مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال سیزدهم، شماره 1، بهار 1397، صفحات 94-85

بررسی تولید لیپید و کاروتنوئید توسط مخمر رودوسپوریدیوم دایوبوواتوم (*Rhodosporidium diobovatum*) در شرایط *In vitro*

نیما نصیریان، دیوید لوین

1- نویسنده مسئول: گروه مهندسی مکانیزاسیون کشاورزی و بیوسیستم، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران
پست الکترونیک: n.nasirian@iau-shoushtar.ac.ir

2- گروه مهندسی بیوسیستم، دانشگاه مانیتوبا، وینیپگ، کانادا

تاریخ دریافت: 96/2/5 تاریخ پذیرش: 96/5/11

چکیده

سابقه و هدف: در سال‌های اخیر تولید لیپید و کاروتنوئید با استفاده از ریزسازواره یک روش جایگزین برای استفاده از منابع متداول گیاهی و جانوری مورد توجه فراوان قرار گرفته است. در این تحقیق تولید این دو ماده با ارزش توسط مخمر مولد لیپید رودوسپوریدیوم دایوبوواتوم در شرایط *In vitro* بررسی و نتایج حاصل مقایسه گردیدند.

مواد و روش‌ها: تأثیر دو منبع کربنی گلوکز (217 میلی‌مولار) و گلیسرول (434 میلی‌مولار) در محیط کشت‌های با نیتروژن محدود بر تولید تودهٔ سلولی، محتوای لیپید و کاروتنوئید (بر حسب بتاکاروتن) طی 5 روز متوالی بررسی شد. آزمایش‌ها در دمای 30 درجه سانتی‌گراد و 150 دور بر دقیقه انجام گردید.

یافته‌ها: پس از 120 ساعت، بازدهٔ تولید (گرم تودهٔ سلولی به گرم کربن مصرفی) در محیط کشت‌های حاوی گلوکز (0/01±0/72) و گلیسرول (0/03±0/73) اختلاف معنی‌داری در سطح 5 درصد نداشتند، اما روند تولید لیپید با استفاده از گلوکز توسط مخمر رودوسپوریدیوم دایوبوواتوم در زمان‌های مختلف، اختلاف معنی داری (در سطح 5 درصد) نسبت به گلیسرول نشان داد و پس از 120 ساعت نیز محتوای لیپید آن (46/29±0/92%) کمی بالاتر از مخمرهای رشد کرده در محیط گلیسرولی (44/57±0/49%) قرار گرفت. همچنین بستر حاوی گلوکز، کاروتنوئید بیشتری نسبت به گلیسرول تولید نمود (1987±247 در مقابل 1758±15میکروگرم بر لیتر). در حالی که استفاده از منبع کربنی گلوکز 5/11 درصد اسیدهای چرب تک اشباع و 3/7 درصد چند اشباع بیشتری تولید نمود، در محیط حاوی گلیسرول 8/21 درصد اسیدهای چرب اشباع بیشتری مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش، پتانسیل بالای مخمر رودوسپوریدیوم دایوبوواتوم در تولید همزمان لیپید و کاروتنوئید را با استفاده از بسترهای مختلف و کاربرد آن‌ها در صنایع غذایی، زیستی و سوختی نمایان ساخت.

واژگان کلیدی: تودهٔ سلولی، کاروتنوئید، لیپید، رودوسپوریدیوم دایوبوواتوم، اسید چرب

• مقدمه

اسیدهای چرب و مشتقات آن‌ها مولکول‌هایی هستند که در صنایع مختلفی مانند کشاورزی و غذایی، شیمیایی و انرژی (تولید بیودیزل) کاربرد داشته و به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. تخمین زده می‌شود تولید جهانی روغن از دانه‌های روغنی در سال به حدود 160×10^{12} کیلوگرم برسد (2، 1). اما در سال‌های اخیر رویکرد استفاده از تک سلول‌های لیپیدی که لیپیدهای خنثی (Natural Lipids) یا تری‌آسیل‌گلیسرول (Triacyglycerides) تولید شده توسط ریزسازواره می‌باشند، مورد توجه فراوان قرار گرفته است (2).

از میان این ریزسازواره‌ها، مخمرهای مولد لیپید (Oleaginous yeast) (بیش از 20 درصد محتوای لیپید) سازگاری بیشتری با شرایط مختلف محیطی داشته و دامنهٔ وسیع‌تری از زیست‌توده‌های (Biomass) تولیدی در سامانه‌های مختلف شامل پسماندها را می‌توانند به عنوان سوبسترا مصرف نمایند (5-3). پروفایل اسیدهای چرب

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-01]

تولیدی توسط آن‌ها و ارزش حرارتی روغن سنتز شده بسیار شبیه به تری‌آسیل‌گلیسرول تولیدی در دانه‌های روغنی (رجوع شود به جدول 2) است (6). همچنین نسبت به قارچ‌های مولد چربی سطح تحمل بیشتری نسبت به یون آهن و غلظت پایین اکسیژن نشان داده‌اند (7).

از میان مخمرهای مولد لیپید میزان لیپید گونه‌های یاروویا (*Yarrowia*)، کاندیدا (*Candida*)، رودوترولا (*Rhodoturula*)، رودوسپوریدیوم (*Rhodosporidium*)، کریپتکوکوس (*Cryptococus*)، لیپومایسس (*Lipomyces*) و تریکوسپورون (*Thrichosporon*) بیش از سایر گونه‌ها مورد تحقیق و آزمایش قرار گرفته‌اند (8). برخی از این گونه‌ها (مانند لیپومایسس، رودوترولا و رودوسپوریدیوم) قابلیت تجمع لیپید زیادی دارند که بیش از 90 درصد (وزنی/وزنی) آن را تری‌آسیل‌گلیسرول‌های با زنجیره‌های 16 و 18 کربنی تشکیل می‌دهند (9).

کاروتنوئیدها رنگ‌های طبیعی هستندکه در مقبولیت بسیاری از محصولات غذایی تأثیر بسزایی دارند. همچنین به عنوان مادهٔ اولیهٔ تولید ویتامین A، و دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در مقوله سلامت انسان‌ها می‌توانند ایفا کنند (10). کاروتنوئیدها به‌طور عمده توسط قارچ‌ها و مخمرها و همچنین گونه‌هایی از باکتری‌ها، جلبک‌ها و گلسنگ‌ها تولید می‌شوند (11). با افزایش تمایل به تولید کاروتنوئید به دلایل ذکر شده، و کاربرد آن‌ها در صنایع مختلف، بازار جهانی این پیگمان به بیش از 1/2 بیلیون دلار در سال 2010 رسید و پیش‌بینی می‌شود با یک رشد 2/3 درصدی به 1/4 بیلیون دلار در سال 2018 برسد (10).

با توجه به این که تولید همزمان لیپید و کاروتنوئید بازدهی اقتصادی و انرژی کل سیستم تولید را افزایش می‌دهد (13، 12) در تحقیقاتی جداگانه تولید همزمان لیپید و کاروتنوئید به‌وسیله مخمر رودوترولا گلوتینیس (*Rd. glutinis*) را با استفاده از گلوکز به عنوان منبع کربن مورد تحقیق قرار دادند. هم‌چنین تحقیقات دیگری برای معرفی گونه‌های پربازده مانند رودوسپوردیوم دایوبوواتوم و رودوسپوریدیوم بابجاوا (*R. babjavae*) انجام شده است (15، 14). اما تولید کاروتنوئید و رابطه بین تولید آن و لیپید در این نوع مخمرها بررسی نگردید (15).

در این تحقیق تأثیر دو منبع کربنی گلوکز (217 میلی‌مولار) و گلیسرول (434 میلی‌مولار) با مقدار مول کربن برابر، بر رشد سلولی، تولید لیپید و کاروتنوئید با استفاده از مخمر رودوسپوردیوم دایوبوواتوم که تاکنون تحقیقات بسیار اندکی (15، 4) در مورد آن انجام شده، مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

• مواد و روش‌ها

سویه مخمر: سویه مخمر رودوسپوردیوم دایوبوواتوم (225-08) از مرکز جمع‌آوری مخمر Phaff واقع در دانشگاه دیویس کالیفرنیا تهیه گردید. سویه مورد نظر در دمای 30 درجه سانتی‌گراد و محیط کشت YPD شامل 20g/L گلوکز، 10 g/L عصاره مخمر، 20g/L پپتون و 15 g/L آگار رشد داده و در 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

شرایط رشد، نمونه‌برداری و روند انجام آزمایش‌ها: محیط کشت مخمر با رشد مجدد سویه نگهداری شده در 80- درجه سانتی‌گراد بر روی محیط کشت آگار YPD به مدت حداقل دو روز و حداقل دو بار کشت مجدد آن به دست آمد. سپس تک کلنی به دست آمده به یک فلاسک ارلن مایر مخصوص محیط‌های کشت هوازی (Baffled erlenmeyer flask) حاوی 100 میلی‌لیتر محیط پیش تولید با محدودیت نیتروژن GMY متشکل از 3 g/L عصاره مخمر، 6 g/L KH_2PO_4، 0/5 g/L $MgSO_4.7H_2O$ و 40 g/L گلوکز منتقل گردید. محیط پیش تولید پس از رساندن اسیدیته به مقدار 5/5 به مدت یک شبانه روز در دمای 30 درجه سانتی‌گراد در یک انکوباتور شیکردار با دور 150 rpm قرار داده شد. پس از 24 ساعت مقدار لازم از محیط پیش تولید حاوی مخمر رشد داده شده برای رسیدن به چگالی نوری اولیه 0/02 در طول موج 600 nm به ارلن مایرهای 1000 لیتری حاوی 300 میلی‌لیتر محیط کشت GMY اتوکلاو شده انتقال داده شد (15، 4). چگالی نوری توسط اسپکتروفوتومتر (مدل Thermo Fisher Biomate 3 CAT335905) اندازه‌گیری گردید.

به منظور تعیین اثر منابع کربنی متفاوت، محیط‌های کشت حاوی 217 میلی‌مولار گلوکز و 434 میلی مولار گلیسرول در 3 تکرار تهیه و آزمایش‌ها در شرایط محیطی مناسب (دمای 30 درجه سانتی‌گراد، اسیدیته 5/5 و 150 دور بر دقیقه) انجام گردید. نمونه‌برداری از محیط کشت (4 میلی‌لیتر) به منظور پایش رشد تودهٔ سلولی، روند مصرف گلوکز، غلظت یون آمونیوم، در 30 ساعت ابتدایی هر 6 ساعت و پس از آن در ساعت‌های 48، 72، 96 و 120 صورت گرفت. به منظور بررسی مقدار لیپید تولیدی، کاروتنوئید و پروفایل اسیدهای چرب، هر 24 ساعت نمونه‌برداری (10 میلی‌لیتر) انجام گرفت.

نمونه‌ها (4 میلی‌لیتر) با استفاده از سانترفیوژ (RC6، آمریکا، با گردنده Sorvall SH-3000BK، Thermo Scientific,

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-01]

USA) در 4500 دور بر دقیقه به مدت 10 دقیقه سانتریفوژ شده و فاز بالای شفاف از سلول‌ها جدا و برای بررسی‌های بعدی در دمای 80- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. سلول‌ها پس از دوبار شستشو با آب دیونیزه و سانتریفوژ دوباره و ریختن آب از روی سلول‌ها، در 60 درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند (15، 4).

روش‌های آنالیز

غلظت گلوکز، گلیسرول و آمونیوم: غلظت گلوکز و گلیسرول در هر نمونه‌گیری به‌وسیله دستگاه Waters Breeze HPLC مجهز به ستون کروماتوگرافی (مدل HPX-87H Ion Exclusion 300 میلی‌متر × 7/8 میلی‌متر)، در دمای 40 درجه سانتی‌گراد، آشکارساز ضریب شکست (Refractive index detector) و فاز متحرک اسید سولفوریک 5 میلی‌مولار با نرخ جریان 0/6 mL/min اندازه‌گیری گردید. داده‌ها با نرم‌افزار (Waters) Breeze 2 پردازش شدند. همچنین غلظت‌های یون آمونیوم در محیط کشت با استفاده از دستگاه Lachat Quick Chem 8500 (اونتاریو، کانادا) اندازه‌گیری شد. داده‌ها با نرم‌افزار Omnion مورد پردازش قرار گرفتند.

ارزیابی پروفایل اسیدهای چرب و محتوای لیپید: استخراج و ترانس‌استریفیکاسیون اسیدهای چرب مطابق روش اصلاح شده Bligh و Dyer (1959) به این شکل انجام گرفت (16، 4). مقدار 10 الی 20 میلی‌گرم از سلول‌های خشک شده جدا و درون لوله آزمایش قرار داده، سپس 2 میلی‌لیتر محلول 15 درصد اسید سولفوریک در متانول به همراه 2 میلی‌لیتر از محلول 0/5 mg/mL اسید متیل هپتادیکانوئیک (استاندارد داخلی) در کلروفرم به آن‌ها اضافه و به مدت 5 ساعت جوشانده شدند. سپس 1 میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه و پس از یک شب نگهداری در دمای محیط (22 درجه سانتی‌گراد)، مقدار 1 میلی‌لیتر از لایه زیرین که حاوی متیل استر اسیدهای چرب (FAME) در کلروفرم است برای آنالیز جدا گردید. متیل‌استر اسیدهای چرب به روش کروماتوگرافی گازی با استفاده از دستگاه Agilent 7890A gas chromatograph (GC) مجهز به محفظه تزریق مدل split-splitless injector و شناساگر نوع FID انجام گرفت. جداسازی نهایی مولکول‌ها به وسیله یک ستون کروماتوگرافی DB-23 با مشخصات 30m × 320 µm × 0.25 µm; Agilent, California, USA صورت پذیرفت. از هلیم با نرخ جریان 1/8 میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده گردید. دمای آون به مدت 4 دقیقه پس از تزریق در 75 درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس با نرخ 20 درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به دمای نهایی 250 درجه سانتی‌گراد رسیده و 4 دقیقه در این دما باقی ماند. به منظور تشخیص پیک‌ها و تفکیک اسیدهای چرب مختلف از یک ترکیب استاندارد حاوی 37 نوع اسید چرب (Sigma-Aldrich) استفاده گردید. اگرچه اسیدهای چرب متنوعی در پروفایل لیپید تولیدی شناسایی و معرفی گردیدند، اما تنها اسیدهای چربی که مقدارشان از 2 درصد مقدار کل بیشتر بودند، به شکل دقیق گزارش شدند (مقادیر اسید آلفا-لینولنیک به دلیل اهمیت آن در صنایع غذایی ارائه گردید).

استخراج و اندازه‌گیری کاروتنوئید: به‌منظور استخراج و اندازه‌گیری کاروتنوئید ابتدا با استفاده از سانترفیوژ (RC6، آمریکا، با گردنده Sorvall SH-3000BK، Thermo Scientific, USA) در 4500 دور بر دقیقه به مدت 15 دقیقه سلول‌ها از 5 میلی‌لیتر محیط کشت جدا شدند. سپس سلول‌ها با آب دیونیزه شسته شده و 3 میلی‌لیتر حلال DMSO به آن‌ها اضافه و به وسیله دستگاه ورتکس محلول یکنواختی حاصل گردید. به‌منظور افزایش عملکرد استخراج، سوسپانسیون‌های حاصل در تاریکی و دمای 60 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از آن به وسیله سانتریفوژ (مطابق روش بالا) حلال DMSO که حاوی پیگمان‌های کاروتنوئید بود از سلول‌ها جدا شده و در لوله‌های 15 میلی‌لیتری اپندورف ریخته شد. این روش استخراج با 2 میلی‌لیتر DMSO دوباره تکرار گردید و DMSO حاوی پیگمان‌های کاروتنوئید به محلول قبلی اضافه گردید (در صورت نیاز تا بی رنگ شدن کامل سلول‌ها می‌تواند تکرار گردد). سپس مطابق روش ذکر شده در منبع (17) پیگمان‌های کاروتنوئید با اضافه کردن 2 میلی‌لیتر اتر نفتی (60-40 درجه سانتی‌گراد)، 2 میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم (w/v؛ 20%) و 2 میلی‌لیتر استون به محلول رنگی DMSO جدا شدند. محلول حاصل پس از ورتکس (Thermo scientific, USA) به مدت 30 دقیقه در تاریکی قرار گرفته و سپس برای جداسازی بهتر و تشکیل فاز بالایی اتر نفتی حاوی پیگمان‌های کاروتنوئید عملیات سانتریفوژ به مدت 5 دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ مدل RC6 با گردنده Sorvall Micro 21R microcentrifuge در 3500 دور بر دقیقه انجام گردید. سپس محلول حاوی پیگمان پس از جداسازی در یک تبخیرکننده چرخان (Rotary evaporator) در دمای اتاق (25 درجه سانتی‌گراد) تبخیر شده و پیگمان‌های به جا مانده در 1 میلی‌لیتر متانل حل شده تا با استفاده از روش اسپکتروفتومتری مقدار کاروتنوئید قرائت شود. به منظور سنجش مقدار کاروتنوئید (بتا کاروتن)، محلول های استاندارد از غلظت 0/01 تا 10 میلی‌گرم بتاکاروتن بر لیتر تهیه و مقدار

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-01]

بیشینه طول موج جذب (450 نانومتر) با استفاده از یک اسپکتروفتومتر با قابلیت اسکن (HT micro-plate reader) و اسکن در محدوده 422 تا 501 نانومتر، تعیین گردید. پس از رسم منحنی استاندارد و بدست آوردن معادله رگرسیونی (Y=6218/1x-325/3) با ضریب تعیین (0/99)، مقدار کاروتنوئید در هر 24 ساعت تعیین و به صورت میکروگرم بر هر گرم وزن خشک سلولی و یا میکروگرم بر لیتر گزارش شد.

مدل‌سازی سینتیکی و تحلیل آماری: در این مطالعه از آنالیز رگرسیون غیرخطی با استفاده از معادله‌های گومپرتز اصلاح شده (معادله 1) و لجستیک اصلاح شده (معادله 2) به منظور بررسی تغییرات تودهٔ سلولی در محیط کشت‌های حاوی گلوکز و گلیسرول استفاده گردید (20-18). در این معادلات DCW به‌عنوان تودهٔ سلولی (g/L)، A:حداکثر رشد تودهٔ سلولی (g/L)، R_m: بیشینه نرخ تولید (g/L/h)، λ: زمان تأخیر (ساعت) و t: زمان (ساعت) تعریف گردید. به منظور برازش داده‌ها با مدل مناسب و رسم نمودار آن‌ها از نرم‌افزار Minitab نسخه 17 استفاده شد. با این که هر دو مدل با تقریب بالایی تغییرات فاکتورها را پیش بینی نمودند، مدل گومپرتز اصلاح شده ضریب تبیین بالاتر و مجموع مربعات خطای کمتری هم در کشت حاوی گلوکز (ضریب تبیین 0/99 در مقابل 0/977 و مجموع مربعات خطای 1/49 در مقابل 3/39) و هم گلیسرول (ضریب تبیین 0/975 در مقابل 0/961 و مجموع مربعات خطای 3/28 در مقابل 5/14) ارائه و به عنوان مدل مناسب انتخاب گردید. تمامی آزمایش‌ها در کلیه مراحل در 3 تکرار انجام گرفتند. نتایج با استفاده از جدول آنالیز واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین دانکن در نرم‌افزار IBM SPSS نسخه 21 تجزیه و تحلیل شده و در سطح معنی‌داری 1 و 5 درصد مورد بررسی قرار گرفتند. سایر نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل (2013) ترسیم شدند.

معادله(1)

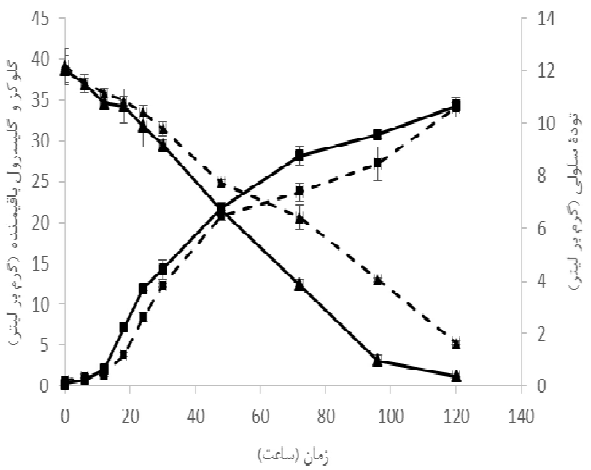
$$DCW = A.exp\left\{-exp\left[\frac{R_m.e}{A}(\lambda - t) + 1\right]\right\}$$

معادله (2)

$$DCW = \frac{A}{1 + exp\left[{}^{4\,R_m(\lambda - t)}/_{A} + 2\right]}$$

• یافته‌ها

رشد سلولی و مصرف سوبسترا: همان‌گونه که در شکل 1 مشاهده می‌شود، تولید تودهٔ سلولی و مصرف سوبسترا توسط مخمر رودوسپوردیوم دایوبوواتوم طی 5 روز رشد ریزسازواره مورد پایش قرار گرفت. با توجه به آزمایش‌های اولیه و بررسی رشد مخمر در چگالی نوری 600 نانومتر (داده‌ها نشان داده نشده) و شروع مرحله سکون این نوع مخمر بین ساعت‌های 30 تا 40 پس از شروع رشد، پایش رشد و مصرف سوبسترا در30 ساعت ابتدایی در فاصله زمان‌های 6 ساعته، و پس از آن تا مدت 120 ساعت هر 24 ساعت انجام شد. همان طور که در شکل دیده می‌شود بیشینه رشد مخمرها در محیط کشت‌های حاوی گلوکز و گلیسرول (10/60 گرم بر لیتر) تقریباً یکسان بود. البته در ساعت‌های 72 و 96 مخمرها در محیط حاوی گلوکز رشد سریع‌تری را تجربه کردند. این رشد سریع‌تر را می‌توان به مصرف بیشتر و سریع‌تر گلوکز از محیط نسبت داد، به‌طوری‌که در روز چهارم محتوای گلوکز محیط به زیر 5 گرم بر لیتر رسید. نرخ مصرف گلوکز در این 4 روز به مقدار g/L/d 8/9 رسید، درحالی‌که این روند برای گلیسرول g/L/d 6/5 بود (با تقسیم مقدار کاهش گلوکز یا گلیسرول در هر روز نسبت به غلظت آن‌ها در شروع آزمایش به تعداد روزهای رشد پس از تلقیح، نرخ مصرف آن‌ها بدست آمد). در روز پنجم تنها 1/9 گرم بر لیتر گلوکز مصرف شد که این مقدار برای محیط کشت حاوی گلیسرول به 7/7 گرم بر لیتر رسید.

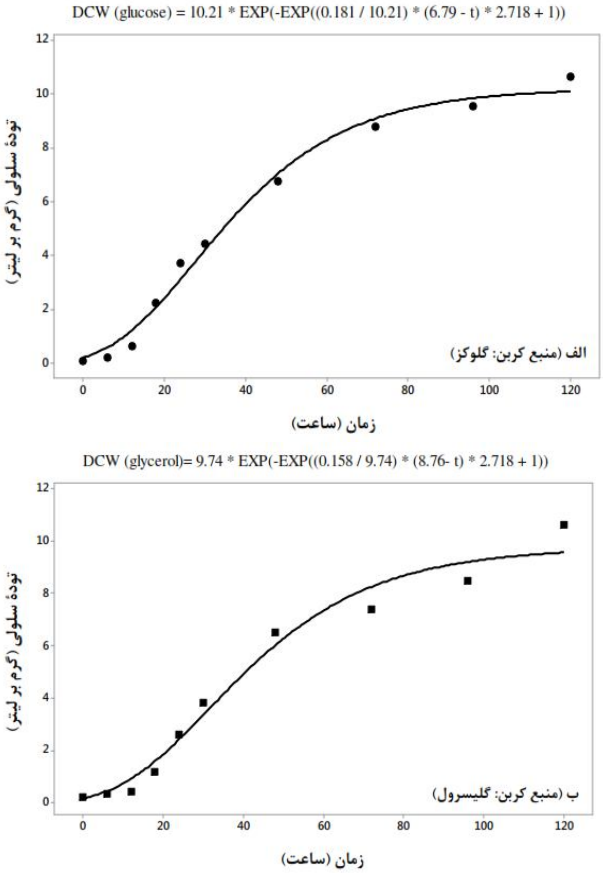


میانگین سه تکرار از هر آزمایش به همراه اشتباه استاندارد آن‌ها نمایش داده شده است.

شکل 1. تولید تجمعی بیومس سلولی (■) و مصرف سوبسترا (▲) با استفاده از مخمر رودوسپوریدیوم دایوبوواتوم در محیط کشت‌های حاوی گلوکز (—) گلیسرول (- -).

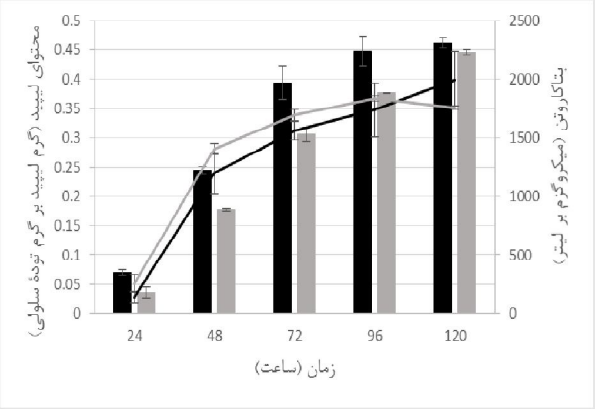
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-01]

ارزیابی رشد تودهٔ سلولی با استفاده از مدل گومپرتز اصلاح شده: تغییر در تودهٔ سلولی مخمر روردوسپوریدیوم دایوبوواتوم با استفاده از گلوکز یا گلیسرول طی کشت ناپیوسته در شکل 2 نمایش داده شده است. سه پارامتر مدل گومپرتز شامل بیشینه تودهٔ سلولی و نرخ رشد سلولی و مدت زمان کمون برای هر دو شکل حاوی گلوکز و گلیسرول در این شکل به نمایش گذاشته شده است. برازش کلی بین داده‌های محاسبه شده و اندازه‌گیری شده در کشت حاوی گلوکز با استفاده از مدل بالا و برابر 0/99 و برای محیط کشت حاوی گلیسرول کمی پایین‌تر و 0/975 محاسبه گردید. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود گلوکز با بیشنه نرخ رشد سریع‌تر (R_m=0/181 g/L/h) نسبت به گلیسرول (0/158 g/L/h =R_m) در زمان کوتاهتری به مرحله رکود (Stationary phase) وارد می‌شود. همچنین مخمر مرحله سکون کوتاهتری را در حضور گلوکز (ساعت 6/79 =λ) نسبت به گلیسرول (ساعت 8/76 =λ) تجربه کرد.



شکل 2. تغییرات تودهٔ سلولی در مخمر رودوسپوریدیوم دایوبوواتوم با استفاده از دومنبع کربنی گلوکز (الف) و گلیسرول (ب) نسبت به زمان با استفاده از مدل گومپرتز اصلاح شده

تولید لیپید و کاروتنوئید: تولید لیپید و کاروتنوئید (بتاکاروتن) طی 5 روز و به فاصله‌های 24 ساعته (شکل 3) بررسی و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. محتوای لیپید تولیدی در محیط حاوی گلوکز تا ساعت 96 با اختلاف معنی داری (در سطح معنی‌داری 5 درصد) از محیط کشت دارای گلیسرول بالاتر بود، اما در روز پنجم اختلاف معنی داری بین دو منبع کربنی در رشد سلولی و محتوای لیپید تولیدی مشاهده نگردید. مخمر با استفاده از گلوکز به حدود 46 درصد لیپید نسبت به وزن خشک سلولی رسید و این شاخص در محیط گلیسرولی حدود 44/5 درصد بود. نتایج در جدول 1 نشان می‌دهد تولید لیپید به‌وسیله مخمر با استفاده از گلوکز با نرخ بالاتری آغاز و ادامه پیدا کرده است.



میانگین سه تکرار از هر آزمایش به همراه اشتباه استاندارد آن‌ها نمایش داده شده است.

محتوای لیپید به‌غیر از ساعت 120 در تمامی زمان‌های نمونه‌برداری در سطح احتمال 5 درصد اختلاف معنی‌دار داشت.

در نرخ تولید کاروتنوئید در هیچ یک از زمان‌های نمونه‌برداری اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

شکل 3. محتوای لیپید (نمودار میله‌ای) و تولید بتاکاروتن (نمودار خطی) تولید شده توسط مخمر رودوسپوریدیوم دایوبوواتوم با استفاده از دومنبع کربنی گلوکز (مشکی) و گلیسرول (خاکستری) در زمان‌های 24، 48، 72، 96، 120 ساعت پس از تلقیح

از شکل 3 می‌توان مشاهده کرد که نرخ تولید کاروتنوئید در فاصله تغییر از فاز لگاریتمی به سکون (ساعت 24 تا 48) بیشترین مقدار خود را داشته است. همانطور که در این شکل می‌توان مشاهده نمود، در تولید کاروتنوئید با استفاده از گلوکز و گلیسرول در هیچ‌یک از ساعت‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در محیط کشت حاوی گلوکز تولید کاروتنوئید با یک روند کاملاً صعودی از مقدار 141 µg/L در ساعت 24 به 1987 µg/L رسید. درحالی‌که این مقدار با استفاده از گلیسرول از 258 µg/L در روز اول به 1837 µg/L در روز چهارم و سپس به 1758 µg/L در روز پنجم کاهش یافت.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-01]

جدول 1. پروفایل اسیدهای چرب تولیدی توسط مخمر *R. diobovatum* در یک محیط کشت با محدودیت نیتروژن (GMY) با استفاده از گلوکز و گلیسرول در فاصله زمان‌های 24 ساعته از دوره رشد.

دیگر اسیدهای چرب تشخیص داده شده در محیط کشت حاوی گلوکز: C13; C18,2T; C20; C20:1n9; C20:4n6; C24 و دیگر اسیدهای چرب تشخیص داده شده در محیط کشت حاوی گلیسرول: C13; C14:1; C18,2T; C20; C18:3n3, C20:1n9; C20:4n6; C24

متیل‌استراسیدهای‌چرب (%)	سوبسترا	24 (ساعت)	48(ساعت)	72(ساعت)	96(ساعت)	120(ساعت)
پالمتیک (C16:0)	گلوکز	19/98±0/65[a]	29/05±0/95[b]	31/08±0/36[b]	31/36±0/25[b]	30/86±0/23[b]
استیریک (C18:0)	گلوکز	0/00	0/00	1/63±0/10[b]	2/60±0/52[a]	2/07±0/32[a]
اولئیک (C18:1)	گلوکز	59/00±2/29[a]	57/11±0/43[a]	47/26±1/00[a]	43/76±1/10[a]	44/69±1/82[a]
لینولئیک (C18:2)	گلوکز	16/86±1/45[a]	5/83±1/27[a]	10/27±1/04[a]	11/64±1/06[a]	13/29±0/89[a]
آلفا-لینولنیک (C18:3ω6)	گلوکز	0/94±0/09[a]	0/00	0/00	0/31±0/00[a]	0/15±0/07[a]
سایر اسیدهای چرب	گلوکز	3/19±1/94	7/98±1/37	9/74±1/31	10/29±1/09	8/99±1/40
پالمتیک (C16:0)	گلیسرول	15/03±2/58[a]	34/88±0/33[a]	36/96±0/81[a]	37/17±0/29[a]	36/47±0/24[a]
استیریک (C18:0)	گلیسرول	0/00	0/00	2/42±0/14[a]	2/17±0/18[a]	3/27±0/61[a]
اولئیک (C18:1)	گلیسرول	69/49±11/6[a]	50/19±1/53[b]	44/35±1/22[a]	42/28±1/04[a]	39/64±0/95[a]
لینولئیک (C18:2)	گلیسرول	8/65±4/66[a]	8/37±1/08[a]	6/32±0/33[b]	7/62±0/70[b]	9/66±0/44[b]
آلفا-لینولنیک (C18:3ω6)	گلیسرول	6/81±3/98[a]	0/00	0/00	0/00[b]	0/10±0/09[a]
سایر اسیدهای چرب	گلیسرول	0/00	6/55±0/49	9/92±1/84	10/74±0/10	10/84±0/02
اسیدهای‌چرب‌اشباع (SFA)	گلوکز	20/97±0/47[a]	33/16±0/89[a]	37/85±0/22[b]	38/72±0/73[b]	37/29±0/52[b]
	گلیسرول	15/03±2/58[a]	36/99±1/35[a]	45/28±0/56[a]	44/59±0/50[a]	45/50±0/54[a]
اسیدهای‌چرب تک‌اشباع (MUFA)	گلوکز	59/00±2/29[a]	59/64±0/40[a]	49/87±1/09[a]	46/24±1/23[a]	47/21±2/00[a]
	گلیسرول	69/49±11/65[a]	52/71±1/48[b]	45/97±0/43[b]	44/73±1/16[a]	42/09±0/99[a]
اسیدهای‌چرب چنداشباع (PUFA)	گلوکز	17/80±1/01[a]	5/83±1/27[a]	10/27±1/04[a]	12/40±1/09[a]	13/76±0/89[a]
	گلیسرول	15/46±9/45[a]	8/37±1/07[a]	6/32±0/33[b]	7/62±0/70[b]	10/06±0/65[b]

- میانگین سه تکرار از هر آزمایش به همراه اشتباه استاندارد آن‌ها نمایش داده شده است. مقایسه میانگین در تولید اسیدهای چرب توسط مخمر رودوسپوریدیوم دایوبوواتوم، بین بستر گلوکز و گلیسرول انجام شده است.

پروفایل اسیدهای چرب: پروفایل اسیدهای چرب در هر روز از 120 ساعت رشد مخمر در جدول 1 نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در محیط کشت با بستر گلوکز بیشترین سهم اسیدهای چرب از کل تولید اسیدهای چرب به‌ترتیب مربوط به اسید اولئیک (با 59 درصد در روز اول تا حدود 45 درصد در روز پنجم)، اسید پالمتیک (20 درصد در روز اول تا حدود 30 درصد در روز پنجم) و اسید لینولئیک (با حدود 17 درصد در روز اول تا 13 درصد در روز پنجم) بود. اولویت تولید عمده اسیدهای چرب توسط مخمر در حضور گلیسرول به عنوان منبع کربن تقریباً مانند گلوکز بود. بدین صورت که اسید اولئیک (با حدود 70 درصد در روز اول تا حدود 40 درصد در روز پنجم)، اسید پالمتیک (15 درصد در روز اول تا حدود 37 درصد در روز پنجم) و اسید لینولئیک (با حدود 8/5 درصد در روز اول تا 9/5 درصد در روز پنجم) سهم اکثریت را از کل اسیدهای چرب به خود اختصاص دادند. در بستره گلوکزی اسید اولئیک و لینولئیک بیشتری نسبت به بستره گلیسرولی تولید می‌شود، درحالی‌که سهم تولید اسید پالمتیک در بستره گلیسرولی بیشتر از گلوکزی می‌باشد.

به همان ترتیب می‌توان مشاهده کرد درصد تولید اسیدهای چرب اشباع در گلیسرول از حدود 16 درصد تا 45/5 درصد در روز آخر افزایش یافت، این مقدار در بستره گلوکزی به 37 درصد افزایش یافت. اسیدهای چرب تک‌اشباع به‌طور کلی در بستره گلوکزی سهم بیشتری را به خود اختصاص دادند و در انتها با حدود 47 درصد در مقابل 41 درصد در محیط حاوی گلیسرول مقدار قابل توجهی از کل لیپید تولیدی به این نوع از متیل استر اسیدهای چرب اختصاص یافت. البته لازم به ذکر است در 24 ساعت اول تولید اسیدهای چرب تک اشباع در بستره گلیسرولی (حدود 64 درصد) از محیط حاوی گلوکز (حدود 58 درصد) بالاتر بود. همان طور که در جدول می‌توان مشاهده نمود اسیدهای چرب چند اشباع از کمتر از 20 درصد در روز اول به کمتر از 15 درصد در هر دو بستره کاهش یافتند.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-01]

جدول 2، مقایسه ترکیب اسیدهای چرب اشباع (SFA)، تک‌اشباع (MUFA) و چنداشباع (PUFA) در لیپید تولیدی توسط منابع مختلف

منبع لیپید		اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع تولیدی (%)			منبع
		SFA	MUFA	PUFA	
مخمر	R. diobovatum (Glu 40 g/L)	36/3	46/8	14/1	**پژوهش حاضر**
	R. diobovatum (Gly40 g/L)	40/7	36/7	21/3	**پژوهش حاضر**
	R. diobovatum (Gly 40 g/L)	36	34	23	15
	R. babjavae (Gly 40 g/L)	34	39	21	15
	Y. lipolytica (Gly 40 g/L)	20	60	10	15
	Y. lipolytica (Gly 40 g/L)	28	54	15	4
	R. toruloides (Gly 50 g/L)	45/3	42/2	12	24
	R. toruloides (Glu 50 g/L)	40/6	46/4	13	24
	Rd. graminis (Gly 50 g/L)	27	43	22	25
	Rd. graminis (Glu 50 g/L)	25/6	53/5	17/5	25
ریزجلبک	Ankistrodesmus falcatus	37/4	26/1	28/8	28
	Ankistrodesmus fusiformis	33/6	20/3	38/7	28
	Kirchneriella lunaris	30	20/3	44/1	28
	Chlamydomonas sp	72/6	8/1	6/7	28
	Chlamydocapsa bacillus	32/9	11	38	28
	Coelastrum microporum	31/1	45/9	19/7	28
	Desmodesmus brasiliensis	33	43/7	21/4	28
	Scenedesmus obliquus	66/6	21/4	7/4	28
	Pseudokirchneriella subcapit.	33/5	46/5	17/3	28
	Chlorella vulgaris	49/5	35/6	10/1	28
	Botryococcus braunii	9/4	77/5	10/5	28
	Botryococcus terribilis	38/9	42/5	12/2	28
دانه‌های روغنی: منداب		15	34/3	54/9	29
کانولا		7/6	62/8	30/9	29
نارگیل		90/9	7	2/2	29
ذرت		13/9	27	59/3	29
جاتروفا		24/5	41/6	36/5	29
نخل		50	41/6	9/8	29
کلزا		7/4	62/2	30	29
گلرنگ		11	14/3	74/4	29
سویا		16/5	24/3	59/7	29
آفتاب‌گردان		11/4	22/2	67/8	29
زیتون		15/6	76	8/4	30
بادام‌زمینی		15/5	55/7	28/7	30
انگور		11/2	19/1	69/2	30
بادام		13/9	78	27/6	30
آفتاب‌گردان با اولئیک بالا		9/3	62/9	27/6	30
چربی حیوانی: پیه		47/8	46/5	5/3	29

• بحث

در سال‌های اخیر به دلیل افزایش نرخ رشد جمعیت، اهمیت روزافزون مقوله‌های محیط‌زیست، امنیت غذایی، انرژی‌های جایگزین زیستی و ارتقاء سطح رفاه زندگی تقاضا برای یافتن منابع کمکی و یا جایگزین روغن‌های متداول افزایش یافته است. تاکنون تحقیقات بسیاری در ارتباط با تولید لیپید با استفاده از مخمرهای مولد لیپید به عنوان یک منبع بیوتکنولوژیکی تولید لیپید صورت گرفته است (23، 22، 21، 4). از میان آن‌ها، گونه‌های مختلف مخمرهای مولد لیپید رودوسپوریدیوم و رودوترولا از قابلیت تجمع لیپید چشمگیری نسبت به وزن خشک سلولی برخوردار بودند (25، 24، 15، 14). اما همان گونه که در منابع مختلف ذکر شده، بالا بودن هزینه فرآیند از قدرت رقابت این منبع جایگزین کاسته است.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-01]

دو گونه یاد شده علاوه بر توانایی تولید لیپید، قادر به تولید کاروتنوئید نیز می‌باشند که تولید هم‌زمان آن‌ها باعث افزایش بهره‌وری اقتصادی کل سیستم می‌گردد. با توجه به این مزیت قابل توجه اما تاکنون تحقیقات اندکی در ارتباط با تولید همزمان این دو محصول ارزشمند انجام شده است (13، 12).

نتایج رشد تودهٔ سلولی و بررسی سینتیک رشد با استفاده از مدل گومپرتز اصلاح شده نشان داد که مخمر رودوسپوردیوم دایوبوواتوم در محیط کشت حاوی گلوکز دوره سکون کوتاهتر و نرخ بیشینه رشد سریعتری نسبت به محیط گلیسرولی دارد و در نتیجه در زمان کوتاهتری به مرحله رکود وارد می‌شود که این رکورد ممکن است به دلیل استفاده از گلوکز به هنگام آماده‌سازی مایه میکروبی باشد. زیرا سلول‌ها باید آنزیم‌های لازم برای کاتابولیسم بستر جدید را بسازند. به طور کلی مدل استفاده شده قابلیت زیادی در توصیف عملکرد سیستم رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه توسط رودوسپوریدیوم دایوبوواتوم با استفاده از منابع کربنی مختلف دارد. بنابراین به همراه مدل لجستیک اصلاح شده می‌توانند برای پیش‌بینی و کنترل این سیستم‌ها استفاده شوند.

نرخ تولید لیپید توسط مخمر رودوسپوردیوم دایوبوواتوم (حدود 0/041 g/L/h) با استفاده از دو منبع گلوکز (g/L 39/09) و گلیسرول (39/96 g/L) تصدیق کننده نرخ قابل توجه تولید آن نسبت به دیگر تحقیقات گذشته با استفاده از مخمرهایی همچون رودوسپوردیوم توریولویدز (*R. toruloids*)، با نرخ تولید 0/045 g/L/h (50 g/L گلوکز) و 0/035 g/L/h (50 g/L گلیسرول) (24)، رودوترولا گرامینیس (*Rd. graminis*)، 0/046 g/L/h (50 g/L گلوکز) و 0/02 g/L/h (50 g/L گلیسرول) (25)، رودوسپوردیوم دایوبوواتوم و رودوسپوریدیوم بابجاوا با نرخ‌های تولید 0/027 g/L/h و 0/06 g/L/h (40 g/L گلیسرول) (15)، می‌باشد. می‌توان نتیجه گرفت که وجود حداقل سطح مشخصی از منبع کربنی در محیط کشت می‌تواند به تولید بیشتر متابولیت‌های ثانویه مانند لیپید منجر شود.

هم‌چنین تولید 16/56 µg/L/h و 14/56 µg/L/h کاروتنوئید از گلوکز و گلیسرول نشان‌دهنده قابلیت این مخمر در تولید همزمان کاروتنوئید همراه با لیپید می‌باشد. تولید کاروتنوئید در تحقیقاتی بدون در نظر گرفتن مقدار لیپید تولیدی توسط این گونه از مخمرها گزارش شده است. نرخ‌های بالاتر تولید در این تحقیقات مربوط به گونه‌های رودوسپوردیوم توریولویدز، با 10/92 µg/L/h (40 g/L گلوکز)، رودوترولا گرامینیس، با 12/24 µg/L/h (40 g/L گلوکز)، رودوسپوردیوم دایوبوواتوم، با 8/53 µg/L/h (40 g/L گلوکز)، رودوترولا گلوتینیس، با 5/26 µg/L/h (40 g/L گلوکز)، (26) و 3/18 µg/L/h (10 g/L گلوکز)، (27) بودند. هم‌چنین گونه‌های رودوترولا مینوتا (*Rd. minuta*)، با نرخ تولید 0/13 µg/L/h (40 g/L گلوکز)، (26) و 0/19 µg/L/h (10 g/L گلوکز)، (27) که نرخ تولید کاروتنوئید کمتری را در گزارش‌ها به خود اختصاص داده‌اند. پژوهش‌های انجام شده کاروتنوئید کمتری را نسبت به تحقیق حاضر تولید کرده‌اند که می‌تواند بدلیل نوع میکروارگانیسم، شرایط محیطی و یا نحوه استخراج و پایش کاروتنوئید می‌باشد.

در تحقیقات جداگانه‌ای تولید همزمان لیپید و کاروتنوئید با استفاده از رودوترولا گلوتینیس مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا در یک کشت ناپیوسته با استفاده از گلوکز (46/9 g/L) نرخ تولید لیپید 0/003 g/L/h و کاروتنوئید 2/73 µg/L/h گزارش شد (13). در تحقیق دیگری (22) با استفاده از یک راکتور 5 لیتری با استفاده از گلوکز (60 g/L)، نرخ تولید لیپید 0/121 g/L/h و نرخ تولید کاروتنوئید 47/87 µg/L/h گزارش گردید که نشان‌دهنده تفاوت بسیار زیاد نتایج در این گزارش‌ها باشد.

هم‌چنین همان طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود، پروفایل اسیدهای چرب در این‌گونه مخمر شباهت زیادی به دانه‌های روغنی مانند پالم، چربی‌های حیوانی و برخی ریزجلبک‌ها دارد (30، 29، 28) که نشان‌دهنده قابلیت بالای کاربرد این نوع مخمر در زمینه‌های تغذیه‌ای و انرژی زیستی است. به‌طورکلی مقایسه نتایج حاصل از این پژوهش و دیگر تحقیقات انجام شده، پتانسیل بالای مخمر رودوسپوردیوم دایوبوواتوم در تولید همزمان لیپید و کاروتنوئید با استفاده از بسترهای مختلف را نمایان می‌سازد. تحقیقات علمی و مهندسی بیشتر به منظور افزایش همزمان تولید تودهٔ سلولی، محتوای لیپید، کاروتنوئید و استفاده از سوبستراهای ارزان قیمت مانند مواد لیگنوسلولزی، پسماند گلیسرولی کارخانجات تولید بیودیزل، فاضلاب کارخانجات تخمیری و لبنی مورد نیاز می‌باشد.

سپاسگزاری

این تحقیق بخشی از پژوهش دوره فوق‌دکترا انجام شده توسط نویسنده اول مقاله در گروه مهندسی بیوسیستم دانشگاه مانیتوبا کانادا می‌باشد. پشتیبانی مالی این پروژه توسط دانشگاه مانیتوبا و دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر انجام گرفته که بدین وسیله مراتب تشکر و سپاس خود را از این دو دانشگاه معتبر اعلام می‌دارم.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-01]

• References

1. Donot F, Fontana A, Baccou JC, Strub C, Schorr-Galindo S. Single cell oils (SCOs) from oleaginous yeasts and moulds: Production and genetics. Biomass Bioenerg 2014;68:135-50.
2. Atabani AE, Silitonga AS, Irfan Anjum Bedruddin, Mahlia TMI, Masjuki HH, Mekhilef S. A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. Renew Sust Energ Rev 2012;16:2070-93.
3. Beopoulos A, Nicaud JM, Gaillardin C. An overview of lipid metabolism in yeasts and its impact on biotechnological processes. Appl Microbial Biotechnol 2011;90:1193-1206.
4. Sestric R, Munch G, Cicek N, Sparling R, Levin DB. Growth and neutral lipid synthesis by *Yarrowia lipolytica* on various carbon substrates under nutrient-sufficient and nutrient-limited conditions. Bioresour Technol 2014;164:41-6.
5. Poontawee R, Yongmanitchai W, Limtong S. Efficient oleaginous yeast for lipid production from lignocellulosic sugars and effect of lignocellulose degradation compounds on growth and lipid production. Process Biochem 2017;53:44-60.
6. Sitepu IR, Garay LA, Sesteric R, Levin DB, Block DE, Gillies LA, German JB, Boundy-Mills. Oleaginous yeast for biodiesel: Current and future trends in biology and production. Biotechnol Adv 2014; 32: 1336-60.
7. Qin L, Liu L, Zeng AP, Wei D. From low-cost substrates to single cell oils synthesized by oleaginous yeast. Bioresour Technol 2017;243:1-42.
8. Thiru M, Sankh S, Rangaswamy V. Process for biodiesel production from Cryptococcus curvatus. Bioresour Technol 2011;102:10436-40.
9. Thliveros P, Kiran EU, Webb C. Microbial biodiesel production by direct methanolysis of oleaginous biomass. Bioresour Technol 2014;157:181-7.
10. Mata-Gomez LC, Montanez JC, Mendez-Zavala A, Aguilar CN. Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. Microbial Cell Factories 2014;13:12.
11. Petrik S, Obruca S, Benesova P, Marova I. Bioconversion of spent coffee grounds into carotenoids and other valuable metabolites by selected red yeast strain. Biochem Eng J 2014;90:307-15.
12. Zhang Z, Zhang X, Tan. Lipid and carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* under irradiation/high-temperature and dark/low-temperature cultivation. Bioresour Technol 2014;157:149-153.
13. Schneider T, Graeff-Honninger S, French WT, Hernandez R. Merkt N. Claupein W, Hetrick M, Pham P. Lipid and carotenoid production by oleaginous red yeast *Rhodotorula glutinis* cultivated on brewery effluents. Energy 2013;61:34-43.
14. Sitepu IR, Sesteric R, Ignatia L, Levin DB, German JB, Gillies LA, Almada LAG, Boundy-Mills KL. Manipulation of culture conditions alters lipid content and fatty acid profiles of a wide variety of known and new oleaginous yeast species. Bioresour Technol 2013;144:360-9.
15. Munch G, Sestric R, Sparling R, Levin DB, Cicek N. Lipid production in the under-characterized oleaginous yeasts, *Rhodosporidium babjevae* and *Rhodosporidium diobovatum*, from biodiesel-derived waste glycerol. Bioresour Technol 2015;185:49-55.
16. Bligh E, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Phys 1959;37:911–7.
17. Cutzu R, Clemente A, Reis A, Nobre B, Mannazzu I, Roseiro J, De silva TL. Assessment of ß-carotene content, cell physiology and morphology of the yellow yeast *Rhodotorula glutinis* mutant 400A15 using flow cytometry. J Ind Microbial Biotechnol 2013;40:865-875.
18. DeNittis M, Zanoni B, Minati JL, Gorra R, Ambrosoli R. Modelling biology profiles evolution for yeast growth monitoring in alcoholic fermentation. Lett Appl Microbiol 2010;52:96-103.
19. Wang J, Wan W. Kinetic models for fermentative hydrogen production: A review. Int J Hydrogen Energ 2009;3313-23.
20. Phukoetphim N, Salakkam A, Laopaiboon P. Kinetic models for batch ethanol production from sweet sorghum juice under normal and high gravity fermentations: Logistic and modified Gompertz models. J Biotechnol 2017:243:69-75.
21. Lin J, Shen H, Tan H, Zhao X, Wu S, Hu C, et al. Lipid production by *Lipomyces starkeyi* cells in glucose solution without auxiliary nutrients. J Biotechnol 2011;152:184-8.
22. Zhang J, Fang X, Zhu X, Li Y, Xu H, Zhao B, et al. Microbial lipid production by the oleaginous yeast *Cryptococcus curvatus* O3 grown in fed-batch culture. Biomass Bioenerg 2011;35:1906-11.
23. Qiao K, Abidi S, Liu H, Zhang H, Chakraborty S, Watson N, et al. Engineering lipid overproduction in the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*. Metabolic Engineering 2015;29:56-65.
24. Xu J, Zhao X, Wang W, Du W, Liu D. Microbial conversion of biodiesel byproduct glycerol to triacylglycerols by oleaginous yeast *Rhodosporidium toruloides* and the individual effect of some impurities on lipid production. Biochem Eng J 2012;65:30-36.
25. Galafassi S, Cucchetti D, Pizza F, Franzosi Z, Bianchi D, Compagno C. Lipid production for second generation biodiesel by the oleaginous yeast *Rhodotorula graminis*. Bioresour Technol 2012;111: 398-403.
26. Buzzini P, Innocenti M, Turchetti B, Libkind D, Van Broock M, Mulinacci N. Carotenoid profiles of yeasts belonging to the genera *Rhodotorula, Rhodosporidium, Sporobolomyces, and Sporidiobolus*. Can. J. Microbial 2007;53:1024-31.
27. Maldonade IR, Rodriguez-Amaya DB, Scamparini ARP. Carotenoids of yeasts isolated from the Brazilian ecosystem. Food Chem 2008;107:145-50.
28. Nascimento IA, Marques SSI, Cabanelas ITD, Periera SA, Druzian JI, De Souza CO, et al. Screening Microalgae Strains for Biodiesel Production: Lipid Productivity and Estimation of Fuel Quality Based on Fatty Acids Profiles as Selective Criteria. Bioenerg Res 2013;6: 1-13.
29. Kent Hoekman S, Broch A, Robbins C, Ceniceros E, Natarajan M. Review of biodiesel composition, properties, and specification. Renew Sust Energ Rev 2012;16:143-69.
30. Ramos MJ, Fernandez CM, Casas A, Rodriguez L, Perez A.Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. Bioresour Technol 2009;100:261-8.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-01]

Evaluation of In Vitro Lipid and Carotenoid Synthesis by Yeast, *Rhodosporidium Diobovatum*

Nasirian N[1], Levin D. B*[2]

*1-*Corresponding author: Dept. of Agricultural Mechanization and Biosystem Engineering, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran. Email: n.nasirian@iau-shoushtar.ac.ir*

2- *Department of Biosystems Engineering, University of Manitoba, Winnipeg, Canada*

Received 25 Apr, 2017 **Accepted 2 Aug, 2017**

Background and Objectives: Recently, lipid and carotenoid synthesis by microorganism has been considered as the alternative method to the conventional animal and plant based resources. This study is focused on the ability of in vitro synthesis of these high-value products using *Rhodosporidium diobovatum* yeast.

Materials & Methods: Rate of biomass production, lipid and carotenoid content, were investigated for cell cultures in nitrogen-limiting medium containing glucose (217 mM) or glycerol (434 mM) during a five-day period of post inoculation (pi). The experiments were carried out at 30 °C and 150 rpm.

Results: Regarding the biomass yield (g dcw/g carbon consumed), no significant variation (5% probability) was observed in glucose (0.72±0.01) and glycerol (0.73±0.03) cell cultures after 120 h, but the glucose cultures synthesized more significant content of lipid at different time-points, and reached to a slightly greater amounts of lipid (46.29 ± 0.92 % dcw) than the glycerol cultures (44.57 ± 0.49 % dcw) at 120 h. In addition, the quantity of carotenoid production in glucose cultures was higher than those in glycerol cultures at 120 h pi (1987 ± 249 µg/L, versus 1758 ± 15 µg/L, respectively). Glucose grown cells produced 5.11% of mono-unsaturated fatty acid (MUFA) and 3.7% of poly-unsaturated fatty acid (PUFA) more than those in glycerol fed cultures, whereas the saturated fatty acid (SFA) were synthesized 8.21% more in the glycerol cultures.

Conclusion: The study shows extensive accumulation of neutral lipids and carotenoid, and suggests that *R. diobovatum* could be an effective strain for production of feedstock for food, fuel and bio industries from various substrates.

Keywords: Biomass, Carotenoid, Lipid, *Rhodosporidium diobovatum*, Fatty acid

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-01]