Archive of SID

بررسی کینتیک رشد و تولید کاروتنوئید با بکارگیری سولفات آمو نیوم توسط *Sporobolomyces ruberrimus* H110 در یک راکتور Batch

سید هادی رضوی *[1]، ا یوان مارک [2]

۱- استاد یار گروه علوم و صنایع غذایی ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

۲- استاد دانشکده مهندسی شیمی دانشگاه INPL، نانسی، فرانسه

چکیده

در این تحقیق یک سوش ایزوله جدید بنام *Sporobolomyces ruberrimus* H110 به منظور تولید کاروتنوئیدها (تورولارودین[1] و بتا کاروتن[2]) با استفاده از یک منبع ازت معد نی(سولفات آمونیوم) و یک منبع کربن (گلیسرول صنعتی) مورد بررسی و تحقیق قرار گرفت. سه غلظت مختلف سولفات آ مونیوم (۳، ۲۰ و۳۰ گرم در لیتر) به عنوان منبع ازت با ثا بت نگاهداشتن غلظت گلیسرول در حدود ۷۰ گرم در لیتر و درجه حرارت ۲۳ ^{o}C و pH= 6 در یک راکتور ۳ لیتری غیر مداوم بکار گرفته شد. حداکثر سلول خشک درهر سه غلظت تقریبا مساوی (۳٤ گر م سلول خشک در لیتر) و حداکثر میزان تورولارودین ۱/۲۰،۲/۷۰و۲ میلی گرم در گرم وزن خشک سلول وهمچنین غلظت بتا کاروتن ۰/۰۵، ۰/۱۰ و ۰/۰۳ میلی گرم درگرم وزن خشک به ترتیب در غلظتها ی ۳، ۲۰ و ۳۰ گرم در لیتر سولفات آ مونیوم بد ست آ مد. بیشترین مقدار μ_{max} (۰/۰۹۶) در غلظت ۳۰ گرم در لیتر و راندمان سلول خشک بر اساس میزان مصرف سوبسترای کربن (گلیسرول صنعتی) در تمامی آزمایشات ۰/۰۱ ± ۰/۵۲ گرم سلول خشک به ازاء گرم گلیسرول حاصل شد.

کلید واژگان: کاروتنوئید، بتا کاروتن، تورولارودین، کینتیک، سولفات آمونیوم، *Sporobolomyces ruberrimus* اچ۱۱۰

۱-مقدمه

با توجه به استقبال روز افزون مصرف کاروتنوئیدها، تمایل به یافتن منابع جدید جهت تولید کاروتنوئیدهای طبیعی از اهمیت قابل توجهی برخوردار می باشد. در این راستا، راه های بیوتکنولوژی، یکی از موثرترین و مناسبترین روشهای تولید اینگونه محصولات با بکارگیری میکروارگانیسم ها به شمار می روند که در این ارتباط می توان به تولید تورولارودین[1] و بتاکاروتن[2] توسط رُدوتورولا گلوتینیس[3] [۵،۴،۳،۲،۱]، تولید آستاگزانتین[4] توسط فافیاردوزیما[5][۸،۷،٦]، زئاگزانتین[6] بوسیله فلاوباکتریوم[7][۹] و بالاخره تولید کانتاگزانتین[8] توسطهالوفراکس آلکساندرینوس[9] [۱۰]،

[1] Torularhodin

[2] Beta carotene

[3] Rhodotorula glutinis
[4] Astaxanthin
[5] Phaffia rhodozyma
[6] Zeaxanthin
[7] Flavobacterium
[8] Canthaxanthin
[9] Haloferax alexandrius

www.SID.ir

Archive of SID

برادیریزوبیوم[1] [۱۱] و گوردونیا ژاکوبا[2] [۱۲] اشاره نمود.

در خصوص اثر منابع مختلف کربن و ازت، مطالعاتی در دنیا بر روی سوش های مختلف انجام گرفته که می توان به بررسی اثر منابع ازت و کربن بر روی رشد و تولید پیگمان زئاگزانتین با بکارگیری سوش فلاوباکتریوم توسط الکانتارا[3] و سانچز[4] (۱۹۹۹) و تحقیق دیگری که توسط یامان[5] و همکاران (۱۹۹۹) بر روی تاثیر گلوکز بر تولید پیگمان توسط فافیاژدوزیما انجام گرفته است اشاره نمود.

همچنین دُمیگول[6] و همکاران (۲۰۰۰) اثر منابع مختلف کربن را بر روی تولید کانتاکزانتین توسط سوش گوردنیا را نیز نشان دادند.

در این تحقیق، کینتیک رشدمخمرو تولید توروولارودین و بتاکاروتن با استفاده از دو منبع ارزان قیمت کربن (گلیسرول صنعتی) و ازت معدنی (سولفات آمونیوم) با بکارگیری یک راکتور Batch و همچنین کینتیک مصرف ازت و گلیسرول و مقایسه بین دو منبع ازت آلی و معدنی با استفاده از سوش اسپور و بولومیس روبریموس[7] اچ ۱۱۰ مورد بررسی و مطالعه قرار خواهد گرفت.

۲-مواد و روشها

۲-۱- میکروارگانیسم

سوش بکار برده شده در این تحقیق در آزمایشگاه GPBA-LSGC[8][9] دانشگاه INPL فرانسه توسط محقق ایزوله و شناسائی شد. در تمام مدت تحقیق سوش مذکور بر روی کشت جامد شیب دار YM (پپتون ۵ گرم در لیتر، گلوکز۱۰ گرم در لیتر، عصاره مخمر ۳ گرم در لیتر، عصاره مالت ۳ گرم در لیتر و آگار ۱۵ گرم در لیتر) در دمای ٤ ^{o}C نگهداری می شد. به منظور قرار دادن میکروارگانیزمها در وضعیت فیزیولوژی مناسب، هر ۲۰ روز یکبار نمونه ها به کشت های تازه منتقل می شدند.

۲-۲- کشت میکروارگانیسم

اولین محیط کشت (preculture 1) در یک فلاسک ارلن مایر ۳۰۰ml حاوی ۵۰ml محیط کشت (گلوکز ۱۰ گرم در لیتر؛ عصاره مخمر ۳ گرم در لیتر؛ عصاره مالت ۳ گرم در لیتر و پپتون ۵ گرم در لیتر) و بر روی یک شیکر با ۲۱۰ دور در دقیقه به مدت ۲٤ ساعت و در درجه حرارت ۲۸^{o}C انجام گرفت.

pH محیط کشت قبل از انجام استریلیزاسیون در ٦ ثابت و ml ۱۰ از این محیط به دومین محیط کشت (preculture 2) در یک فلاسک ارلن مایر یک لیتری حاوی ml ۲۰۰ محیط با مشخصات زیر منتقل شد:

گلیسرول ۳۲/۵ گرم در لیتر، سولفات آمونیوم ۳ گرم در لیتر، پپتون ۰/۵ گرم در لیتر، عصاره مخمر ۱ گرم در لیتر، Na_2HPO_4 ۲۰گرم در لیتر،$MgSO_4.7H_2O$ ۱/۵ گرم در لیتر و KH_2PO_4 ٤ گرم در لیتر. عمل کشت بر روی یک شیکر با ۲۱۰ دور در دقیقه به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۲۳^{o}C انجام گرفت.

۱۵۰ml از دومین محیط کشت (preculture 2) به عنوان مایع تلقیح در یک بیوراکتور ۳ لیتری حاوی ۱/۵ لیتر محیط کشت (culture) زیر منتقل شد:

مقدار ۳، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم در لیتر $(NH_4)_2SO_4$ بطور جداگانه، گلیسرول صنعتی ٦۷ گرم در لیتر، پپتون ۰/۵ گرم در لیتر، عصاره مخمر ۱ گرم در لیتر، Na_2HPO_4 ۲ گرم درلیتر، ($MgSO_4.7H_2O$) ۱/۵گرم در لیتر و KH_2PO_4 ٤ گرم در لیتر.

[1] Bradyrhizobium
[2] Gordonia jacobaea
[3] Alcantara
[4] Sanchez
[5] Yamane
[6] de Miguel
[7] Sporobolomyces ruberrimus H110
[8] Génie des procédés Biotechnologiques et Alimentaire
[9] Laboratoire des Sciences du Génie Chimique

www.SID.ir

Archive of SID

(ترکیب گلیسرول صنعتی عبارت است از: گلیسرول خالص ٦٧٪، اسیدهای چرب ٢٪، نمک ها ٣٪ و آب ٢٨٪) pH محیط با محلولهای KOH 2M و (٦٢/٥٪ H_3PO_4 قبل از استریلیزاسیون در ٦ تنظیم شد. بعد از تلقیح، درجه حرارت، pH و سرعت همزن به ترتیب در ٢٣^oC ، ٦ و ٣٠٠ دور در دقیقه ثابت نگاهداشته شد. در طول فرایند تخمیر، اکسیژن محلول در یک سطح ٥٠٪ توسط کنترل سرعت جریان هوا و سرعت همزن (٩٠٠-٣٠٠ دور در دقیقه) ثابت نگاهداشته شد.

به منظور جلوگیری از ایجاد کف از ماده Biospumex 153 (Biosoph peronne, France) در طی عمل تخمیر استفاده شد.

٢-٣- آنالیز

وزن سلولی مخمر (گرم در لیتر) توسط عمل فیلتر کردن و شستشو (دوبار) با سرم فیزیولوژی و قراردادن در حرارت ١٠٥ ^oC به مدت ١٢ ساعت انجام گرفت. به منظور تسهیل درانجام کار، وزن سلول مخمربا استفاده از منحنی‌حاصله ازجذب نوری (طول موج٦٠٠nm) با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر(LKB-Biochrom Cambridge, England,) و وزن خشک سلول محاسبه شد. غلظت گلیسرول توسط دستگاه HPLC و با استفاده از ستون Polypore column × 7mm H250mm و با بکارگیری محلول (H_2SO_4 ٠/٠٤N) و در دمای ٦٥^oC انجام گرفت. ازت تام توسط روش کلدال (Vapodest 4 Titramatic, Gerhardt GmbH and Co. KG. Bom) و یون آمونیوم با استفاده از سوند[1] " orion 95" که اختلاف ما بین یک محلول شناخته شده (استاندارد) و نمونه مورد آزمایش را توسط نفوذ گاز اندازه گیری می نماید تعیین مقدار گردید.

٢-٤-استخراج واندازه‌گیری کاروتنوئیدها

مقدار ٥ml از محیط کشت به منظور استخراج کاروتنوئیدها با استفاده از سانتریفوژ (٤٥٠٠g به مدت ١٠ دقیقه در دمای ٤^oC) جمع آوری و پس از حذف فاز آبی، سلولها با سرم فیزیولوژی شستشو (دوبار) شدند. از آنجائیکه دیواره سلولهای مخمر در مقایسه با باکتریها از استحکام بالاتری برخوردار می باشد لذا در این قسمت به منظور تسهیل در خروج پیگمان، از یک روش فیزیکی استفاده به عمل آمد.

پس از شستشو و جمع آوری سلولها، مجدداً سلولها با ١٠ml آب مقطر به حالت سوسپانسیون درآمده و محلول غیرهمگن تحت سایش گلوله های ریز شیشه ای (٠/٤mm, ٪١٠ w/v) به مدت ده دقیقه در دمای ١٨ ^oC- در یک دستگاه Bead Beater قرار گرفتند (Vibrogen-Zellmühle, Bioblock, France). دو فاز آبی و مخلوط سلول و گلوله های شیشه ای توسط عمل سانتریفوژ (٤٥٠٠ g-١٠دقیقه) جدا و پس از شستشو و آبگیری، سلولها در ٥ml اتانول به حالت سوسپانسیون در آمدند. سپس نمونه ها به مدت ٥ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک قرار گرفتند و سوسپانسیون حاصله به مدت ٢ دقیقه با دستگاه ورتکس[2] به شدت مخلوط شد. پس از این مرحله، نمونه مورد نظر مجدداً تحت عمل سانتریفوژ قرار گرفته و فاز مایع (اتانول حاوی پیگمان) جمع آوری گردید. این روش تا بی رنگ شدن سلول مخمر تکرار شد. نمونه های حاصله توسط فیلترهای P.T.F.E مقاوم به حلال، صاف شده و در دمای ٨٠ ^oC- در ظروف مقاوم به نور تحت خلأ تا زمان آزمایش نگهداری شدند.

کاروتنوئیدها، توسط روش HPLC با بکارگیری یک ستون آنالیتیکال[3] Symetry Analytical C18co1oum, (150mm × 4.6mm, 300Å) (Waters, USA) و قطر ٣/٥ میکرومتر و دتکتور

[1] Sond

[2] Vortex
[3] Analytical

www.SID.ir

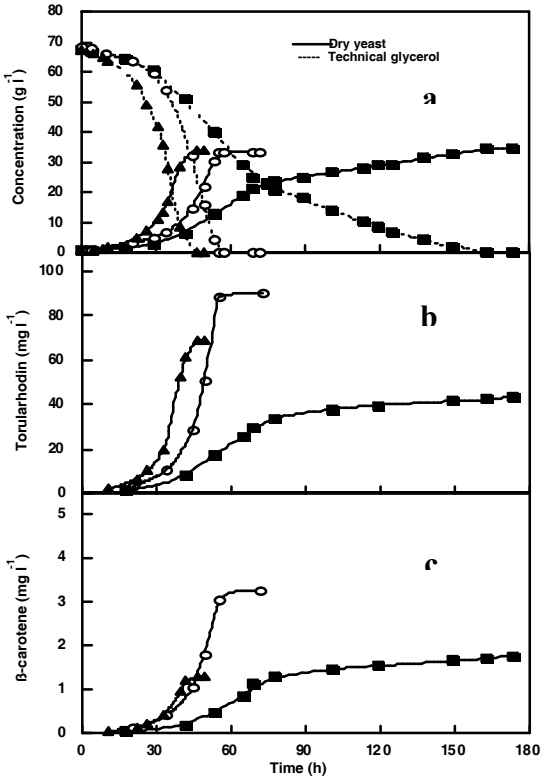
Archive of SID

UV در طیف ۵۰۰-۴۲۰ نانومتر اندازه گیری شدند. در این آزمایش از محلول ایزوکراتیک استونیتریل - متانول- دی کلرومتان با سرعت ۱ml در دقیقه به نسبت های(۷:۲۲:۷,v/v/v) به عنوان فاز متحرک استفاده گردید. دمای ستون آنالیز در طی آزمایش در ۳۵°C ثابت بود.

۳-نتایج و بحث

تحت شرایط pH کنترل شده، کینتیک رشد و تولید کاروتنوئیدها (تورولارودین و بتاکاروتن) توسط *Sporobolomyces ruberrimus* H110 در غلظتهای مختلف سولفات آمونیوم و با بکارگیری گلیسرول مورد بررسی و تحقیق قرار گرفت. همانطور که در شکل ۱a ملاحظه می شود با افزایش مقدار غلظت سوبسترا (سولفات آمونیوم) زمان مصرف گلیسرول بطور معنی داری کاهش می یابد. با بررسی منحنی مصرف گلیسرول به عنوان منبع کربن نتیجه می گیریم که بین تولید توده سلولی و مصرف سوبسترا، در تمام آزمایشها کاملاً یک توازن وجود دارد و با اتمام منبع کربن، رشد مخمر هم بطور کامل متوقف می شود که این خود نشان دهنده مناسب بودن گلیسرول صنعتی به عنوان یک منبع کربن برای این مخمر می باشد. همچنین در طی این تحقیق همانطور که از شکل (شکلهای ۱cو۱b) استنباط می شود، سنتز پیگمانها تقریباً همزمان با مراحل رشد شروع می گردد و بیشترین مقدار پس از وارد شدن در ابتدای فاز ثابت حاصل می شود (تورولارودین و بتاکاروتن). مقایسه کینتیک تورولارودین و بتاکاروتن، همزمانی و هماهنگی تولید این دو پیگمان را در مراحل مختلف رشد نشان می دهد.

غلظتهای تورولارودین با بکارگیری سه مقدار مختلف سولفات آمونیوم (۳،۲۰،۳۰) به ترتیب به ۴۱/۴، ۹۰/۵ و ۶۹ میلی گرم در لیتر افزایش یافت.



شکل ۱- کینتیک رشدمخمر(a) و تولید تورو لا رودین (b) و بتا کاروتن(c) (مبلی گرم در لیتر) توسط ا سپوروبولو میسز رو بریموس بر روی غلظتهای مختلف سولفات آمونیوم. pH ودر جه حرارت بترتیب در ۶ و ۲۳ °C ثا بت نگهداری شد. ■ ۳ گرم در لیتر ، ○ ۲۰ گرم در لیتر و ▲ ۳۰ گرم در لیتر.

همچنین با بکارگیری ۳۰ گرم در لیتر سولفات آمونیوم در محیط کشت، سرعت رشد به مقدار قابل توجهی افزایش و زمان تخمیر به حدود ۴۶ ساعت تقلیل و (μ_{max}) بعد از حدود ۱۲ ساعت از رشد در مقایسه با سایر غلظتهای بکار برده شده بالاتر بود(h^{-1} ۰/۰۹۶= μ_{max}). مقدار μ_{max} ، تورولارودین و بتاکاروتن سلولی (میلی گرم در گرم سلول خشک) در جدول شماره ۱ و کینتیک مصرف غلظت های مختلف ازت در شکل شماره ۲ نمایش داده شده است. همانطور که ملاحظه می شود با بکارگیری مقدار ۳ گرم در لیتر سولفات آمونیوم، مقدار توده سلولی به آهستگی افزایش می یابد و زمان کل تخمیر با مصرف کامل گلیسرول به اتمام می‌رسد (۱۷۲ ساعت) در این حالت μ_{max} کمترین مقدار را دارا می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

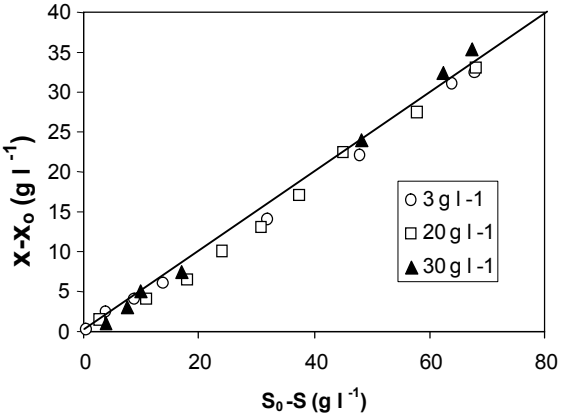
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- سرعت رشد مخصوص مخمر اسپوروبولومیسزروبریموس و غلظت نهایی کاروتنوئیدهای (تورولارودین و بتا کاروتن) تولیدی توسط مخمر در مقادیر مختلف سولفات آمونیوم.

$(NH_4)_2SO_4$ $(g\ g^{-1})$	μ_{max} (h^{-1})	تورو لارود ین (میلی کرم/کرم)	بتا کاروتن (میلی کرم/کرم)
۳	۰/۰۵۸	۱/۲۰	۰/۰۵۴
×۱۰	۰/۰۶۴	اندازه‌گیری نشده است	اندازه‌گیری نشده است
۲۰	۰/۰۷۲	۲/۷۰	۰/۱۰
۳۰	۰/۰۹۶	۲/۰	۰/۰۳۶

*نتایج نشان داده نشده است.



شکل ۲- اثر ازت (سولفات آمونیوم) برروی رشد سلولی (وزن خشک) و مدت زمان تخمیر توسط مخمر. pH ودر جه حرارت بترتیب در ٦ و $^{\circ}C$ ۲۳ ثا بت نگهداری شد. a) ۳ گرم در لیتر ، b) ۲۰ گرم در لیتر c) ۳۰ گرم در لیتر. □ وزن سلول خشک، ●غلظت ازت

همچنین مشاهده نمودیم که غلظت بالای سولفات آمونیوم (۳۰ گرم در لیتر) یک اثر بازدارنده بر مقدار پیگمان دارد. بر اساس اطلاعات ما، تاکنون هیچ تحقیقی در خصوص اثر منابع ازت بر روی این سوش صورت نگرفته اما در مقایسه با تحقیقات گذشته بر روی چند مخمر منجمله فافیا رودوزیما نتایج مشابهی تحصیل شد. اکاگبو[1] و همکاران [۱۳] در یک تحقیق نشان دادند که عصاره باقیمانده یونجه (Arj[2] زمانیکه به عنوان منبع ازت قرار می گیرد (۱/۲۵٪ v/v)، یک اثر بازدارنده بر تولید پیگمان دارد[13]. در همین رابطه میر[3] و پریز[4] (۱۹۹۸) گزارش نمودند[14] که غلظت بالای آمونیوم سبب کاهش آستاگزانتین در مخمر فافیا ردوزیما می شود. بنابراین، طبق نتایج حاصله، غلظت سولفات آمونیوم می تواند سرعت رشد و همچنین سنتز کاروتنوئیدها را در این سوش کنترل نماید.

همچنین در این تحقیق نشان داده شد که ارتباط مستقیمی بین تولید توده سلولی و مقدار گلیسرول وجود دارد. راندمان، با استفاده از توده سلولی تولید شده $(X-X_o)$ و گلیسرول مصرف شده (S_o-S) در شکل شماره ۳ نشان داده شده است، بر اساس منحنی مذکور، می توان نتیجه گرفت که تولید توده سلولی غیر وابسته به مراحل رشد و غلظت سولفات آمونیوم بکار گرفته می باشد.

راندمان همیشه در طی زمان تخمیر برابر با ۰/۰۱ ±۰/۵۲ گرم در گرم با یک شیب خط حدود ۰/۹۸ می باشد.

[1] Okagbue

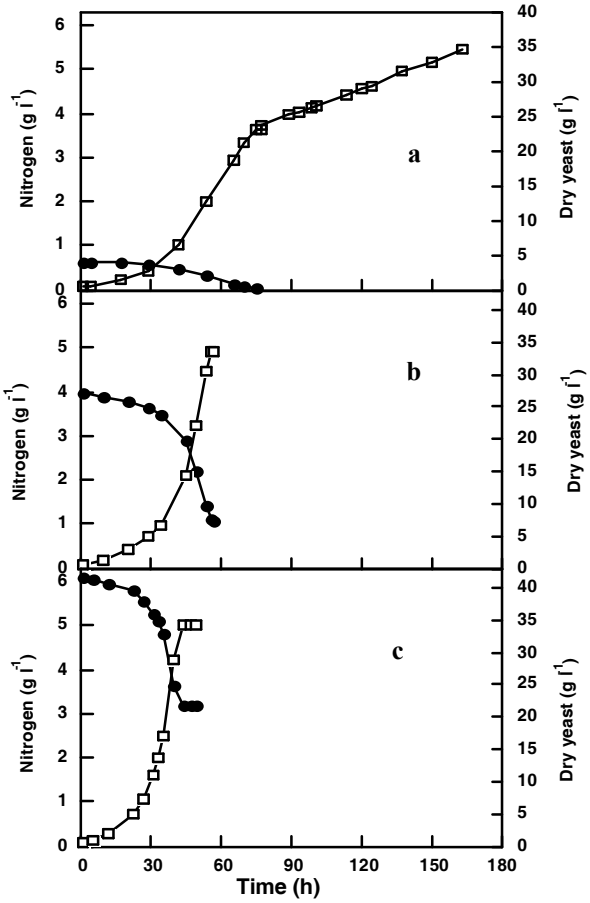
[2] Alfalfa residual juice

[3] Meyer

[4] Preez

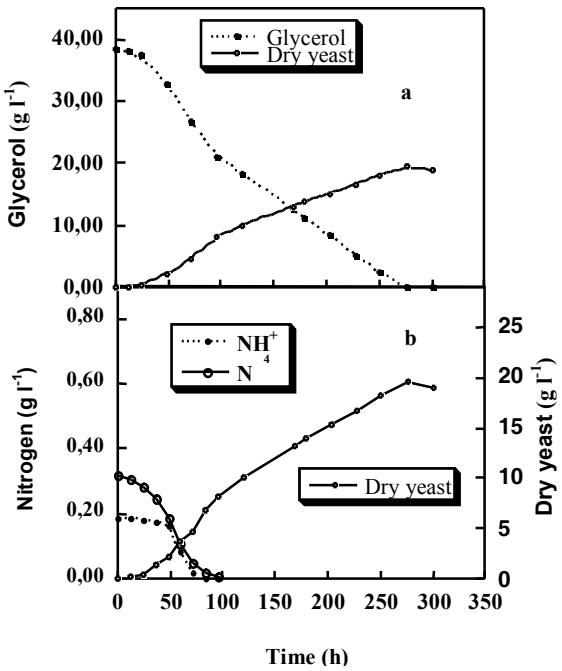
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳ – راندمان تو لید سلول خشک بر اساس میزان مصرف گلیسرول در غلظتهای مختلف سولفات آمونیوم.
■ ۳ گرم در لیتر ، ○ ۲۰ گرم در لیتر و ▲ ۳۰ گرم در لیتر.

در تحقیق دیگری اثر دو منبع ازت آلی و معدنی در غلظت های بسیار کم مورد مطالعه دقیق قرار گرفت. در این بررسی، محیط کشت حاوی، پپتون ۰/۵ گرم در لیتر، عصاره مخمر ۱ گرم در لیتر، سولفات آمونیوم ۱ گرم در لیتر و گلیسرول ۳۸ گرم در لیتر با استفاده از یک راکتور ۳ لیتری در دمای ۲۳°C و pH=6 بکار گرفته شد. همانطور که در شکل ٤ مشاهده می شود، دو فاز کاملاً مشخص در جریان تخمیر ملاحظه می شود و تا هنگام ۹۵ ساعت از تخمیر، رشد سریع و بعد از آن سرعت رشد کاهش می یابد (۲۷۵-۹۵ ساعت) در انتهای فاز اول، غلظت مخمر به حدود ۷ گرم در لیتر می رسد و در انتهای این فاز مقدار کل توده سلولی به ۱۹/۵ گرم در لیتر افزایش می یابد در شکل ٤b نشان داده شد در ابتدای رشد در صورت وجود ازت آلی و معدنی، مخمر ترجیحاً، ازت آلی را مورد مصرف قرار میدهد و پس از اتمام ازت آلی، مخمر از ازت باقیمانده (سولفات آمونیوم) به عنوان منبع ازت استفاده می نماید.



شکل ٤- کینتیک رشد سلول مخمر در حضور مقادیر اندک ازت الی و ازت معد نی : a) کنستسک مصرف گلیسرول و رشد سلول b) کینتیک مصرف ازت کل (ازت آلی و ازت معدنی).

که با استفاده از رسم منحنی محاسبه μ_{max} [$\ln(x)$ بر حسب زمان] می توان سه μ_{max} را کاملاً تشخیص و شناسایی نمود (در حضور دو منبع ازت آلی و معدنی) مرحله از زمان صفرتا تقریباً ۵۰ ساعت از تخمیر، رشد سلول با یک μ_{max} بالا (۰/۰۵۸ h^{-1}) انجام می گردد که این مرحله با مصرف ازت آلی (پپتون و عصاره مخمر) مرتبط است.

از زمان ۵۰ تا تقریباً ۹۵ ساعت از تخمیر، رشد با یک μ_{max} کمی ضعیفتر (۰/۰۲۵ h^{-1}) که مرتبط با مصرف ازت آمونیاکی می باشد ادامه می یابد (سولفات آمونیوم).

www.SID.ir

Archive of SID

و بالاخره در آخرین قسمت که در فاصله زمانی ۹۵ تا تقریباً ۲۷۵ ساعت انجام می گیرد رشد با یکμ_{max} بسیار ضعیف ادامه می یابد (h^{-1} ۰/۰۰۵) در این حالت، استنباط می شود که مخمر مذکور با حضور مقادیر بسیار اندک ازت که می تواند ناشی از سلولهای مرده و یا منابع ازت داخل سلولی باشد به رشد ادامه دهد به شرط اینکه در محیط یک منبع کربن وجود داشته باشد.

این آزمایش همچنین نتایج بدست آمده در تحقیقات قبل را مورد تائید قرار می‌دهد و نشان می دهد که راندمان همیشه برابر با ۰/۰۱ ± ۰/۵۲ گرم در گرم (شکل ٤a) به ازاء مصرف گلیسرول می باشد و سرعت رشد همیشه تحت تاثیر مقادیر مختلف ازت و نوع ازت مصرفی قرار می گیرد.

٤- نتیجه گیری

نتایج نشان داد که سولفات آمونیوم می تواند یک منبع بسیار مناسب ازت از لحاظ رشد و تولید پیگمان توسط مخمر *SP. rubberimus* H۱۱۰ باشد. از طرفی تحقیقات نشان داد غلظت بالای ازت یک اثر بازدارنده بر روی تولید پیگمان داشته ولی سبب افزایش μ_{max} می گردد. در مقایسه با پپتون و عصاره مخمر، سولفات آمونیوم یک منبع ارزان قیمت بوده و لذا تولید کاروتنوئیدها را توسط این روش توجیه می سازد. این تحقیق همچنین نشان داد وجود اندکی ازت آلی می تواند μ_{max} را به شدت افزایش دهد و با توجه به راندمان بالای این روش $Y_{x/s}$ بالخصوص با بکارگیری یک منبع کربن ارزان قیمت (گلیسرول صنعتی) می توان، این مخمر را به عنوان یک منبع بالقوه جهت تولید صنعتی کاروتنوئیدها معرفی نمود خصوصاً طبق تحقیقات انجام شده، مشخص گردید که سوش مذکور کاملاً کم توقع و دارای راندمان بسیار بالایی جهت تولید پیگمان می باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از شرکت نوانس[1] (Campiégne, France) بخاطر در دسترس قرار دادن گلیسرول صنعتی تشکر و قدردانی می نمایند.

٥- منابع

[1]Buzzini, P. Martini, A. 1999. Production of carotenoids by strains of Rhodotorula glutinis cultured in raw materials of agro-industrial origin. Bioresource Technology. 71: 41-44.

[2]Kim, K. K. Park, P. K. Chae, H.J and Kim, E.Y. 2004. Effect of phenol on β-carotene content in total carotenoids production in cultivation of Rhodotorula glutinis. Korean Journal of Chemistry Engineering . 21: 689-692.

[3]Bhosale, P and Gadre, R.V. 2001. Optimization of carotenoid production from hyper-producing Rhodotorula glutinis mutant 32 by a factorial approach. Letters in Applied Microbiology.33: 12-16.

[4]Bhosale, P.B. and Cadre, R.V. 2001. Production of β-carotene by a mutant of Rhodotorula glutinis. Applied Microbiology Biotechnology. 55: 423-427.

[5]Buzzini, P. 2001. Batch and fed-batch carotenoid production by Rhodotorula glutinis-Debaryomyces castellii co-culture in corn syrup. Journal of Applied Microbiology. 90: 843-847.

[6]GU, W-L. AN, G-H and Johnson, EA. 1997. Ethanol increase carotenoid production in Phaffia rhodozyma. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 19: 114-117.

[7]AN, G-H. Jang, B-G and Cho, M-H. 2001. Cultivation of the carotenoid-hyper producing mutant 2A2N of the red yeast Xanthophyllomyces dendrorhous (Phaffia rhodozyma) with molasses. Journal of Bioscience and Bioengineering. 92: 121-125.

[1] Novance

www.SID.ir

Archive of SID

[8]Kusdiyantini, E. Gaudin, P. Goma, G. Blanc, P.L. 1998. Growth kinetics and astaxanthin production of Phaffia rhodozyma on glycerol as a carbon source during batch fermentation. Biotechnology Letters. 20: 929-934.

[9]Alcantara, S and Sanchez, S. 1999. Influence of carbon and nitrogen sources on flavobacterium growth zeaxanthin biosynthesis. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 23:697-700.

[10]Asker, D and Ohta, Y.Y. 1999. Production of canthaxanthin by extremely halophilic bacteria. Journal of Bioscience and Bioengineering. 88: 617-621.

[11] Lorquin, J. Molouba, F. and L.Dreyfus, B. 1997. Identification of the carotenoid pigment canthaxanthin from photosynthetic Bradyrhizobium strains. Applied and Environmental Microbiology. 1151-1154.

[12]De Miguel, T. Sieiro, C. Poza, M and Villa, T.G. 2001. Analyse of canthaxanthin and pigments from Gordonina jacobaea mutants. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 49: 1200-1202.

[13]Okagbue, R.N and Lewis, M.J. 1984. Use of alfalfa residual as a substrate for propagation of the red yeast Phaffia rhodozyma. Applied Microbiology and Biotechnology. 20: 33-39.

[14]Meyer, P.S and Du Preez, J.C. 1994. Astaxanthin production by a Phaffia rhodozyma mutant on grape juice. World Journal Microbiology and Biotechnoly. 10: 178-183.

www.SID.ir

Archive of SID

Growth Kinetic and Carotenoids Production by porobolomyces Ruberimus H110 Using Ammonium Sulfacte in Batch Reactor

Razavi, S.H.,*[1] Evan, M.[2]

1-Department of food Science and technolofy, Faculty of agriculfure, University of Tehran, Iran

At this study, growth and production of carotenoid (torularhodin and β- carotene) by a new isolated strain (Sporobolomyces ruberimus H110) were studied using technical glycerol and ammonium sulfate as souces of carbon and nitrogen, respectively. Experiment was carried out in a 3L reactor batch in which glycerol concentration was kept constant but three different concentration of ammonium sulfacte (3, 20 and 30 g/l) were used at 23ºC and pH=6. The maximum yield of toularhodin (2.70mg/l) and β- carotene (0.10 mg/l) was obtained using 20 g/l ammonium sulfate.

The highest amount of μ_{max} (0.096 h^{-1}) obtained with supplying of 30 g/l ammonium sulfate. The optimum production (growth yield as a function of glycerol consumption for different intial sulfate ammonium concentrations) was 0.52±0.01 g/g in all of the experiments.

Key words: Sporobolomyces ruberimus H110, Carothenoids, Torularhodin, β- carotene, Amonium sulfate.

* Corresponding author

www.SID.ir