اثر روغن زیتون بر تولید اسیدهای چرب امگا در مخمر *یاررویا لیپولیتیکا*

فرشاد درویشی* و ناهیده سلمانی

مراغه، دانشگاه مراغه، دانشکده علوم

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۳

چکیده

میکروارگانیسم‌های روغنی بیش از ۲۰ درصد وزن خشک خودشان چربی تولید می‌کنند. اسیدهای چرب امگا، به عنوان اسیدهای چرب ضروری برای تغذیه انسان، توسط این میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شود. بررسی اثر روغن زیتون بر روی تولید اسیدهای چرب امگا توسط مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* هدف این تحقیق بود. مخمر در محیط کشت حاوی روغن زیتون کشت داده شد و سپس برای شمارش تعداد سلول‌ها و استخراج چربی میکربی به مدت چهار روز نمونه برداری شد. بیشترین مقدار چربی و وزن خشک به ترتیب با مقدار ۵/۳۲ و ۱۰/۲ گرم در لیتر پس از سه روز به دست آمد. نتایج تجزیه و تحلیل نیم رخ اسیدهای چرب نشان داد که هر دو اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع در چربی میکربی حاصل وجود دارند. حدود ۲/۶۲ گرم در لیتر اسید چرب امگا تولید شد که به ترتیب میزان اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید گوندئیک ۲/۳۷ ، ۰/۲ و ۰/۰۵ گرم در لیتر بودند. اسیدهای چرب غیر اشباع امگا ۶ (اسید لینولئیک) و ۹ (اسید اولئیک و اسید گوندوئیک) تولید شده توسط مخمر در محیط حاوی روغن زیتون را می‌توان در محصولات دارویی و تغذیه‌ای به کار رود.

واژه‌های کلیدی: میکروارگانیسم روغنی، چربی میکروبی، نیم رخ اسیدچرب، اسید چرب اشباع، اسید چرب غیر اشباع.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۳۷۲۷۸۹۰۰-۰۴۱، پست الکترونیکی: f.darvishi@ymail.com

مقدمه

به طور معمول میکروارگانیسم‌هایی (باکتری‌ها، مخمرها، کپک‌ها و ریزجلبک‌ها) که قادر به ذخیره‌ی چربی بیشتر از ۲۰ درصد وزن خشک خود هستند، به عنوان میکروارگانیسم روغنی شناخته می‌شوند، در شرایط کمبود نیتروژن می‌توانند به ۷۰ درصد وزن زیست توده یا بیشتر نیز برسند. به چربی تولید شده توسط این میکروارگانیسم‌ها چربی میکربی یا چربی تک سلولی گفته می‌شود (۳۲، ۲۶، ۲۱، ۱۷). تولید چربی میکربی به دلیل توانایی و ظرفیت میکروارگانیسم‌های روغنی گوناگون برای تولید چربی‌هایی با کاربردهای پزشکی و رژیمی مانند اسیدچرب غیر اشباع گاما اسید لینولنیک (γ-linoleic acid)، مورد توجه خاصی قرار گرفته است (۲۷، ۴). مخمرهای روغنی مختلفی به عنوان تولیدکنندگان مناسب اسیدهای چرب در نظر گرفته می‌شوند (۱۲). تری آسیل گلیسرول‌های ساخته شده از اسیدهای چرب بلند زنجیره از ترکیبات اصلی چربی‌های ذخیره شده هستند (۳۱). اولین بار در سال ۱۹۲۹ بعد از مشاهده بیماری بافت مردگی در نواحی نزدیک به دم در رت‌های ویستار محروم از دریافت چربی در رژیم غذایی، اهمیت اسیدهای چرب مطرح شد و پس از آن شناخت اهمیت و نقش چربی‌ها، پیش‌سازها و مشتقات آن‌ها افزایش یافت. در دهه‌های اخیر رشد چشمگیری در تمایل به تولید اسیدهای چرب غیراشباع از منابع میکربی به وجود آمده است (۳۰، ۲۰، ۶). اسیدهای چرب دارای بیش از یک پیوند دوگانه و غیراشباع در پیشگیری و یا درمان بیماری‌ها و اختلالات مهمی مانند سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری‌های خود ایمنی، اختلالات مغزی، چاقی و دیابت، دارای کاربرد بوده و نیز رژیم متعادل حاوی اسیدهای چرب امگا- ۳ و امگا- ۶ از روغن‌های گیاهی، غذاهای

دریایی و مکمل‌ها در طی رشد جنین و نوزادان پیشنهاد می‌شود. رایج‌ترین منبع اسیدهای چرب دارای بیش از یک پیوند دوگانه و غیراشباع روغن ماهی است ولی به علت بوی نامطلوب و پایداری کم و حضور آلاینده‌هایی مانند فلزات سنگین و ترکیبات جهش‌زا در محیط پرورش ماهی-ها، استفاده از روغن‌های ماهی به عنوان افزودنی غذایی با محدودیت‌های قابل توجهی مواجه می‌باشد. بنابراین چربی میکربی به علت دارا بودن این اسیدهای چرب به عنوان جایگزینی مناسب در نظر گرفته می‌شود (۷، ۵، ۲).

مخمرها توانایی تولید چربی از منابع کربنی گوناگون حتی از چربی موجود در محیط کشت را دارا هستند در حقیقت قادر به ایجاد تنوع در ترکیب چربی با جایگزین کردن اسیدهای چرب موجود در تری‌گلیسیریدها با اسیدهای چرب موجود در محیط کشت هستند (۱،۱۳). در تحقیق حاضر از *یاررویا لیپولیتیکا* که قارچی دی‌مورف و نامتعارف است استفاده گردید که در ابتدا با نام *کاندیدا لیپولیتیکا* شناخته می‌شد ولی در سال ۱۹۸۰ توسط وان در والت و آرکس به دلیل توانایی بالا در تجزیه‌ی ان-پارافین-ها و روغن‌ها اسم *یاررویا لیپولیتیکا* برای این قارچ انتخاب شد (۲۴، ۱۱، ۱۰، ۳). این مخمر که تا حدود ۴۰ درصد وزن خشک خود را می‌تواند چربی ذخیره کند میکروارگانیسمی مهم با کاربردهای بیوتکنولوژیکی است که از فرآورده‌های اصلی به دست آمده از آن می‌توان پروتئین تک سلولی، اسیدهای آلی مانند اسید سیتریک، آنزیم‌ها (پروتئازها، لیپازها، استرازها و فسفاتازها)، و چربی میکربی را نام برد (۲۴، ۱۰). اسید لینولئیک (9,12-Octadecadienoic acid) که جز اسیدهای چرب امگا ۶ است از اسیدهای چرب ضروری بوده و نقش مهمی در سلامتی دارد از اسیدهای چرب ذخیره شده در *یاررویا لیپولیتیکا* می‌باشد (۱۵، ۹). به طور کلی اسیدهای چرب امگا ۳ با شروع پاسخ‌های ضد التهابی و اسیدهای چرب امگا ۶ با پاسخ‌های پیش التهابی در ارتباط هستند. اسیدهای چرب غیر ضروری امگا ۹ به عنوان ترکیبات ضروری برای دیگر مسیرهای متابولیکی که ممکن است ریسک بیماری‌ها را تحت تأثیر قرار دهند عمل می‌کنند (۱۸). با توجه به اهمیت غیر قابل انکار اسیدهای چرب امگا، هدف این تحقیق بررسی اثر روغن زیتون به عنوان منبع کربن برتولید اسیدهای چرب امگا با استفاده از مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* بود.

مواد و روشها

مواد شیمیایی: همه مواد استفاده شده در این تحقیق از شرکت مرک آلمان خریداری شد. روغن زیتون با درجه صنعتی از کارخانه روغنکشی وراویز رودبار واقع در استان گیلان تهیه گردید.

سویه مخمری: در این تحقیق از مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* سویه *Yarrowia lipolytica* CBS6303 که از کلکسیون CBS (Centraalbureau voor Schimmelcultures) هلند خریداری شده بود، استفاده گردید.

تهیه مایه تلقیح: برای تهیه کشت تازه و فعال‌سازی مخمر از محیط YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose Agar) استفاده گردید که سویه‌ی مخمر پس از کشت، در دمای ۲۹ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت، گرمخانه-گذاری شد. سپس به ۲۰ میلی‌لیتر محیط پیش تولید که در ارلن مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری تهیه شده بود منتقل گردید که حاوی گلوکز ۱۵ گرم بر لیتر، پپتون ۱ گرم بر لیتر، عصاره مخمر ۰/۵ گرم بر لیتر، پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات ۱ گرم بر لیتر و سولفات منیزیم ۰/۵ گرم بر لیتر بود و به مدت ۲۴ ساعت با دمای ۲۹ درجه سانتیگراد و ۲۰۰ دور در دقیقه گرمخانه‌گذاری شد (۲۵).

تهیه محیط تولید: ترکیبات محیط تولید شامل روغن زیتون ۳۰ میلی‌لیتر در لیتر، پپتون ۱ گرم در لیتر، عصاره مخمر ۱ گرم در لیتر، سولفات منیزیم ۱/۵ گرم در لیتر، فسفات دی‌هیدروژن پتاسیم ۷ گرم در لیتر، فسفات دی‌هیدروژن سدیم ۲ گرم در لیتر بود که در آب مقطر حل و در اتوکلاو

استریل شد (۲۵). در کشت شاهد به جای استفاده از روغن زیتون به عنوان منبع کربن از محیط استاندارد که حاوی گلوکز به عنوان منبع کربن است با همان مقدار ۳۰ گرم در لیتر استفاده گردید.

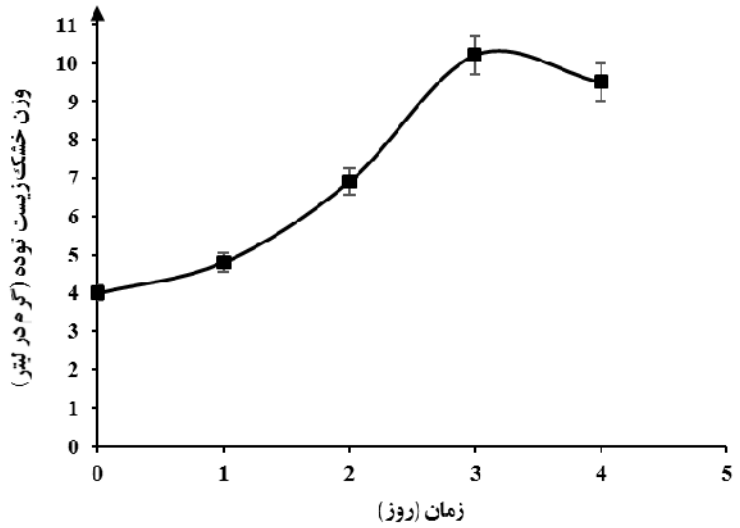
اندازه‌گیری وزن خشک زیست توده: برای اندازه‌گیری وزن خشک زیست توده‌ی تولیدی، یک میلی لیتر از محیط کشت به ویال از قبل وزن شده منتقل و به مدت پنج دقیقه با چرخش ۴۰۰۰ دور در دقیقه با دمای ۴ درجه‌ی سانتیگراد، سانتریفیوژ شد. رسوب به دست آمده با آب مقطر دو بار شستشو داده شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت در آون ۶۰ درجه‌ی سانتیگراد قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت ویال‌ها مجدداً وزن شدند و اختلاف وزن به دست آمده نشان‌دهنده‌ی مقدار زیست توده بر حسب گرم در لیتر بود (۸).

سنجش میزان تولید چربی میکروبی: روش اصلاح شده بلیق و دایر برای سنجش میزان چربی تولیدی به کار رفت (۲۳)، ابتدا مقدار ۵ میلی لیتر از محیط کشت در شرایط استریل به فالکون ۱۵ میلی لیتری منتقل شده و در سانتریفیوژ یخچال‌دار ۴۰۰۰ دور در دقیقه و با دمای چهار درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. هفت میلی لیتر از محلولی شامل اسید کلریدریک و آب (۶۰:۸۰) به رسوب حاصل اضافه و جوشانده شد و بعد از جوشیدن، بلافاصله ارلن درون آب یخ قرار گرفت و سپس ۳۰ میلی لیتر محلول مخلوط کلروفرم–متانول با نسبت ۳ :۲ اضافه و به مدت یک ساعت در انکوباتور شیکردار با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد قرار داده شد. بعد از گذشت یک ساعت دو فاز، فاز بالایی آبی و فاز زیرین آلی تشکیل شد که محلول زیرین جدا شده و در آون ۸۰ درجه‌ی سانتیگراد قرار داده شد تا خشک شده و به وزن ثابت برسد. سپس اختلاف وزن ارلن، قبل و بعد از خشک شدن محلول اندازه‌گیری شد که مقدار حاصل، میزان چربی تولیدی را نشان می‌دهد (۲۳).

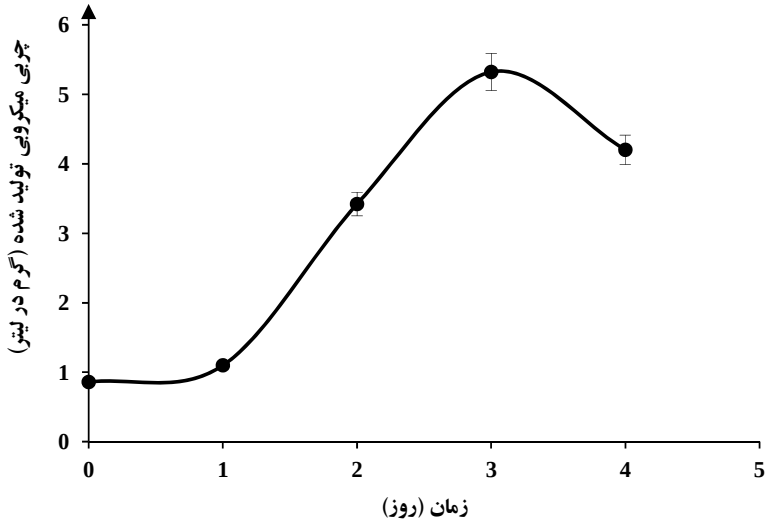
تعیین نیم‌رخ اسید چرب با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی: برای تعیین پروفایل اسیدهای چرب سازنده لیپید میکربی به دست آمده، روش کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا لیپید میکربی در بنزن و متانولیک کلرید هیدروژن پنج درصد حل شده و به مدت دو ساعت رفلاکس شد، سپس محلول کلرید سدیم پنج درصد به محلول اضافه گردید و متیل استرهای اسیدهای چرب با هگزان استخراج شد. لایه‌ی حاوی هگزان با محلول پتاسیم بی‌کربنات پنج درصد شسته شده و توسط سولفات سدیم بی‌آب، آبگیری آن انجام شد (۲۹). یک میکرولیتر از متیل استر اسید چرب تهیه شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی مدل 7890B ساخت شرکت Agilent آمریکا، با ستون (VF-5ms (Guard 30m × 0.25mm × 0.50 µm+10 m EZ- و دتکتور FID با برنامه‌ی دمایی ۱۳۰ تا ۱۸۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۳ ºC/min تزریق شد. طیف‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار و کتابخانه Wiley Registry® 10th Edition/NIST 2014 Mass Spectral و استانداردهای لازم برای اسیدهای چرب مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از وزن خشک کشت مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* سویه‌ی CBS6303 در محیط حاوی روغن زیتون در شکل ۱ نشان داده شده است که بیشترین مقدار وزن خشک در روز سوم و برابر ۱۰/۲ گرم در لیتر بود. نتایج تولید لیپید میکربی در محیط‌های حاوی روغن زیتون در شکل ۲ نشان داده شده است، بر اساس داده‌های به‌دست آمده مشاهده می‌شود که بیشترین مقدار تولید چربی میکربی در محیط حاوی روغن زیتون در روز سوم و برابر با ۵/۳۲ گرم در لیتر بود.



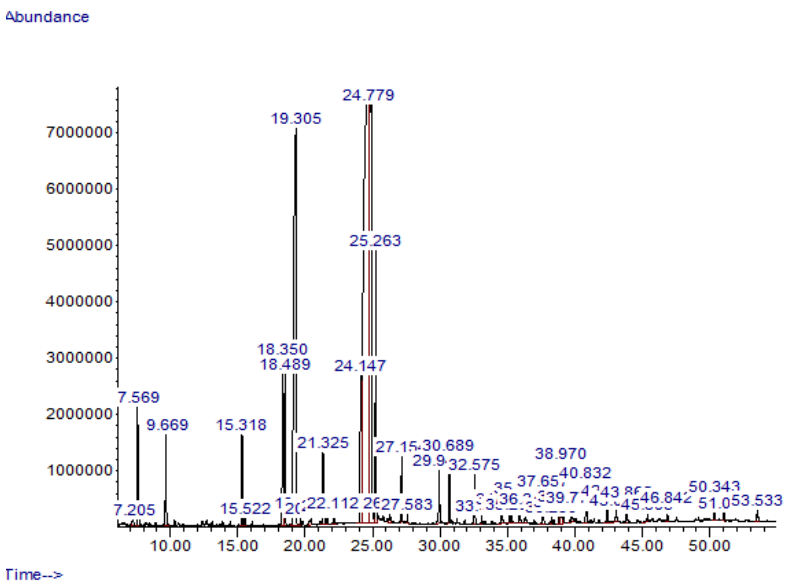
شکل ۱- نمودار وزن خشک زیست توده مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* سویه CBS6303 در محیط تولید حاوی روغن زیتون طی چهار روز. تمام داده‌ها میانگین مقادیر ± انحراف استاندارد برای سه تکرار مستقل است.



شکل ۲- نمودار چربی میکربی تولید شده توسط مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* سویه CBS6303 در محیط تولید حاوی روغن زیتون طی چهار روز. تمام داده‌ها میانگین مقادیر ± انحراف استاندارد برای سه تکرار مستقل است.

بعد از به دست آوردن میزان تولید و نقطه اوج تولید چربی میکربی در مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* در حضور روغن زیتون به عنوان منبع کربن، چربی تولید شده جهت بررسی اسیدهای چرب موجود متیله شد و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی بررسی شدکه در شکل ۳ کروماتوگرام و نتایج تجزیه و تحلیل آن در جدول ۱ نشان داده شده است.

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از گاز کروماتوگرافی نشان دهنده تولید اسیدهای چرب امگا ۶ و ۹ همراه با دیگر اسیدهای چرب توسط مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* در محیط تولید حاوی روغن زیتون است.

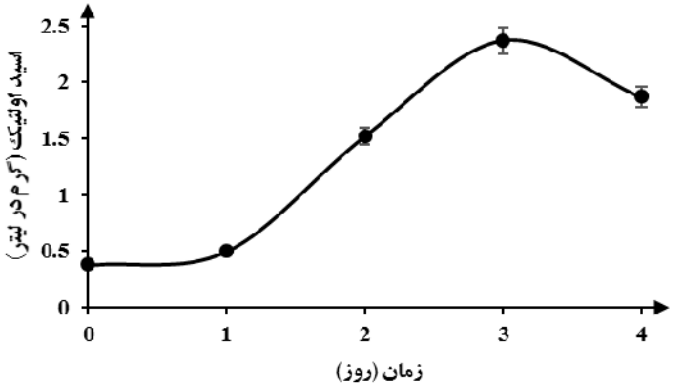


شکل ۳- کروماتوگرام اسیدهای چرب تولید شده در محیط کشت حاوی روغن زیتون

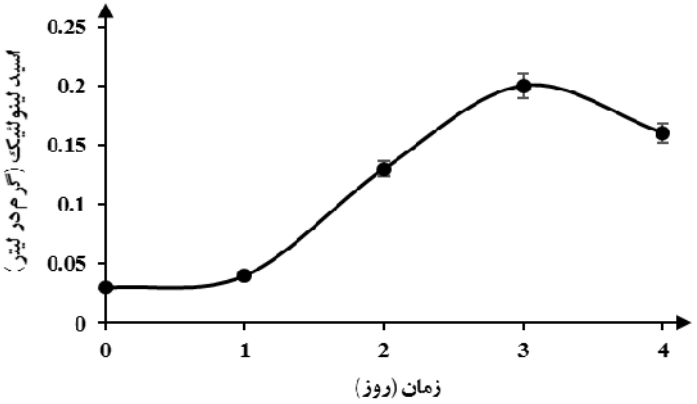
جدول ۱- نیمرخ اسیدهای‌چرب مربوط به چربی میکربی تولید شده توسط مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* سویه CBS6303 در محیط حاوی روغن زیتون

شماره	نام علمی اسید چرب	نام عمومی اسید چرب	تعداد کربن	درصد
۱	Dodecanoic acid	اسید لوریک	۱۲:۰	۰/۰۲
۲	Tetradecanoic acid	اسید میریستیک	۱۴:۰	۰/۰۹
۳	Pentadecanoic acid	اسید پنتادکانوئیک	۱۵:۰	۰/۰۹
۴	9-Hexadecanoic acid	اسید پالمیتولئیک (امگا ۷)	۱۶:۱	۵/۷
۵	Hexadecanoic acid	اسید پالمیتیک	۱۶:۰	۱۷/۸۴
۶	Heptadacanoic acid	اسید مارگاریک	۱۷:۰	۰/۳۲
۷	9,12-Octadecadienoic acid	اسید لینولئیک (امگا ۶)	۱۸:۲	۳/۸۳
۸	9-Octadecenoic acid ethyl ester	اسید اولئیک اتیل استر	۱۸:۱	۰/۲۸
۹	9-Octadecenoic acid	اسید اولئیک (امگا ۹)	۱۸:۱	۴۴/۶۳
۱۰	8-Octadecenoic acid	۸-اسید اوکتادکنوئیک	۱۸:۱	۱۷/۷
۱۱	Octadecanoic acid	اسید استئاریک	۱۸:۰	۵/۰۸
۱۲	Nonadecanoic acid	اسید نونادسیلیک	۱۹:۰	۰/۰۶
۱۳	11-Eicosenoic acid	اسید گوندوئیک (امگا ۹)	۲۰:۱	۰/۹۶
۱۴	Eicosanoic acid	اسید آراشیدیک	۲۰:۰	۱/۰۴
۱۵	Heneicosanoic acid	اسید هن ایکوزانوئیک	۲۱:۰	۰/۰۷
۱۶	Docosanoic acid	اسید بهنیک	۲۲:۰	۰/۵
۱۷	Tricosanoic acid	اسید تریکوسیلیک	۲۳:۰	۰/۰۹
۱۸	Tetracosanoic acid	اسید لیگنوسریک	۲۴:۰	۰/۷۱
۱۹	Nonahexacontanoic acid	اسید نوناهگزاکونتانوئیک	۶۹:۰	۰/۱
	درصد کل اسیدهای چرب اشباع			۲۶/۹ درصد
	درصد کل اسیدهای چرب غیر اشباع			۷۳/۱ درصد
	درصد کل اسیدهای چرب امگا			۴۹/۴۲ درصد
	مقدار کل اسیدهای چرب امگا بر حسب گرم در لیتر چربی میکربی تولید شده			۲/۶۲ گرم در لیتر

تقریبا نیمی از اسیدهای چرب تولید شده با میزان ۴۹/۴۲ درصد از نوع امگا بود و با در نظر گرفتن مقدار کل چربی میکربی تولید شده، حدود ۲/۶۲ گرم در لیتر اسید چرب امگا تولید شده است که بیشترین آن، اسید اولئیک (Oleic acid) با مقدار ۲/۳۷ گرم در لیتر می‌باشد. میزان اسیدهای چرب امگای تولید شده طی چهار روز در شکلهای ۴ تا ۶ نشان داده شده است.



شکل ۴- نمودار میزان تولید اسید اولئیک (oleic icid) توسط مخمر *یاررویا لیپولیتیکا سویه* CBS6303 در محیط تولید حاوی روغن زیتون طی چهار روز. تمام داده‌ها میانگین مقادیر ± انحراف استاندارد برای سه تکرار مستقل است.

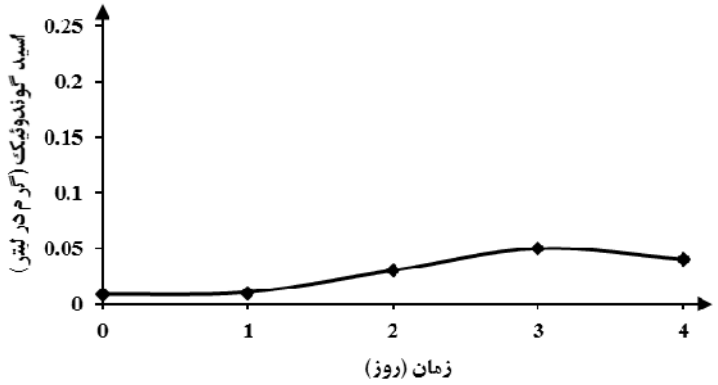


شکل ۵- نمودار میزان تولید اسید لینولئیک (linoleic acid) توسط مخمر *یاررویا لیپولیتیکا سویه* CBS6303 در محیط تولید حاوی روغن زیتون طی چهار روز. تمام داده‌ها میانگین مقادیر ± انحراف استاندارد برای سه تکرار مستقل است.

همانطور که در شکلهای ۱ و ۲نشان داده شده است در روز سوم بعد از تلقیح بیشترین وزن خشک زیست توده مخمر و تولید چربی میکربی به‌دست آمد که مقدار کل چربی تولید شده برابر با ۵/۳۲ گرم در لیتر بود و وزن خشک زیست توده حاصل در همان روز برابر با ۱۰/۲ گرم برآورد شد. بازده تولید یا محتوی چربی میکربی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۲۶، ۱۳):

محتوی چربی = (وزن چربی میکربی/ وزن خشک) ×۱۰۰

بیشترین بازده تولید چربی میکربی در محیط حاوی روغن زیتون در روز سوم و برابر با ۵۲/۱۵ درصد برآورد شد که ۲/۴ برابر روز اول بود (جدول ۲). داده‌ها نشان دهنده توانایی بالای مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* برای تولید چربی میکربی در محیط حاوی روغن زیتون است.



شکل ۶- نمودار میزان تولید اسید گوندوئیک (gondoic acid n-9) توسط مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* سویه CBS6303 در محیط تولید حاوی روغن زیتون طی چهار روز. تمام داده‌ها میانگین مقادیر ± انحراف استاندارد برای سه تکرار مستقل است.

جدول ۲- بازده تولید چربی میکروبی مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* سویه CBS6303 طی چهار روز در محیط حاوی روغن زیتون (بر حسب درصد)

روز اول	روز دوم	روز سوم	روز چهارم
۲۲/۹۱	۴۹/۵۶	۵۲/۱۵	۴۴/۲۱

بحث

مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* سویه CBS6303 توانست چربی میکربی را در حضور روغن زیتون به عنوان منبع کربن تولید کند که بالاترین میزان آن ۵/۳۲ گرم در لیتر و محتوی چربی تولید شده ۵۲/۱۵ درصد در روز سوم پس از تلقیح بود. کاتره و همکارانش توانایی سویه‌های مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* را برای تولید چربی میکربی مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها پنج سویه از این مخمر را مطالعه نمودند که هر پنج سویه دارای توانایی تولید چربی میکربی به میزان بیشتر از ۲۰ درصد وزن خشک بودند (۱۹). راکیکا و همکارانش با مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* سویه JMY4086 تحت شرایط مختلف و استفاده از ملاس و گلیسرول خام به عنوان محصولات جانبی صنایع چربی میکربی تولید نمودند که بیشترین مقدار آن تا ۳۱ درصد وزن خشک بود (۲۸). اسیدهای چرب بر اساس داشتن یا نداشتن پیوند دوگانه به اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع تقسیم بندی می‌شوند (۳۰).

اسیدهای چرب اشباع به دلیل پایداری در تولید سوخت-های زیستی کاربرد دارند (۱۹). همانطور که جدول ۱ نشان می‌دهد میزان کل اسیدهای چرب اشباع تولید شده در محیط حاوی روغن زیتون توسط مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* سویه CBS6303 حدود ۲۶/۹ درصد بود که اسید چرب اشباع اسید پالمیتیک دارای بیشترین مقدار (۱۷/۸۴ درصد) است.

اسیدهای چرب غیراشباع به دلیل نقشی که در ساختار و عملکرد غشاهای سلولی دارند می‌توانند در درمان چاقی، بیماری قلبی عروقی و دیابت نوع دو به کار روند (۱۵، ۹). درصد کل اسیدهای چرب غیر اشباع تولید شده توسط این مخمر در محیط کشت حاوی روغن زیتون ۷۳/۱ درصد بود که اسید لینولئیک، اسید گوندوئیک و اسید اولئیک به عنوان اسیدهای چرب امگا شش و نه تولید شدند.

اسید اولئیک با ۴۴/۶۳ درصد دارای بیشترین میزان تولید بود که جزء اسیدهای چرب امگا نه است. این اسید چرب در بیماری‌های سرطان و بیماری‌های قلبی- عروقی، خودایمنی، پارکینسون، آلزایمر، بیماری‌های التهابی و فشار خون بالا نقش دارد. مشتقات آن با داشتن نقش تنظیمی بر روی غشای سلولی، به عنوان داروی ضد سرطان که باعث القای آپوپتوزو تفرق سلولی می‌شود مورد استفاده قرار می-گیرد (۳۰، ۱۵، ۱۴، ۹). در بیماری سپسیس یا عفونت حاد

خونی که منجر به از دست رفتن عملکرد بسیاری از اندام‌ها می‌شود، تغییراتی در متابولیسم چربی و کاهش اکسایش اسیدهای چرب رخ می‌دهد که نتیجه آن افزایش اسیدهای چرب پلاسما و افزایش لیپولیز بافتی از جمله در کبد، کلیه‌ها و ماهیچه‌های اسکلتی می‌شود. گونچالوس و همکارانش در سال ۲۰۱۶ با انجام آزمایشاتی بر روی رت-ها نشان دادند که اسید اولئیک می‌تواند باعث القای اکسیداسیون اسید چرب و در نتیجه کاهش از بین رفتن عملکرد اندام‌ها و نرخ مرگ و میر حاصل از عفونت خونی شود (۱۵).

به میزان ۳/۸۳ درصد اسید لینولئیک توسط مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* سویه CBS6303 در محیط حاوی روغن زیتون تولید شد. اسید لینولئیک از فراوان‌ترین اسیدهای چرب غیر اشباع در رژیم غذایی انسان است که جز اسیدهای چرب امگا شش می‌باشد و نقش فعال در رشد و سلامت عمومی بدن انسان دارد (۹).

اسیدهای چرب دارای فعالیت‌های ضد قارچی و ضدباکتریایی بر علیه بسیاری از میکروارگانیسم‌ها هستند که طیف فعالیت آن‌ها بر اساس درجه اشباع، طول زنجیره کربنی و جهت‌یابی پیوند دوگانه متغیر است (۲۱). این مخمر همچنین توانست اسید چرب غیر اشباع اسید پالمیتولئیک را به میزان ۵/۷ درصد و اسید چرب اشباع اسید چرب اسید لوریک به میزان ۰/۰۲ درصد را در محیط حاوی روغن زیتون تولید کند که دارای خاصیت ضد قارچی و ضد باکتریایی هستند. تروآکی و همکارانش با انجام آزمایشاتی نشان دادند که اسید لوریک دارای خواص ضد میکروبی علیه باکتری *پروپیونی باکتریوم آکنس* عامل بیماری آکنه است (۲۲).

نتایج این تحقیق نشان دادکه اسیدهای چرب متنوع با کاربردهای مختلف دارویی و تغذیه‌ای و نیز اسیدهای چرب با کاربرد در تولید سوخت زیستی توسط مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* سویه CBS6303 در محیط حاوی روغن زیتون تولید می‌شوند. بر اساس نیاز و کاربرد می‌توان با روش‌های بهینه سازی محیط کشت و شرایط تخمیر و همچنین با روش‌های پیشرفته مهندسی متابولیت مسیرهای متابولیکی این مخمر را تغییر داد تا بتوان محصول مورد نظر را با مقادیر بیشتر تولید نمود.

سپاسگزاری

از ستاد توسعه زیست فناوری – معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری و معاونت پژوهشی دانشگاه مراغه به خاطر حمایت‌های مادی و معنوی سپاسگزاریم.

منابع

1. Ageitos, J.M., Vallejo, J.A., Veiga-Crespo, P., and Villa, T.G. 2011. Oily yeasts as oleaginous cell factories. Appl. Microbiol. Biotechnol. 90: 1219–1227.

2. B. Engler, M. 1992. Effects of omega-3, omega-6 and omega-9 fatty acids on vascular smooth muscle tone. Eur. J. Pharmacol. 215: 325-328 .

3. Bankar, A.V., Kumar, A.R., and Zinjarde, S.S. 2009. Environmental and industrial applications of *Yarrowia lipolytica*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 84: 847–865 .

4. Beare-Rogers, J., Dieffenbacher, A., and Holm, J.V. 2001. Lexicon of lipid nutrition. Pure. Appl. Chem. 73: 685-744 .

5. Bellou, S., Triantaphyllidou, I.E., Aggeli, D., Elazzazy, A.M., Baeshen, M.N., and Aggelis, G. 2016. Microbial oils as food additives: recent approaches for improving microbial oil production and its polyunsaturated fatty acid content. Curr. Opin. Biotech. 37: 24-35.

6. Beopoulos, A., Nicaud, J.M., and Gaillardin, C. 2011. An overview of lipid metabolism in yeasts and its impact on biotechnological processes. Appl. Microbiol. Biotechnol. 90: 1193–1206.

7. Boswell, K., Koskelo, E.K., Carl, L., Glaza, S., Hensen, D.J., Williams, K.D., and Kyle, D.J. 1996. Preclinical evaluation of single-cell oils that are highly enriched with arachidonic acid

and docosahexaenoic acid. Food. Chem. Toxicol. 34: 585-593.

8. Chi, Z., Pyle, D., Wen, Z., Frear, C., and Chen, S. 2007. A laboratory study of producing docosahexaenoic acid from biodiesel-waste glycerol by microalgal fermentation. Process. Biochem. 42: 1537-1545.

9. Choque, B., Catherine, D., Rioux, V., and Legrand, P. 2014. Linoleic acid: Between doubts and certainties. Biochimie. 96: 14-21.

10. Darvishi, F., Hosseini B., Fathirezaei P. 2015. Optimization of *Yarrowia lipolytica* lipase production by Taguchi experiment design method. J. Mol. Cell. Res. (Iranian J. Biol.). 28 (3): 336-343.

11. Darvishi Harzevili, F. 2014. Biotechnological Applications of the Yeast *Yarrowia lipolytica*. Springer.

12. El Bialy, H., Gomaa, O.M., and Azab, K.S. 2011. Conversion of oil waste to valuable fatty acids using oleaginous yeast. World. J. Microb. Biotechnol. 27: 2791–2798.

13. Enshaeieh, M., Abdoli, A., Nahvi, I., and Madani, M. 2012. Selection and optimization of single cell oil production from *Rodotorula* 110 using environmental waste as substrate. J. Cell. Mol. Res. 4: 68-75.

14. Funari, S.S., Barceló, F., and Escribá, P.V. 2003. Effects of oleic acid and its congeners, elaidic and stearic acids, on the structural properties of phosphatidylethanolamine membranes. J. Lipid. Res. 44: 567-575.

15. Gonçalves, F.A.G., Colen, G., and Takahashi, J.A. 2014. *Yarrowia lipolytica* and its multiple applications in the biotechnological industry. The Scientific World. J. 1-14 .

16. Gonçalves-de-Albuquerque, C.F., Medeiros-de-Moraes, I.M., Oliveira, F.M.d.J., Burth, P., Bozza, P.T., Castro Faria, M., Caire de Castro-Faria-Neto, H. 2016. Omega-9 oleic acid induces fatty acid oxidation and decreases organ dysfunction and mortality in experimental sepsis. PLoS ONE. 11: 1-18 .

17. Huang, C., Chen, X.f., Xiong, L., Chen, X.d., Ma, L.l., and Chen, Y. 2013. Single cell oil production from low-cost substrates: The possibility and potential of its industrialization. Biotechnol. Adv. 31: 129-139.

18. Johnson, M., Bradford, C. 2014. Omega-3, Omega-6 and Omega-9 fatty acids: implications for cardiovascular and other diseases. J. Glycomics Lipidomics. 4: 1-8.

19. Katre, G., Joshi, C., Khot, M., Zinjarde, S., and Ravi Kumar, A. 2012. Evaluation of single cell oil (SCO) from a tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589 as a potential feedstock for biodiesel. Appl. Microbiol. Biotechnol. 1-14 .

20. Malaiwong, N., Yongmanitchai, W., and Chonudomkul, D. 2016. Optimization of arachidonic acid production from *Mortierella alpina* PRAO7-10 by response surface methodology. Agriculture and Natural Resources. 50: 162-172.

21. Mattanna, P., Da Rosa, P.D., Poli, J., Richards, N.S.P.S., Daboit, T.C., Scroferneker, M.L., Valente, P. 2014. Lipid profile and antimicrobial activity of microbial oils from 16 oleaginous yeasts isolated from artisanal cheese. Rev. Bras. Bioci. 12: 121-126 .

22. Nakatsuji, T., Kao, M.C., Fang, J.I.Y., Zouboulis, C.C., Zhang, L.f., Gallo, R.L., and Huang, C.M. 2009. Antimicrobial property of lauric acid against *Propionibacterium Acnes*: Its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. J. Invest. Dermatol. 129: 2480-2488.

23. Nambou, K., Zhao, C., Wei, L., Chen, J., Imanaka, T., and Hua, Q. 2014. Designing of a "cheap to run" fermentation platform for an enhanced production of single cell oil from *Yarrowia lipolytica* DSM3286 as a potential feedstock for biodiesel. Bioresour. Technol. 173: 324-333.

24. Darvishi, F., Nahvi, I., Zarkesh Esfahani, H. 2011. Lipase production by *Yarrowia lipolytica* from different carbon sources. J. Mol. Cell. Res. (Iranian J. Biol.). 24 (2): 169-175.

25. Pan, L.X., Yang, D.F., Shao, L., Li, W., Chen, G.G., and Liang, Z.Q. 2009. Isolation of the oleaginous yeasts from the soil and studies of their lipid-producing capacities. Food. Technol. Biotechnol. 47: 215-220.

26. Papanikolaou, S., Komaitis, M., and Aggelis, G. 2004. Single cell oil (SCO) production by *Mortierella isabellina* grown on high-sugar content media. Bioresour. Technol. 95: 287-291.

27. Poli, J.S., da Silva, M.A.N., Siqueira, E.P., Pasa, V.M.D., Rosa, C.A., and Valente, P. 2014. Microbial lipid produced by *Yarrowia lipolytica* QU21 using industrial waste: A potential feedstock for biodiesel production. Bioresour. Technol. 161: 320-326.

28. Rakicka, M., Lazar, Z., Dulermo, T., Fickers, P., and Nicaud, J.M. 2015. Lipid production by the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* using

industrial by-products under different culture conditions. Biotechnol. Biofuels. 8: 1-10.

29. Ranga Rao, A., Dayananda, C., Sarada, R., Shamala, T.R., and Ravishankar, G.A. 2007. Effect of salinity on growth of green alga *Botryococcus braunii* and its constituents. Bioresour. Technol. 98: 560-564.

30. Sales-Campos, H., de Souza, P.R., Peghini, B.C., da Silva, J.S., and Cardoso, C.R. 2013. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. Mini Rev Med Chem. 13: 201-210 .

31. Tchakouteu, S.S., Kalantzi, O., Gardeli, C., Koutinas, A.A., Aggelis, G., and Papanikolaou, S. 2015. Lipid production by yeasts growing on biodiesel-derived crude glycerol: Strain selection and impact of substrate concentration on the fermentation efficiency. J. Appl. Microbiol. 118: 911-927.

32. Tsigie, Y.A., Wang, C.Y., Truong, C.T., and Ju, Y.H. 2011. Lipid production from *Yarrowia lipolytica* Po1g grown in sugarcane bagasse hydrolysate. Bioresour. Technol. 102: 9216-9222.

The effect of olive oil on the production of omega fatty acids in *Yarrowia lipolytica*

Darvishi F. and Salmani N.

Faculty of Science, University of Maragheh, Maragheh, I.R. of Iran

Abstract

Oleaginous microorganisms produce lipid more than 20% of their dry weight. Omega fatty acids, as essential fatty acids for human nutrition, produce by these microorganisms. Investigating the effect of olive oil on omega fatty acids production by *Yarrowia lipolytica* was the aim of this study. The yeast was cultured in a medium containing olive oil and then was sampled during four days for cell counting and microbial lipid extraction. Maximum lipid and dry weight were obtained 5.32 and 10.2 g/L after three days, respectively. Fatty acid profile analysis showed that both of saturated and unsaturated fatty acids are in the resulting microbial lipid. About 2.62 g/L of omega fatty acids were produced that amount of oleic acid, linoleic acid and gondoic acid were 2.37, 0.2 and 0.05 g/L, respectively. Results showed that omega-6 fatty acid (linoleic acid) and omega-9 fatty acids (oleic and gondoic acids) produced by *Y. lipolytica* in medium containing olive oil can be used in pharmaceutical and nutraceutical products.

Key words: Oleaginous Microorganism, Microbial lipid, Fatty acid profile, Saturated fatty acid, Unsaturated fatty acid.