغ به ترتیب لائوریک اسید و میریستیک اسید حضور داشت که در محیط‌های حاوی پسماند روغنی مرغ و ماهی وجود نداشت و در مورد سه اسید چرب دیگر (پالمیتیک اسید، هپتادکانوئیک اسید و استئارئیک اسید) که در هر دو پسماند و محیط‌های حاوی پسماند روغنی مرغ و ماهی وجود داشت، درصد کمی از این سه اسید چرب تولید شد (جدول 1).



شکل2. نمودار مقایسه بازده تولید لیپید قارچ موکور هیمالیس در دو نوع محیط "الف" و "ب" در طول زمان 72 ساعت (نتایج میانگین سه بار تکرار است).
*محیط "الف" (g/l): منبع کربن(30)، عصاره مخمر (10)
**محیط "ب" (g/l) : منبع کربن (30)، عصاره مخمر (5)، KH_2PO_4 (2/4)، $FeCl_3.6H_2O$ (0/015)، $CuSO_4.5H_2O$ (0/0005)، KNO_3 (1)، $CaCl_2.H_2O$(0/1)، $MgSO_4.7H_2O$ (0/5)، $ZnSO_4.7H_2O$ (0/0075).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

جدول 1. درصد اسیدهای چرب قارچ موکور هیمالیس در دو نوع محیط "الف" و "ب" و بازده تولید لیپید آن‌ها در زمان 72ساعت

	محیط "الف"*			محیط "ب"**			کنترل‌ها	
	پسماند روغنی مرغ	پسماند روغنی ماهی	گلوکز	پسماند روغنی مرغ	پسماند روغنی ماهی	گلوکز	پسماند روغنی مرغ	پسماند روغنی ماهی
C 6:0	6/8	7/0	9/1	8/0	9/0	9/2	-	-
C 8:0	-	-	2/2	-	-	2/0	-	-
C 9:0	2/3	2/0	-	2/2	2/0	2/4	-	-
C 10:0	-	-	-	-	-	1/5	-	-
C 12:0	-	-	-	-	-	2/2	-	4/3
C 14:0	-	-	-	-	-	1/8	5/6	-
C 16:0	11/0	15/0	9/2	9/0	18/0	20/0	2/7	2/2
C 17:0	16/0	12/0	7/2	13/9	15/0	7/8	7/7	6/8
C 18:0	53/0	35/0	8/9	50/0	45/0	6/4	3/4	3/8
C 18:1	4/0	-	14/7	4/0	-	31/0	-	-
C 18:2	4/7	4/5	6/2	4/5	5	8/4	-	-
C 20:0	-	-	-	-	-	7/3	-	-
وزن لیپید (g/l)	3/6	3/6	1/4	5/0	4/8	2/0		
وزن بیومس(g/l)	6/6	6/0	5/2	7/6	7/0	6/0		
بازده لیپید (%)	54/0	60/0	27/0	66/0	68/0	33/0		

*محیط "الف" (g/l): منبع کربن(30)، عصاره مخمر (10)

**محیط "ب" (g/l) : منبع کربن (30)، عصاره مخمر (5)، KH_2PO_4 (2/4)، $FeCl_3.6H_2O$ (0/015)، $CuSO_4.5H_2O$ (0/0005)، KNO_3 (1)، $CaCl_2.H_2O$(0/1)، $MgSO_4.7H_2O$ (0/5)، $ZnSO_4.7H_2O$ (0/0075).

اختصارات: هگزانوئیک اسید (C6:0)، اوکتانوئیک اسید (C8:0)، نونانوئیک اسید (C9:0)، دکانوئیک اسید (C10:0)، لائوریک اسید (C12:0)، میرستیک اسید (C14:0)، پالمیتیک اسید (C16:0)، هپتا دکانوئیک اسید (C17:0)، استئاریک اسید (C18:0)، اولئیک اسید (C18:1)، لینولئیک اسید (C18:2)، آراشیدیک اسید (C20:0).

• بحث

در این مطالعه بازده تولید لیپید در محیط "ب" نسبت به محیط "الف" بیشتر بود که این میزان برای پسماند روغنی مرغ در محیط "الف" و "ب" به ترتیب حدود 54 و 66 درصد، برای پسماند روغنی ماهی به ترتیب 60 و 68 درصد و برای گلوکز در این محیط‌ها 27 و 33 درصد بود. یافته به دست آمده برای گلوکز با نتایج Mamatha و همکارانش در سال 2010 مشابهت دارد (10). این نتیجه به علت محدودیت منبع نیتروژن محیط "ب" در مقایسه با محیط "الف" می‌باشد. زیرا محدودیت منبع نیتروژن سبب می‌شود که در فاز رشد لگاریتمی، میکروارگانیسم سریع‌تر به مرحله تولید لیپید برسد. به علاوه وجود نمک‌های معدنی مختلف و در نتیجه حضور فلزات در محیط "ب" شرایط مناسبی برای آنزیم‌های دخیل در سنتز و رشد لیپیدها فراهم ساخته است. در ضمن استفاده از چنین محیط‌هایی به دلیل دسترسی آسان و کاهش هزینه، صرفه اقتصادی را در پی خواهد داشت.

پس از تعیین پروفایل اسید چرب پسماندهای روغنی مرغ و ماهی و مقایسه آن‌ها با پروفایل محیط‌های حاوی پسماند روغنی مرغ و ماهی مشخص شد که این پسماندها در برخی موارد تولید اسیدهای چربی کردند که در محیط‌ها حضور نداشت (لائوریک و میریستیک اسید) در نتیجه به راحتی قابل تفکیک بودند. در مورد اسیدهای چرب پالمیتیک اسید، هپتادکانوئیک اسید و استئاریک اسید با توجه به اختلاف درصد این اسیدهای چرب در کنترل و نمونه‌ها به تولید اسیدهای چرب نامبرده در محیط پی برده می‌شود.

نمونه حاوی پسماند روغنی مرغ دارای 7 نوع اسید چرب در هر دو محیط "الف" و "ب" بود که با یافته Muniraj و همکارانش بر روی پسماندهای سیب زمینی در

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

سال 2013 مشابهت دارد (18). محیط "الف" نسبت به محیط "ب" درصد اسیدهای چرب بالاتری داشت. بالاترین درصد اسیدچرب در هر دو محیط مربوط به استئارئیک اسید (C18:0) بود که این میزان برای محیط "الف" و "ب" به ترتیب 53 و 50 درصد بود. اسیدچرب غیراشباع عمده این نمونه لینولئیک اسید (C18:2) به میزان 4/7 و 4/5 درصد به ترتیب برای محیط‌های "الف" و "ب" بود.

نمونه حاوی پسماند روغنی ماهی، برخلاف نمونه حاوی پسماند روغنی مرغ در محیط "ب" نسبت به محیط "الف" درصد اسیدهای چرب بالاتری داشت ولی همانند آن، شامل 7 نوع اسید چرب در هر دو محیط بود که با یافته های Zheng و همکاران در سال 2012 بر روی سویه هایی از رده موکوراسه مطابقت داشت (19). همچنین بالاترین درصد مربوط به استئاریک اسید بود که این میزان نسبت به محیط حاوی پسماند مرغ کمتر بود و برای محیط "الف" و "ب" به ترتیب 35 و 45 درصد بود. همچنین در این نمونه نیز اسیدچرب غیراشباع لینولئیک اسید بیشترین درصد را داشت، ولی در این نمونه در هر دو محیط فقدان تولید اولئیک اسید (C18:1) مشاهده شد که در دیگر نمونه‌ها وجود داشت.

نمونه حاوی گلوکز به طور قابل توجه و جالب در محیط "ب" علاوه بر ایجاد درصد بالاتری از اسیدهای چرب نسبت به محیط "الف"، تولید اسیدهای چرب متنوع‌تری کرد که این تعداد برای محیط "ب" 12 نوع و برای محیط "الف" 7 نوع بود. ظهور دکانوئیک اسید، لائوریک اسید، میریستئیک اسید، آراشیدیک اسید در این نمونه جلب توجه می‌کرد که صرفاً در محیط "ب" وجود داشتند. همچنین هر دو نوع محیط حاوی گلوکز دارای اکتانوئیک اسید (C8:0) بودند که در نمونه‌های حاوی پسماند روغنی مشاهده نشد. نمونه حاوی گلوکز در محیط "الف" برخلاف تمامی محیط‌ها فاقد نونانوئیک اسید (C9:0) بود. اسید چرب عمده این نمونه، اولئیک اسید بود که میزان آن به ترتیب برای محیط "الف" و "ب"، 14/7 و 31 درصد بود. همان طور که یافته‌های Sumner و همکاران در سال 1969برای رده موکورال به صورت مشابه اولئیک اسید را به عنوان اسید چرب غالب نشان داد (20) (جدول 1).

حضور این اسیدهای چرب خصوصاً لینولئیک اسید که از اسیدهای چرب ضروری (امگا 6) بوده و اهمیت تغذیه‌ای و داروئی آن به خوبی اثبات شده است، راه را برای ادامه تحقیق پیرامون تولید این اسیدهای چرب از این منابع، به خصوص در محیط‌های با محدودیت منبع نیتروژن (محیط "ب") باز می‌گذارد.

به دلیل استفاده از لیپیدها در بسیاری از داروها، مکمل-های تغذیه‌ای و مواد شیمیایی و از آن جایی که تولید لیپیدها از میکروارگانیسم‌ها نسبت به منابع دیگر از جهت کاهش هزینه و داشتن اسیدهای چرب با ارزش بسیار با اهمیت می‌باشد، بدون تردید با توجه بیشتر و بهینه سازی شرایط تولید، شاهد دستاوردهای بهتر خصوصاً در زمینه صنایع غذایی و دارویی خواهیم بود.

سپاسگزاری: از مسئولین محترم دانشگاه اصفهان به دلیل حمایت از این تحقیق و تأمین اعتبار و امکانات لازم برای انجام این پژوهش نهایت تشکر و سپاس می شود. همچنین از آقایان غلامرضا قزلباش و حسین قنواتی، دانشجویان دکتری میکروبیولوژی، و همچنین سرکار خانم الهام شیرانی مسئول محترم آزمایشگاه بیوتکنولوژی که صمیمانه ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند کمال قدردانی را داریم.

References

1. Jingyang X, Wei D, Xuebing Z, Guoling Z, Dehua L. Microbial oil production from various carbon sources and its use for biodiesel preparation. Biofuels, Bioprod. Bioref 2013; 7: 65–77
2. Ratledge C. Microbial lipids: Commercial realities or academic curiosities. In: D. J. Kyle, and C. Ratledge(eds.). Industrial Applications of Single Cell Oils. AOCS Press, IL, USA 1992; p. 1-15.
3. Woodbine M. Microbial fat: microorganism as potential fat producer. Progress Industrial Microbial 1959; 1: 179-245.
4. Mona KG, Sanaa HO, Linda MA. Single cell oil production by *Gordonia* sp. DG using agro-industrial wastes. World J Microbiol Biotechnol 2008; 24: 1703-11.
5. Ratledge C. Regulation of lipid accumulation in oleaginous micro-organisms. *Biochem Soc Trans* 2002; 30: 1047-50.
6. Li Y, Zhao Z, Bai F. High density cultivation of oleaginous yeast *Rhodosporidium toruloides* Y4 in

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

fedbatch culture. Enzyme microb technol 2007; 41: 312-7.

7. Papanikolaou S, Galiotou-Panayotou M, Fakas S, Aggelis G. Lipid production by oleaginous *Mucorales* cultivated on renewable carbon sources. Eur J Lipid Sci Technol 2007; 109: 1060-70.

8. Papanikolaou S, Komaitis M, Aggelis G. Single cell oil (SCO) production by *Mortierella isabellina* grown on high-sugar content media. Bioresource Technol 2004; 95: 287-91.

9. Andre A, Diamantopoulou P, Philippoussis A, Sarris D, Komaitis M, Papanikolaou S. Biotechnological conversions of bio-diesel derived waste glycerol into added-value compounds by higher fungi: production of biomass, single cell oil and oxalic acid .Ind Crops Prod 2010; 31: 407-16.

10. Mamatha S, Halami P, Venkateswaran G. Identification and characterization of the *n*-6 fatty acid-producing *Mucor rouxii* native isolate CFR-G15. Eur. J. Lipid Sci. Technol 2010; 112: 380-9.

11. Tauk-Tornisielo S, Mauricio V, Cecilia M, Carneiro V, Jose. Fatty acid production by four strains of *Mucor hiemalis* grown in plant oil and soluble carbohydrates. Afri J Biotechnol 2007; 6: 1840-7.

12. Gwendoline C, Vinod k, Regis N, Genevieve G, Pierre F, Ashok P, et al. Recent developments in microbial oils production: a possible alternative to vegetable oils for biodiesel without competition with human food? Brazilian archives of biology and technology 2012; 55: 29-46.

13. Certik M, Balteszova L, Sajbidor J. Lipid formation and gamma linolenic acid production by Mucorales fungi grown on sunflower oil. J Appl Microbiol 1997; 25: 101-5.

14. Hansson, L., and M. Dostalek. Effect of culture conditions on mycelial growth and production of gamma linolenic acid by the fungus *Mortierella ramanniana*. Appl Microbiol Biotechnol 1988; 28: 240-6.

15. Burdon K L. Fatty material I bacteria and fungi revealed by staining dried, fixed slide preparation. J Bacteriol. 1946; 52: 665–578.

16. Pan L, Yang D, Shao L, Li W, Chen G, Liang Z. Isolation of oleaginous yeasts. Food technol biotechnol 2009; 47: 215–20.

17. Christie W.W. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. J Lipid Res 1982; 23: 1072-5.

18. Muniraj IK, Xiao L, Hu Z, Zhan X, Shi J. Microbial lipid production from potato processing wastewater using oleaginous filamentous fungi Aspergillus oryzae. Water Res 2013; 47: 3477-83.

19. Zheng Y, Yu X, Zeng J, Chen S. Feasibility of filamentous fungi for biofuel production using hydrolysate from dilute sulfuric acid pretreatment of wheat straw. Water Res 2012; 5: 50-60.

20. Sumner JL, Morgan ED. The fatty acid composition of sporangiospores and vegetative mycelium of temperature-adapted fungi in the order mucorales. J gen Microbiol 1969; 59: 215-21.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

Use of a carbohydrate source and oil waste in lipid production by *Mucor hiemalis*

Mohamadinasr M[*1], *Mirbagheri M*[2], *Nahvi I*[3]

1- M.Sc in Microbial Biotechnology, Faculty of Advanced Sciences and Technologies, University of Isfahan, Isfahan, Iran, E-mail: mina.mohammadynasr@gmail.com,

2- Ph.D in Microbiology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran,

3-Prof in Biotechnology, Faculty of Sciences,University of Isfahan, Isfahan, Iran

Received 24 Jul, 2013 **Accepted 29 Sept, 2013**

Background and Objective: Microbial lipid production has attracted the attention of researchers for several reasons − inexpensive substrates, a valuable fatty acids content, and rapid growth of microorganisms. In this study, the efficiency of total lipid and fatty acids production by *Mucor hiemalis* PTCC 5292 using a carbohydrate source and oil wastes was compared.

Material and Method: Spores of *Mucor hiemalis* (n = 1×10^7) were inoculated in 50 ml of culture media in the presence of one of three carbon sources, namely, glucose, chicken oil waste, or fish oil waste, and cultivated at 28°C for 72h. The media included medium A containing exclusively a carbon and a nitrogen source and medium B containing a more limited nitrogen source than medium A. The fatty acid profiles of the lipids produced were determined by gas chromatography.

Results: The yield of lipid production was 33%, 66% and 68% in the glucose, chicken oil waste and fish oil waste, respectively, in medium B. The yield was higher than that in medium A because the limitation of nitrogen source in medium B would cause microorganism to reach the production phase in the logarithmic phase of growth more quickly. In addition, in medium B fatty acids, such as, for example, linoleic acid, were produced with glucose as the carbon source.

Discussion and Conclusion: The findings show that using oil wastes, which are easily accessible and less expensive, could increase lipid production by *Mucor hiemalis.* Another advantage is production of valuable microbial lipids with a high essential unsaturated fatty acid content which has wide applications in the food industry. Furthermore, the data show that limitation of the nitrogen source has a significant effect on the production of microbial lipid by this fungus.

Keywords: Fatty acid, Gas chromatography, Microbial lipid, *Mucor hiemalis*

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]