



زیست فناوری میکروبی و مهندسی زیستی



02157416262
02157416806



<https://mbbe.irost.ir>



mbbe@irost.ir

مروری بر استخراج روغن تک یاخته از سویه میکروبی *Candida Utilis*

عاطفه فرجامنش^{۱*}

^۱ کارشناسی ارشد، مهندسی شیمی-بیوتکنولوژی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله مروری تاریخچه مقاله: دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۲۷ ویرایش: ۱۴۰۵/۰۳/۱۰ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۱۷ کلیدواژه‌ها: بیوتکنولوژی، تولید میکروبی اسیدهای آلی، پسماندهای کشاورزی، روغن تک یاخته، کاندیدا/ یوتیلیس	اسیدهای چرب ضروری، به عنوان یکی از اجزای حیاتی رژیم غذایی، نقش مهمی در عملکرد بدن ایفا می‌کنند. از آنجا که بدن انسان قادر به سنتز این اسیدهای چرب غیراشباع (دارای چندین پیوند دوگانه) نیست، دریافت آن‌ها از طریق منابع غذایی ضروری است. اهمیت تغذیه‌ای روغن‌های تک یاخته تولیدشده توسط مخمرها، به دلیل غنای آن‌ها در اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره بلند است. این ویژگی منحصر به فرد، منجر به استفاده گسترده از میکروارگانیسم‌های لیپیدساز در صنایع تولید مکمل‌های غذایی و روغن‌های تک یاخته شده است. اخیراً، میکروارگانیسم‌های مولد روغن به عنوان منبعی پایدار و جایگزین برای تولید اسیدهای چرب غیراشباع مورد توجه ویژه قرار گرفته‌اند. ویژگی‌هایی نظیر نرخ رشد بالا و توانایی متابولیسم طیف وسیعی از منابع کربن، این میکروارگانیسم‌ها را به گزینه‌ای جذاب برای تولید صنعتی روغن‌های تک یاخته تبدیل کرده است. لیپیدهای سنتز شده توسط این موجودات، کاربردهای گسترده‌ای در صنایع غذایی و دارویی دارند. علاوه بر این، نوع منبع کربن نقش تعیین‌کننده‌ای در فرآیند تجمع لیپید ایفا می‌کند. در همین راستا، مطالعات متعددی در سطح جهانی و توسط محققان بر روی مخمرهای لیپیدساز، شرایط بهینه تولید و پارامترهای مؤثر بر میزان بیوسنتز لیپید انجام پذیرفته است تا بازده و کیفیت این محصولات بهینه‌سازی شود.

*Corresponding author E-mail: Ath.farjadmanesh@gmail.com

DOI: 10.22104/mbbe.2026.8264.1018

https://mbbe.irost.ir/article_1694.html



۱. مقدمه‌ای بر روغن‌های تک‌یاخته و مزایای تولید

میکروبی

علاوه بر کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌های میکروبی، روغن‌های تولیدشده توسط میکروارگانیسم‌ها نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. به این نوع روغن‌ها اصطلاحاً روغن تک‌یاخته (SCO) اطلاق می‌شود [۱]. ویژگی بارز این روغن‌ها، غلظت بالای اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره بلند است. در دهه‌های اخیر، تمرکز اصلی پژوهشگران صنایع غذایی بر توسعه روش‌های نوین برای فرآیند تولید، تصفیه و خالص‌سازی چربی‌ها بوده است تا محصولی با ویژگی‌های صنعتی مطلوب‌تر، طعم و رنگ طبیعی‌تر و خلوص بالاتر به دست آید [۱]. در سال‌های اخیر، تولید لیپیدهای میکروبی (روغن‌های تک‌یاخته) و کاربرد آن‌ها به‌عنوان منبع بالقوه برای تولید بیودیزل، توجه گسترده‌ای را به خود جلب کرده است. ترکیب اسیدهای چرب و میزان لیپید در SCO تحت تأثیر مستقیم عوامل محیطی نظیر نوع منبع کربن، pH، دما و گونه میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مطالعات نشان داده‌اند که ظرفیت انرژی ذخیره‌شده در توده سلولی خشک مخمر، مستقیماً به محتوای لیپید آن وابسته است؛ به‌طوری‌که حدود ۷۳ درصد از انرژی توده خشک، مربوط به ۶۴ درصد محتوای لیپید می‌باشد. از آنجا که ظرفیت تجمع لیپید در مخمرهای مختلف متفاوت است، همه گونه‌ها پتانسیل مناسبی برای استفاده به‌عنوان ماده اولیه در تولید بیودیزل ندارند [۲].

انتخاب میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان تولیدکنندگان اسیدهای چرب ضروری، به جای منابع مرسوم، دلایل متعددی دارد که برخی از مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از: ۱. تولید ذاتی اسیدهای چرب مفید و سالم در روغن میکروبی ۲. امکان کنترل و تغییر درصد اسیدهای چرب خاص از طریق تعدیل شرایط کشت و محیط ۳. قابلیت دستکاری ژنتیکی آسان‌تر نسبت به گیاهان ۴. نیاز کمتر به فضای فیزیکی و زمین کشاورزی ۵. عدم تولید ترکیبات سمی ناخواسته که گاهی در گیاهان همراه روغن مشاهده می‌شود ۶. تولید مقادیر مناسب آنتی‌اکسیدان‌ها به‌طور طبیعی ۷. دوره تولید بسیار کوتاه‌تر نسبت به گیاهان و حیوانات ۸. شفافیت الگوی بیوسنتز روغن که محیطی ایده‌آل برای تحقیقات بیوشیمیایی و شناسایی آنزیم‌های دخیل در تولید اسیدهای چرب غیراشباع فراهم می‌کند ۹. عدم نیاز به سموم دفع آفات زیرا برخلاف گیاهان، میکروارگانیسم‌ها با آفات مواجه نیستند [۱].

ساختار و ویژگی‌های لیپیدها در سلول‌های

یوکاریوتی

سلول‌های یوکاریوتی^۱ [۲] توانایی تجمع لیپیدها را به‌صورت درون‌سلولی دارند. ساختار ریزلیپیدهای تشکیل‌شده در این سلول‌ها (شامل مخمرها و کپک‌ها) مشابه است و از یک هسته هیدروفوبیک^۲ [۳] مرکزی و یک لایه خارجی از فسفولیپید^۳ [۴] تشکیل شده‌اند. همسانی ساختاری لیپیدهای ذخیره‌شده در میکروارگانیسم‌ها، آن‌ها را به گزینه‌ای ایده‌آل برای تولید بیودیزل و کاربردهای صنعتی دیگر تبدیل می‌کند. به‌طور کلی، مخمرهایی که قادر به جمع‌آوری بیش از ۲۰ درصد لیپید نسبت به وزن خشک زیست‌توده خود هستند، به‌عنوان «مخمرهای روغنی» طبقه‌بندی می‌شوند.

مزایای رقابتی مخمرها در تولید چربی

مخمرها نسبت به سایر منابع زیستی مولد چربی، مزایای رقابتی قابل‌توجهی دارند. سرعت رشد بسیار بالای آن‌ها به‌طوری‌که زمان دو برابر شدن جمعیت معمولاً کمتر از یک ساعت است، یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های آن‌هاست. علاوه بر این، مخمرها تحت تأثیر تغییرات فصلی و شرایط آب‌وهوایی قرار ندارند و کشت آن‌ها در مقایسه با جلبک‌ها از سهولت بیشتری برخوردار است. با توجه به تنوع گسترده میکروارگانیسم‌ها^۴ [۵] و قابلیت تنظیم شرایط رشد، مخمرهای مولد چربی می‌توانند منابعی پایدار و کارآمد برای تولید تری‌گلیسریدها، سورفکتانت‌ها و سایر اسیدهای چرب غیراشباع باشند [۴].

اهمیت بیولوژیکی و تولید اسیدهای چرب

غیراشباع

اسیدهای چرب غیراشباع تأثیرات گسترده‌ای بر فیزیولوژی بدن انسان دارند و نقش حیاتی در حفظ سلامت ایفا می‌کنند [۵]. اگرچه شناخت علمی از تشکیل روغن‌های تک‌یاخته (SCO) بیش از یک قرن قدمت دارد اما پژوهش‌های متمرکز بر درک مکانیسم‌های بیوسنتز و تجمع لیپید در گونه‌های روغنی، عمدتاً در دو دهه اخیر شدت یافته‌اند. لازم به ذکر است که توانایی انباشت لیپید، معمولاً به صورت تری-آسیل‌گلیسرول^۵ [۱]، در تمامی میکروارگانیسم‌ها مشترک نیست. به عنوان مثال، مخمرهای غذایی مانند کاندیدا/

¹ Eukaryotic

² Hydrophobic

³ Phospholipid

⁴ Microorganisms

⁵ Triacylglycerol

۲- روغن‌های تک‌یاخته (SCO) و اهمیت آن‌ها در

تغذیه انسان

ترکیب اسیدهای چرب، تعیین‌کننده اصلی کیفیت و دامنه کاربردهای روغن‌ها و چربی‌هاست. در زمینه تغذیه، حضور اسیدهای چرب غیراشباع ضروری است و شواهد نشان می‌دهد که هرچه میزان این اسیدها در رژیم غذایی بیشتر باشد، اثرات مثبت آن بر سلامت انسان نیز گسترده‌تر خواهد بود. با توجه به رشد سریع جمعیت جهان، افزایش تقاضا برای روغن‌ها و چربی‌ها، و همچنین نوسانات شدید در بازارهای جهانی، شناسایی منابع جایگزین پایدار برای تأمین این نیازها از اولویت بالایی برخوردار است. در این راستا، میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان یکی از منابع نوین و امیدبخش، در سال‌های اخیر مورد توجه گسترده محققان قرار گرفته‌اند [۱۰].

اهمیت بیولوژیکی گاما-لینولینیک اسید (GLA)

در میان اسیدهای چرب ضروری، گاما-لینولینیک اسید (GLA) به دلیل خواص دارویی و سلامتی متعدد، مورد توجه ویژه قرار گرفته است. این اسید چرب دارای اثرات ضدالتهابی قوی است و در درمان بیماری‌هایی نظیر اگزما، دیابت، التهابات مزمن و کاهش کلسترول خون مؤثر می‌باشد. همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که GLA می‌تواند به حذف سلول‌های سرطانی کمک کند، بدون آنکه به سلول‌های سالم و طبیعی آسیب برساند [۱۱].

چالش‌های تولید گیاهی و جایگزینی با منابع

میکروبی

منابع گیاهی سنتی برای تولید GLA شامل روغن بذر، گل پامچال، گل‌گاوزبان، انگور فرنگی و شاه‌دانه هستند. با این حال، تولید این اسید از منابع گیاهی با محدودیت‌های جدی روبروست؛ از جمله نیاز به کشت‌های وسیع و طولانی‌مدت، محدودیت‌های فصلی رشد گیاهان و بازده پایین تولید روغن. به دلیل این محدودیت‌ها، روغن‌های تک‌یاخته (SCO) به‌عنوان منبعی جایگزین و استراتژیک برای تولید اسیدهای چرب ضروری مطرح شده‌اند. در حال حاضر، هزینه تولید روغن‌های تک‌یاخته به دلیل بازده متغیر سویه‌های میکروبی و هزینه‌های بالای سوبستراهای تخمیری، نسبتاً بالا است. با این حال، تحقیقات گسترده‌ای برای کاهش این هزینه‌ها در حال انجام است که شامل انتخاب سویه‌های مولد بهینه، استفاده از سوبستراهای ارزان‌قیمت و بهینه‌سازی شرایط فرآیند تخمیر (مانند تخمیر غوطه‌وری) می‌باشد [۱۱].

ایمنی و پایداری تولید میکروبی

روغن‌های میکروبی از نظر ایمنی کاملاً تأیید شده و فاقد

/وتیلیس^۱ [۲] حتی در شرایط رقابتی با سایر گونه‌ها، قادر به ذخیره ۵ تا ۱۰ درصد از وزن خشک خود به عنوان لیپید هستند [۶].

یکی از راهکارهای نوین و پایدار در این حوزه، استفاده از سوبستراهای ارزان‌قیمت و تجدیدپذیر نظیر پسماندهای کشاورزی، ضایعات صنعتی و فاضلاب‌ها به‌جای منابع سنتی است. این رویکرد نه‌تنها به کاهش آلودگی محیط‌زیست کمک می‌کند، بلکه به تولید ماده‌ای با ارزش افزوده بالا نیز منجر می‌شود [۷].

مقایسه منابع میکروبی و گیاهی و اهمیت

اسیدهای چرب ضروری

روغن‌های میکروبی از نظر ساختار شیمیایی شباهت زیادی به روغن‌های گیاهی دارند. گیاهان، جلبک‌ها، فیتوپلانکتون‌ها و برخی قارچ‌ها و مخمرها دارای آنزیم‌های دلتا-۱۲ و دلتا-۱۵ دسچوراز هستند که در سنتز اسید لینولئیک و گاما-لینولینیک نقش دارند. از آنجا که آنزیم‌های مذکور در بدن انسان و سایر پستانداران وجود ندارند، اسیدهای لینولئیک و آلفا-لینولینیک به‌عنوان «اسیدهای چرب ضروری» شناخته می‌شوند و باید حتماً از طریق رژیم غذایی تأمین گردند [۸].

در سال‌های اخیر، توجه تولیدکنندگان مواد غذایی و مکمل‌ها به سمت اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره بلند (PUFA) معطوف شده است. شواهد نشان می‌دهند که مکمل‌های حاوی PUFA هایی نظیر گاما-لینولینیک، آراشیدونیک، EPA و DHA می‌توانند علائم بسیاری از بیماری‌های مزمن را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهند. با این حال، منابع طبیعی این ترکیبات محدود هستند و روغن ماهی در حال حاضر منبع اصلی تأمین PUFA های خانواده n-3 محسوب می‌شود. بنابراین، توسعه روش‌های تولید جایگزین که از نظر اقتصادی مقرون‌به‌صرفه، در دسترس و سازگار با تکنیک‌های مهندسی ژنتیک باشند، از اولویت بالایی برخوردار است.

در اکثر ارگانوسم‌ها، محصولات اولیه بیوسنتز اسید چرب، اسیدهای چرب ۱۶ و ۱۸ کربنه هستند. اگرچه گیاهان و برخی قارچ‌ها قادر به سنتز این اسیدها هستند، اما میکروارگانوسم‌ها به دلیل قابلیت کنترل سریع‌تر شرایط کشت، گزینه‌ای جذاب برای تولید صنعتی این ترکیبات ارزشمند محسوب می‌شوند [۹].

¹ *Candida utilis*

دوگانه در موقعیت کربن شماره ۹ (N-9) آغاز می‌شود [۱۳].

۴- میکروارگانیسم‌های مولد چربی: تاریخچه و

مزایا

استفاده از میکروارگانیسم‌ها برای تولید روغن‌های صنعتی، نخستین بار در جریان جنگ جهانی اول و به دلیل قطع منابع روغنی توسط کشورهای متخاصم، مورد توجه قرار گرفت. با این حال، پس از پایان جنگ و کاهش قیمت منابع روغنی سنتی، تحقیقات و تولیدات در این حوزه متوقف شد [۱۰]. امروزه، تولید روغن از طریق میکروارگانیسم‌ها به دلیل مزایای متعدد، جایگاه ویژه‌ای یافته است. از جمله این مزایا می‌توان به چرخه زندگی کوتاه، روش‌های کشت ساده و مقرون به صرفه، عدم نیاز به زمین‌های کشاورزی (برخلاف گیاهان)، کاهش وابستگی به نیروی انسانی و شباهت ساختاری بالای پروفایل اسیدهای چرب آن‌ها با روغن‌های گیاهی اشاره کرد. علاوه بر این، این موجودات تحت تأثیر شرایط آب‌وهوایی و فصلی نیستند و امکان مقیاس‌پذیری صنعتی در آن‌ها به راحتی فراهم است [۱۲].

ویژگی‌های میکروارگانیسم‌های لیپیدساز

برخی از میکروارگانیسم‌ها توانایی منحصربه‌فردی در تولید و انباشت مقادیر بالای لیپید درون سلولی دارند. در میان گروه‌های مختلف میکروبی، مخمرها و قارچ‌ها توجه بیشتری را به خود جلب کرده‌اند. نکته حائز اهمیت این است که میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این صنعت، غیرپاتوژن و فاقد آلودگی‌های خطرناک هستند و ایمنی استفاده از محصولات آن‌ها، حتی در صنایع غذایی حساس مانند غذای نوزادان، تأیید شده است [۱۲].

در طبیعت، تعداد محدودی از میکروارگانیسم‌ها به عنوان «مولدهای چربی» شناخته می‌شوند، زیرا قادر به انباشت لیپید به میزان بیش از ۲۰ درصد از وزن خشک خود هستند. در مقایسه با باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها، مخمرها مزایای رقابتی بیشتری دارند [۱۴]. از میان حدود ۶۰۰ سویه مخمری شناسایی شده، تنها ۳۰ گونه توانایی ذخیره بیش از ۲۰ درصد لیپید در زیست‌توده^۸ خود را دارند [۱۰].

برتری مخمرها و گونه‌های کلیدی

مخمرهای تک‌یاخته به دلیل نرخ رشد سریع و توانایی انباشت سریع لیپید در اندامک‌های لیپیدی، گزینه‌ای ایده‌آل محسوب می‌شوند. همچنین، این موجودات قابلیت استفاده از

هرگونه سمیت هستند. استخراج این روغن‌ها نیز فرآیندی استاندارد و بدون مشکل خاصی است. بررسی‌های انجام‌شده نشان داده‌اند که استفاده از SCO از نظر ایمنی هم‌تراز با روغن‌های گیاهی رایج نظیر روغن آفتابگردان است. علاوه بر این، تولید این روغن‌ها در مقیاس صنعتی امکان‌پذیر است، تحت تأثیر شرایط اقلیمی قرار نمی‌گیرند و تمام آزمون‌های سمیت‌شناسی را با موفقیت پشت سر گذاشته‌اند [۱۲].

۳- ماهیت و اهمیت بیولوژیکی اسیدهای چرب

اسیدهای چرب غیراشباع، به عنوان اجزای بنیادین غشاهای زیستی، نقشی حیاتی در تعیین ساختار و عملکرد غشای سلولی ایفا می‌کنند. این مولکول‌ها با تأثیرگذاری بر سیالیت لایه داخلی فسفولیپیدها، تنظیم‌کننده تحرک و فعالیت پروتئین‌های تعبیه‌شده در غشا هستند [۵]. علاوه بر این، اسیدهای چرب غیراشباع به عنوان پیش‌سازهای مهم برای سنتز مولکول‌های فعال زیستی متعددی از جمله ایکوزانوئیدها^۱ [۱] عمل می‌کنند. در بدن پستانداران، ایکوزانوئیدها شامل پروستاگلاندین‌ها^۲ [۲]، لوکوترین‌ها^۳ [۳] و ترمبوکسان‌ها^۴ [۴]، به عنوان واسطه‌های شیمیایی در فرآیندهای فیزیولوژیکی متعددی نظیر تنظیم تب، پاسخ‌های التهابی، انقباض عروق خونی، کنترل فشار خون، فرآیند لخته‌شدن خون، حس درد، انتقال سیگنال‌های عصبی و تنظیم متابولیسم کلسترول نقش دارند. از این رو، اسیدهای چرب غیراشباع، به‌ویژه اسیدهای چرب چندغیراشباع^۵ (PUFA) [۵]، برای رشد طبیعی، عملکرد صحیح بدن و حفظ سلامت انسان ضروری هستند. به عنوان مثال، اسید آراشیدونیک و اسید دوزوهگزانوئیک (DHA) از جمله اسیدهای چرب ضروری در بافت مغز محسوب می‌شوند. این اسیدها به دلیل مشارکت مستقیم در رشد و عملکرد سیستم عصبی و شبکه چشم، از مواد مغذی کلیدی در رژیم غذایی نوزادان به شمار می‌روند [۹].

ترکیب اسیدهای چرب، از جمله طول زنجیره کربنی و درجه غیراشباعی آن‌ها، در میان گونه‌های مختلف زیستی تفاوت‌های گسترده‌ای دارد. در یوکاریوت‌ها، فرآیند غیراشباع‌سازی اسیدهای چرب اشباع شده‌ای نظیر پالمیتیک^۶ (C16:0) و استئاریک^۷ (C18:0) اسید، معمولاً با ایجاد یک پیوند

¹ Eicosanoids

² Prostaglandins

³ Leukotrienes

⁴ Thromboxanes

⁵ Polyunsaturated fatty acids

⁶ Palmitic

⁷ Stearic

⁸ Biomass

داشته و به دلیل چرخه زندگی کوتاه، قابلیت مقیاس پذیری و توانایی استفاده از منابع کربنی متنوع، گزینه‌ای ایده‌آل برای تولید روغن میکروبی محسوب می‌شوند [۱۷].

۴-۴- مخمرها

یکی از چالش‌های اصلی در بیوتکنولوژی، تبدیل مواد لیپیدی ارزان قیمت و فراوان به محصولات با ارزش افزوده است. مخمرهای مولد چربی پتانسیل بالایی برای تبدیل ترکیبات لیپیدی به استرهای مختلف، ترکیبات ایزوپرنوئید^۴ [۱]، کاروتنوئید^۵ [۲]، پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها و اسیدهای چرب هیدروکسیله آزاد دارند. یکی از راهکارهای بهبود ژنتیکی این مخمرها، افزایش نرخ جهش از طریق استفاده از عوامل موتاژن نظیر اشعه UV، اشعه‌های یونیزان یا سایر عوامل جهش‌زا است. چالش اصلی در این روش، توسعه تکنیک‌های غربالگری کارآمد برای شناسایی سویه‌های برتر در میان جهش‌یافته‌ها [۳] است. روش‌های متعددی برای غربالگری مخمرهای مولد چربی توسعه یافته است، از جمله اندازه‌گیری جذب نوری پس از رنگ‌آمیزی با سودان سیاه B، استفاده از روش رنگ‌سنجی مبتنی بر واکنش سولفو-فسفو-وانیلین و یا تکنیک رپلیکا پرنیتینگ^۶ [۴]. [۴]. با این حال، این روش‌ها نیازمند بررسی تعداد بسیار زیادی از جهش‌یافته‌ها برای شناسایی بهترین سویه هستند [۸]. جدول ۱ لیستی از مخمرها و قارچ‌هایی را نشان می‌دهد که توانایی انباشت لیپید را با استفاده از زایلوز و سایر مواد لیگنوسلولوزی دارند. بر اساس گزارش‌ها، کاندیدا/کورواتا یکی دیگر از مخمرهای روغنی مهم است که قادر است گلوکز، لاکتوز، زایلوز و اتانول را به‌طور مؤثری به لیپیدها و زیست‌توده تبدیل کند. مطالعات گسترده‌ای بر روی حداکثر تجمع لیپید این ارگانیزم در محیط‌های کشت ناپیوسته با محدودیت نیتروژن و استفاده از زایلوز به‌عنوان منبع کربن انجام شده است. در میان ۱۰ سویه مخمری آزموده‌شده، تنها سویه کاندیدا/کورواتا D توانایی مصرف همزمان گلوکز و زایلوز را داراست. این ویژگی، این مخمر روغنی را به گزینه‌ای مناسب برای رشد بر روی ضایعات هیدرولیز شده کاه و چوب تبدیل کرده و پتانسیل بالایی برای تولید SCO ایجاد می‌کند. ترکیبات اسید چرب کاندیدا/کورواتا D در کشت‌های ناپیوسته و پیوسته بررسی شده و حضور اسید پالمیتیک و اسید اولئیک در آن‌ها تأیید شده است. ترکیبات اسید چرب برخی از مخمرها و قارچ‌های رشد داده‌شده بر روی زایلوز یا مواد لیگنوسلولوزی در جدول ۲ ارائه شده‌اند [۸].

سوپستراهای ارزان قیمت نظیر پسماندهای غذایی، ضایعات کشاورزی و صنعتی به‌عنوان مواد اولیه را دارا هستند. برخی از سویه‌های مخمری مانند گونه‌های رودوسپوریدیوم^۱، رودوتورولا^۲ رودوتورولا^۳ و لیپومایسس^۳ قادرند مقادیر شگفت‌انگیزی از لیپید را، گاهی بیش از ۷۰ درصد از وزن خشک سلولی، درون خود ذخیره کنند. ترکیبات لیپیدی انباشته‌شده توسط این میکروارگانیزم‌ها، عمدتاً از جنس تری‌آسیل‌گلیسرول بوده و مقدار کمی استر لیپیدی نیز در آن‌ها مشاهده می‌شود [۱۵]. [۱۴].

۴-۱- باکتری‌ها

باکتری‌ها به عنوان ساده‌ترین و کوچک‌ترین سلول‌های میکروبی شناخته می‌شوند. اگرچه تنها گروه محدودی از باکتری‌ها تحت شرایط محیطی خاص قادر به انباشت روغن هستند، اما ترکیبات لیپیدی تولیدشده توسط آن‌ها معمولاً تفاوت‌های ساختاری قابل توجهی با سایر روغن‌های میکروبی دارد. علاوه بر این، باکتری‌ها در مقایسه با قارچ‌های کپکی، نرخ رشد کمتری از خود نشان می‌دهند [۱۶].

۴-۲- کپک‌ها

کپک‌ها در مقایسه با مخمرها، تنوع بیشتری در تولید انواع لیپیدها و اسیدهای چرب از خود نشان می‌دهند. تفاوت اصلی میان این دو گروه در این است که کپک‌ها مقادیر بیشتری اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره بلند (PUFA) تولید می‌کنند؛ از این رو، کپک‌ها به هدف اصلی بسیاری از تحقیقات تبدیل شده‌اند [۱۶].

۴-۳- جلبک‌ها

جلبک‌ها و میکروجلبک‌ها برای رشد به نور خورشید و دی‌اکسید کربن وابسته‌اند که این موضوع، کاربرد آن‌ها در تولید روغن‌های تک‌یاخته (SCO) را با محدودیت مواجه می‌سازد [۱۶]. اگرچه این موجودات دارای بازده فتوسنتزی بالا، تولید زیست‌توده زیاد و رشد سریع هستند و آن‌ها را به گزینه‌ای مناسب برای تولید سوخت زیستی تبدیل کرده‌اند، اما نیاز به مساحت وسیع کشت و زمان تخمیر طولانی‌تر نسبت به مخمرها، چالش‌هایی را ایجاد کرده است. علاوه بر این، روغن میکروجلبک‌ها به دلیل داشتن تعداد بیشتری پیوند دوگانه، مستعد اکسیداسیون بالاتر طی ذخیره‌سازی هستند که این امر پذیرش آن‌ها را برای تولید سوخت زیستی کاهش می‌دهد. در مقابل، روغن‌های مخمری پتانسیل تولید در مقیاس بالا را

⁴ Isoprenoids

⁵ Carotenoid

⁶ Replica- printing

¹ *Rhodospiridium*

² *Rhodotorula*

³ *Lipomyces*

جدول ۱: تبدیل زایلوز و دیگر مواد لیگنوسلولزی به SCO [۱۸]
Table 1: Conversion of Xylose and Other Lignocellulosic Materials to SCO [18]

محتوای لیپید (%)	بیومس سلولی (g/l)	شرایط محیط کشت	منبع کربن	میکروارگانیسم
۶۲/۱	۴/۵	ناپیوسته، ۶۰ ساعت	زایلوز	رودوتورولا گراسیلینز ^۱ NRRL-1091
۳۹/۰	۶/۰		سلولز	
۵۳/۹	۹/۰		کاه برنج	
۴۸/۶	۹/۹	ناپیوسته، ۶۰ ساعت	زایلوز	کاندیدا کورواتا ^۲ D
۳۷/۰	۱۵/۰	پیوسته، رقیق سازی نرخ $0.05h^{-1}$		
۳۰/۰	۸/۲	پیوسته، رقیق سازی نرخ $0.06h^{-1}$		
۳۳/۰	۳۳/۰	ناپیوسته	زایلوز	کریپتوکوکوس آلبیدوس
۱۵/۲	۱/۷	ناپیوسته، ۱۴۴ ساعت	زایلوز	آسپرگیلوس نایجر AS-101
۱۴/۹	۲/۰		آویسل ^۳	
۱۳/۶	۱/۹		تفاله نیشکر	

جدول ۲: ترکیبات اسید چرب SCO تولیدی توسط مخمرها و قارچها [۱۸]
Table 2: Fatty Acid Composition of SCO Produced by Yeasts and Fungi [18]

ترکیبات اسید چرب نسبی (%)					شرایط محیط کشت	منبع کربن	میکروارگانیسم
۱۸:۳	۱۸:۲	۱۸:۱	۱۸:۰۰	۱۶:۰۰			
–	۴	۴۳	۱۴	۴۱	ناپیوسته، ۹۶ ساعت	زایلوز	کاندیدا کورواتا ^۲ D
–	۴	۴۵	۱۵	۳۰	پیوسته، رقیق سازی نرخ $0.04h^{-1}$		
۴	۱۲	۴۵	۱۷	۲۲	پیوسته، رقیق سازی نرخ $0.06h^{-1}$		
–	۱۴	۵۵	۴	۲۲	ناپیوسته	زایلوز	کریپتوکوکوس آلبیدوس
۵	۴۹	۲۵	۶	۸	ناپیوسته، ۱۴۴ ساعت	زایلوز	آسپرگیلوس نایجر AS-101
۶	۵۲	۲۳	۶	۹		آویسل	
۵	۵۱	۲۶	۵	۱۰		تفاله نیشکر	

¹ *Rhodotorula gracilis*

² *Candida curvata*

³ Avicel

۱-۴-۴- مخمر کاندیدا/اوتیلیس

مخمر کاندیدا/اوتیلیس^۱ [5] یکی از مهم‌ترین مخمرهای مورد استفاده در صنایع غذایی و خوراک دام است. این سویه میکروبی نخستین بار توسط هنبرگ^۲ در سال ۱۹۲۶ معرفی شد، اما بهره‌برداری صنعتی از آن در دوران جنگ جهانی اول و زمانی که منابع پروتئینی متداول کمبود یافت، آغاز گردید. ویژگی بارز کاندیدا/اوتیلیس، توانایی منحصر به فرد آن در جذب پنتوزها، به‌ویژه زایلوز و آرابینوز^۳ [۲]، است. همچنین، قدرت تخمیری بالای این مخمر در هیدرولیز ضایعات خمیری چوبی، آن را به گزینه‌ای ایده‌آل برای فرآیندهای تخمیری تبدیل کرده است. علاوه بر پنتوزها، این مخمر طیف گسترده‌ای از منابع کربنی دیگر نظیر اسیدهای ارگانیک، الکلها، پروپیون‌آلدئید^۴ و استالدهید^۵ را متابولیزه می‌کند. کاندیدا/اوتیلیس همچنین قادر به استفاده از منابع متنوع نیتروژن شامل نیترات، نیتريت، اوره، هیدروکسید آمونیوم و اسیدهای آمینه است [۱۹]. از دیگر مزایای این مخمر، مقاومت بالای آن در برابر تغییرات pH و عدم تولید اتانول در کشت‌های هوادهی شده است که این ویژگی، رقابت با سایر گونه‌های مخمری را برای این سویه دشوار نمی‌سازد [۲۱]. به‌طور تجاری، کاندیدا/اوتیلیس بیش از ۶۰ سال است که به‌عنوان مکمل پروتئینی در خوراک دام استفاده می‌شود. این مخمر معمولاً در محیط‌های حاوی قند و مواد معدنی، اغلب با استفاده از ملاس^۶ [۶] و ضایعات سلولزی (مانند چوب صنوبر) کشت داده می‌شود [۲۱]. علاوه بر کاربردهای غذایی، کاندیدا/اوتیلیس پتانسیل بالایی در جذب اسیدهای چرب دارد و می‌تواند در فرآیندهای زیست‌تخریبی و بهبود دفع آلاینده‌های گیاهی نیز مورد استفاده قرار گیرد [۲۲].

۵- مکانیسم بیوسنتز و تجمع لیپید در

میکروارگانیسم‌ها

بیوسنتز و انباشت لیپید در میکروارگانیسم‌ها تحت تأثیر دو آنزیم کلیدی به نام‌های مالیک آنزیم^۷ و ATP-سیترات‌لیاز^۸ قرار دارد. به‌طور کلی، مالیک آنزیم به‌عنوان مهم‌ترین تنظیم‌کننده تجمع لیپید عمل می‌کند، زیرا نقش حیاتی در تولید NADPH (کوآنزیم کاهنده مورد نیاز برای سنتز اسیدهای

چرب) ایفا می‌نماید. سنتز اسیدهای چرب در مخمرها توسط یک هگزامر تشکیل شده از زیرواحدهای 3α و 3β انجام می‌شود [۲۴]. تشکیل ذرات لیپیدی معمولاً در اواخر مرحله رشد لگاریتمی آغاز شده و در مرحله سکون به اوج خود می‌رسد. مکانیسم اصلی این پدیده، محدودیت نیتروژن است. در شرایط کمبود نیتروژن، آنزیم‌های کلیدی چرخه سیتریک اسید^۹ و ایزوسیترات دهیدروژناز^{۱۰} [۱۰]، غیرفعال می‌شوند. این امر باعث توقف تولید انرژی از طریق تنفس و تغییر مسیر متابولیسم می‌گردد. در نتیجه، متابولیت‌های حاصل از تجزیه کربوهیدرات‌ها به سمت مسیر سنتز لیپید هدایت می‌شوند. رابطه مستقیمی میان فعالیت سیترات لیاز وابسته به ATP و توانایی تجمع لیپید در سلول‌های مخمری مشاهده شده است. همچنین، تغییر ایزوفرم‌های مالیک آنزیم از ایزوفرم^{۱۱} D به ایزوفرم^{۱۲} E در شرایط محدودیت نیتروژن، منجر به افزایش تولید NADPH^{۱۲} و تسهیل انباشت لیپید می‌شود [۱۷]. نمای کلی این فرآیندها در شکل ۱ نشان داده شده است. علاوه بر نیتروژن، محدودیت فسفات نیز می‌تواند به بهبود تجمع لیپید کمک کند. با این حال، pH محیط کشت تأثیر معکوسی دارد؛ تولید لیپید در pH های بسیار پایین (۴) و بسیار بالا (۸) به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. pH بهینه برای هر سویه مخمری و همچنین برای نوع منبع کربن مورد استفاده متفاوت است.

دما نیز پارامتری مؤثر است. مخمرهای روغنی را می‌توان به دو دسته تقسیم کرد: گروهی که در دمای پایین (۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد) بازده لیپید بالایی دارند و گروهی که در دمای بالاتر (۳۵ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد) قادر به تجمع لیپید هستند. زمان انکوباسیون و سرعت همزن (دور شیکر) نیز بر بازده نهایی تأثیر می‌گذارند.

با توجه به حساسیت بالای فرآیند به پارامترهای محیطی، بهینه‌سازی شرایط کشت یک گام اساسی در تولید صنعتی روغن‌های میکروبی محسوب می‌شود. بهینه‌سازی نه تنها منجر به افزایش غلظت و میزان تولید لیپید می‌شود، بلکه با کاهش هزینه‌های عملیاتی، توجیه اقتصادی فرآیند را نیز افزایش می‌دهد. عوامل کلیدی مؤثر بر هزینه تولید، شامل قیمت سوبسترا، راندمان تولید و غلظت نهایی محصول هستند [۳].

⁹ Citric acid

¹⁰ Isocitrate dehydrogenase

¹¹ Iso-form

¹² Nicotine amid adenine dinucleotide isocitrate dehydrogenase

¹ *Candida utilis*

² *Henneberg*

³ Arabinose

⁴ Propionaldehyde

⁵ Acetaldehyde

⁶ Molass

⁷ Malic enzyme

⁸ ATP-Citrate Lyase



Figure 1: Biosynthesis of Fatty Acids under SCO Production Conditions by Eukaryotic Microorganisms [5]

۱-۵- تأثیر منبع کربن بر تولید لیپید

منابع کربن نقش تعیین‌کننده‌ای در فرآیند تجمع لیپید ایفا می‌کنند. برای تولید روغن‌های تک‌یاخته (SCO)، از طیف وسیعی از کربوهیدرات‌ها که اغلب ضایعات یا محصولات جانبی صنایع کشاورزی و صنعتی هستند، استفاده می‌شود. این منابع شامل ساکارز^۱، [۱]، ملاس، محصولات نشاسته‌ای هیدرولیزشده (مانند گلوکز و دکسترین^۲، فروکتوز^۳، آب‌پنیر^۴، هیدرولیزات‌های طبیعی (نظیر ضایعات گوجه‌فرنگی و کاه برنج) و حتی الکل‌های

۱-۵- تأثیر منبع کربن بر تولید لیپید

منابع کربن نقش تعیین‌کننده‌ای در فرآیند تجمع لیپید ایفا می‌کنند. برای تولید روغن‌های تک‌یاخته (SCO)، از طیف وسیعی از کربوهیدرات‌ها که اغلب ضایعات یا محصولات جانبی صنایع کشاورزی و صنعتی هستند، استفاده می‌شود. این منابع شامل ساکارز^۱، [۱]، ملاس، محصولات نشاسته‌ای هیدرولیزشده (مانند گلوکز و دکسترین^۲، فروکتوز^۳، آب‌پنیر^۴، هیدرولیزات‌های طبیعی (نظیر ضایعات گوجه‌فرنگی و کاه برنج) و حتی الکل‌های

¹ Saccharose³Fructose⁴ Why

که اسیدهای چرب غیراشباع منابع خارجی^۸ برای رشد، مورد مورد نیاز می‌باشند [۲۳].

گودا^۹، امار^{۱۰} و آنود^{۱۱} در سال ۲۰۰۸ تولید روغن تک‌یاخته توسط گونه گوردونیا^{۱۲} DG را با استفاده از ضایعات کشاورزی و صنعتی مورد مطالعه قرار دادند. این پژوهش با هدف یافتن منابع کربن جایگزین با استفاده از ضایعات زراعتی و صنعتی به منظور کاهش هزینه‌های تولید انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد که سلول‌های این میکروارگانیسم قادر به تجمع لیپید در سوپسترای ضایعات زراعی و صنعتی و بیش از ۵۰ درصد از زیست توده خود می‌باشد. C6:0 و C22:0 اسیدهای چرب غالب (۵۴.۵٪) از کل اسیدهای چرب شناسایی شده) تولید شده توسط این گونه بودند. بهینه‌سازی آماری محیط کشت نشان داد که حداکثر لیپید با مقدار ۶۰ درصد در ضایعات پرتقال، همراه با ۰/۰۵ گرم بر لیتر آمونیم کلراید و ۰/۲ گرم بر لیتر منیزیم سولفات به دست می‌آید [۲۴].

یازاوا^{۱۳} و همکارانش در سال ۲۰۰۹ تولید اسیدهای چرب اشباع نشده در مخمر *Saccharomyces serotensis* و رابطه آن با تحمل pH قلیایی را مورد بررسی قرار دادند. سویه مخمری تولیدکننده لینولئیک و آلفا-اسیدلینولیک یک فنوتیپ^{۱۴} تحمل pH قلیایی را نشان داد. این سویه همچنین مقاومت بالایی نسبت به Li^+ و Na^+ از خود نشان داد. یافته‌ها تاثیر جدید تولید PUFA بر کنترل رونویسی را نشان داد، که احتمالاً نقش مهمی در مراحل اولیه پاسخ استرس قلیایی بازی کند [۱۳].

امارتی^{۱۵} و همکارانش در سال ۲۰۱۰ تولید روغن تک‌یاخته را با استفاده از مخمر رودوتورولا گلاکیالیز^{۱۶} مورد بررسی قرار دادند. این مخمر دارای خواص وابسته به روغن می‌باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که محتوای مازاد کربن

نظیر کلرید آمونیوم (NH_4Cl)، ترکیبات آمینه‌ای مانند آسپاراژین گلوتامات^۱، آمونیوم ترترات^۲ و عصاره مخمر، همگی می‌توانند بر میزان انباشت لیپید تأثیر بگذارند [۱۶].

۳-۵- تخمیر حالت جامد

تخمیر حالت جامد به دلیل هزینه‌های پایین‌تر نسبت به روش‌های کشت غوطه‌وری (مایع)، گزینه‌ای جذاب برای تولید SCO محسوب می‌شود. در این فرآیند، میکروارگانیسم‌ها در یک بستر جامد مرطوب و در حضور آب آزاد رشد می‌کنند که مشابه شرایط طبیعی تخمیر است و امکان استفاده از مواد آلی خام یا ضایعات زراعی و غذایی را فراهم می‌سازد [۲۳]. با این حال، تخمیر حالت جامد برای تولید PUFAهای خالص مناسب نیست، زیرا لیپیدهای همراه تولیدشده در این روش، خلوص PUFA محصول نهایی را کاهش می‌دهند. بنابراین، انتخاب روش تخمیر باید با توجه به کاربرد نهایی محصول و سطح خلوص مورد نیاز صورت گیرد.

۳-۶- پیشینه تحقیق

رونالد^۳ و همکارانش در سال ۱۹۷۵ اثربخشی اسیدهای چرب غیراشباع مختلف را بر حمایت از رشد و تنفس در *Saccharomyces serotensis*^۴ مورد بررسی قرار دادند. روش شرح داده شده در این پژوهش یک ابزار برای تحقیق در فعل و انفعالات متنوع از لیپیدهای غشایی و توابع غشایی خاص ارائه داد. نتایج نشان داد زمانی که محتوای اسید چرب غیراشباع در غشای میتوکندری^۵ به پایان رسید، فسفوریلاسیون اکسیداتیو^۶ و کنترل تنفسی دچار اختلال شد و افزودن اسیدهای چرب غیراشباع برای رشد مخمر تحت شرایط بی‌هوای مورد نیاز می‌باشد. ماهیت اصلی اسیدهای چرب غیراشباع برای مخمرها توسط ایزولاسیون^۷ جهش‌ها حتی تحت شرایط هوای به‌وضوح نشان داده است

⁸ Exogenous

⁹ Gouda

¹⁰ Omar

¹¹ Aouad

¹² Gordonia

¹³ Yazawa

¹⁴ Phenotype

¹⁵ Amaretti

¹⁶ *Rhodotorula glutinis*

¹ Asparagineglutamate

² Ammonium tartrate

³ Ronald

⁴ *Saccharomyces cerevisiae*

⁵ Mitochondrial

⁶ Oxidative phosphorylation

⁷ Isolation

بالایی از لیپیدها را تولید می‌کند. نتایج این پژوهش نشان داد که تمام سویه‌ها هنگامی که بر روی گلوکز و ضایعاتی مانند روغن اتلافی پخت‌وپز و روغن موتور اتلافی رشد داده شدند، بیشتر از ۲۰ درصد (w/w) از توده سلولی خشک خود را لیپید تولید کردند. در میان سویه‌های منتخب نیز *یارویا لیپولیتیکا* NCIM 3589 حداکثر میزان تجمع لیپید را از خود نشان داد [۲].

انسانیه، عبدلی و نحوی در سال ۲۰۱۳ اثر پارامترهای فیزیکی مانند pH، دور شیکر، دما و زمان انکوباسیون را توسط *یارویا لیپولیتیکا* M_7 و *کاندیدا* Sp بر تولید لیپید مورد بررسی قرار دادند. بهینه‌سازی این پارامترهای فیزیکی باعث تولید مقادیر لیپید بالاتر توسط مخمرهای تعیین شده می‌شود و توان بالقوه آن‌ها برای کاربرد صنعتی را نشان می‌دهد. پارامترهای ذکر شده بدین‌گونه محدوده‌گذاری شدند: pH: ۴-۷، سرعت سانتریفوژ ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ دور بر دقیقه، دمای ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتیگراد و زمان انکوباسیون ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت. نتایج این پژوهش نشان داد که دما و زمان انکوباسیون اثر معنی‌داری بر تولید لیپید این سویه‌ها داشته و بهینه‌سازی آن‌ها باعث افزایش تولید لیپید از ۲۵ تا ۳۴ درصد در *یارویا لیپولیتیکا* M_7 شد. بر اساس این نتایج پس از افزایش زمان انکوباسیون از ۷۲ ساعت به ۹۶ ساعت تولید لیپید حدود ۱ گرم در *یارویا لیپولیتیکا* M_7 کاهش پیدا کرد. نتایج همچنین نشان داد که با افزایش نرخ اختلاط، اکسیژن حل شده در محیط کشت افزایش می‌یابد که باعث افزایش رشد و تولید لیپید می‌شود. بر این اساس، محتوای اکسیژن محیط کشت با تجمع لیپید رابطه مثبت دارد [۳].

لدسما امارو و همکارانش در سال ۲۰۱۴ توان بالقوه *آفیس گوسپی*^۵ را در یک فرایند بیوتکنولوژی برای تجمع مقادیر قابل توجهی از SCO مورد مطالعه قرار دادند. این محققان نشان دادند که مهندسی متابولیسم *آفیس گوسپی* منجر به جداسازی سویه‌های روغنی‌ای می‌شود، که می‌توانند تا ۷۰٪ از زیست‌توده خود را به‌عنوان محتوای لیپیدی جمع‌آوری کنند. مشخصات لیپیدوزنیک^۶ سویه‌های تازه

تأثیر مثبت بر تولید تری‌آسیل‌گلیسرول داشته است. در بیشترین غلظت گلوکز با مقدار ۱۲۰ گرم بر لیتر بالاترین نرخ تولید لیپید ۱۹ گرم بر لیتر و در این حالت بازده لیپید/بیومس ۶۸٪ و بازده لیپید/گلوکز ۱۶٪ اندازه‌گیری شد. نتایج همچنین نشان داد که تغییرات دمایی اثری بر بازده تولید لیپید نداشته است اما رنج دمایی مناسب باعث رشد بهتر مخمر شده است [۲۵].

ارتوگرال کراتی^۱ و دانمز^۲ در سال ۲۰۱۰ بهینه‌سازی سازی خواص تجمع لیپید توسط سلول‌های مخمری را برای تولید بیودیزل و با استفاده از ملاس مورد مطالعه قرار دادند. چهار مقدار مختلف pH (۴-۷) برای تشخیص مقدار بهینه برای محیط کشت تجمع لیپید مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های مختلف $(NH_4)_2SO_4$ (۰/۵، ۱/۰، و ۱/۵ گرم بر لیتر) و ملاس (۶٪، ۸٪، ۱۰٪) به منظور تعیین بالاترین میزان نیتروژن و کربن برای تولید بالاترین لیپید سلولی مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که حداکثر مقدار لیپید در محیط حاوی ۸٪ محلول ملاس، ۱ گرم بر لیتر $(NH_4)_2SO_4$ ، pH=۵ و پس از چهار روز زمان انکوباسیون به-دست می‌آید. از آنجایی که اسیدهای چرب غالب در لیپیدهای سلول‌های مخمری C16 و C18 می‌باشند، این لیپیدهای خام می‌توانند به‌عنوان مواد اولیه‌ای برای تولید بیودیزل استفاده شوند [۲۵].

کتر^۳ و همکارانش در سال ۲۰۱۲ تولید روغن تک-یاخته میکروبی به‌وسیله مخمر *یارویا لیپولیتیکا*^۴ را مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش، تولید بیومس و پتانسیل تجمع لیپید پنج سویه مختلف از مخمر *یارویا لیپولیتیکا* که بر روی گلوکز رشد می‌کنند، مورد بررسی قرار گرفت. علاوه-براین، استفاده از برخی ضایعات صنعتی و زراعی برای تجمع لیپید توسط سویه‌های انتخاب شده مورد مطالعه قرار گرفت. تجمع لیپید و ترکیبات اسید چرب در مخمر *یارویا لیپولیتیکا* به سوبسترای که سلول‌ها در آن کشت داده می-شوند بستگی دارد. این مخمر در حضور کربن مازاد و محدودیت مواد مغذی مهم مانند نیتروژن و فسفر، سطوح

¹ Ertugrul Karatay

² Donmez

³ Katre

⁴ *Yarrowia lipolytica*

⁵ *Aphis gossypii*

⁶ Lipidogenic

۵۰٪ می‌باشد [۲۸].

قنواتی و نحوی در سال ۱۳۹۵ تولید روغن تک‌یاخته را در مراحل مختلف رشد بر روی مخمر بومی توسط فلوسایتومتتری مورد بررسی قرار دادند. تکنیک فلوسایتومتتری جهت بررسی میزان شدت فلورسنت سلولی، اندازه سلولی و تراکم درون سلولی به کار گرفته شد. رابطه بین شدت فلورسنت و محتوای لیپیدی، جهت محاسبه سریع و آسان میزان محتوای لیپیدی ارائه گردید. تغییرات فاکتورهای مختلف همچون میزان تولید لیپید و توده زیستی زیست توده، محتوای لیپیدی، کارایی تولید لیپید و توده زیستی، میزان قند، میزان ازت، نسبت کربن به ازت و pH در مراحل مختلف رشد مخمر در کشت بسته مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین میزان تولید لیپید، محتوای لیپیدی و کارایی تولید لیپید به ترتیب ۶/۵۷ گرم در لیتر، ۶۷/۰۴ درصد و ۲۱/۱۳ درصد به دست آمد. کاهش نسبت C/N در مراحل انتهایی کشت از عوامل تاثیرگذار در کاهش میزان تولید لیپید به شمار می‌رود [۲۹].

۷- نتیجه گیری

افزایش جمعیت جهان باعث رشد تقاضا و نیاز به روغن و چربی‌ها می‌شود. به این ترتیب دیگر منابع رایج گیاهی و حیوانی جواب‌گوی نیازهای موجود نبوده و نیاز به روغن‌های میکروبی به عنوان منبع جدیدی مطرح می‌گردد. با توجه به هزینه بالای فرایندهای میکروبی استفاده از منابع ارزان قیمت به عنوان سوبسترای مخمر *کاندیدا/اوتیلیس* می‌تواند سهم بسزایی در تولید روغن‌های تک‌یاخته داشته باشد. از طرفی تولید اسیدهای چرب غیراشباع از فرایند میکروبی و سوبسترای ارزان قیمت مقرون به صرفه‌تر بوده و باعث می‌شود این منابع مفید در دسترس باشند. از این رو انجام پژوهش‌هایی مشابه موجب نوآوری در تولید مواد مفید برای بدن و همچنین کمک به چرخه اقتصادی و محیط زیست می‌باشد. غلظت‌های مختلف محیط کشت مخمر نیز، تأثیر متفاوتی بر رشد مخمر و در نتیجه بهبود تولید اسیدهای چرب غیراشباع خواهد داشت. زمان ماند نیز از عوامل تأثیرگذار بر رشد مخمر می‌باشد. رشد سلول در زمان‌های ماند مختلف متفاوت است. لازم به ذکر است که هر کدام از این عوامل باید در مقداری بهینه ثابت شوند، به این دلیل که با افزایش

تولید شده نشان داد که حذف مسیر بتا اکسیداسیون در *آفیس گوسیپی* باعث افزایش قابل توجهی در تجمع لیپیدها می‌شود که می‌تواند به ۷۰٪ از وزن خشک سلولی دست پیدا کند [۲۶].

اکپینر^۱ و همکارانش در سال ۲۰۱۴ تولید روغن تک-یاخته توسط گونه *فوساریوم*^۲ را با استفاده از آب‌پنیر به عنوان سوبسترا مورد مطالعه قرار دادند. در این پژوهش مجموع لیپیدهای موجود در زیست‌توده قارچ حدود ۰/۱۴۶۷ تا ۰/۸۶۶۱ میلی گرم لیپید بر میلی گرم وزن مرطوب تخمین زده شد. تجزیه و تحلیل کروماتوگرافی گازی لیپیدهای میکروبی سنتز شده از گونه *فوساریوم* نشان داد که اسیدپالمیتیک (C16:0)، اسیدپالمیتوئیک (C16:1)، اسیداستئاریک (C18:0)، اسیداولئیک (C18:1) و اسیدلینولئیک (C18:2) اجزای اصلی تشکیل‌دهنده می‌باشند. بنابراین، محیط کشت آب‌پنیر به منظور افزایش تجمع مقدار قابل توجهی از لیپیدها با استفاده از گونه *فوساریوم* مؤثر بوده است [۲۷].

آیدی و همکارانش در سال ۲۰۱۶ تولید روغن تک-یاخته از مخمر *کاندیدا/ویزواناتی*^۳ Y-E4 را با استفاده از محصولات جانبی صنعتی-زراعی مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش شرایط محیط کشت و تولید SCO با استفاده از سوبه انتخابی مورد بررسی قرار گرفت. فرایند تخمیر به صورت ناپیوسته و ناپیوسته خوراک‌دهی شده برای افزایش میزان تجمع لیپیدها انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد که سوبه Y-E4 قادر به استفاده از طیف گسترده‌ای از سوبستراها، به ویژه قندهای C5 و C6 و همچنین سوبسترای گلیسرول و هیدروفوبیک می‌باشد. آنالیز مشخصات اسید چرب نشان داد که اسید اولئیک جزء اصلی تولید شده با استفاده از سوبسترای مختلف می‌باشد. تخمیر ناپیوسته و ناپیوسته خوراک‌دهی شده با استفاده از گلوکز به عنوان منبع کربن انجام شدند. نتایج همچنین نشان داد که میزان تولید لیپید در محیط کشت ناپیوسته خوراک‌دهی شده دو برابر بیشتر بوده و میزان تجمع لیپید (w/w)

¹ Akpinar

² Fusarium

³ Candida viswanathii

Biosurfactant Production. AMB Express, 1, 5. doi: 10.1186/2191-0855-1-5.

[8] Enshaeieh M, Abdoli A, Madani M. Increasing production of oil rich in essential unsaturated fatty acids in the lipid-producing yeast *Yarrowia lipolytica* with mutation and serolentin screening method. Food Sci Ind. 2016;13(60):125-136. [In Persian]

[9] Uemura H. 2012. Synthesis and production of unsaturated and polyunsaturated fatty acids in yeast: current state and perspectives. Appl Microbiol Biotechnol, 95(1), 1-12. doi: 10.1007/s00253-012-4105-1.

[10] Ghavanini H, Nahvi A. Investigation of single cell oil production at different growth stages of *Rhodotorula mucilaginosa* strain UIMC 35 by flow cytometry. Sci-Res J Alzahra Univ Appl Biol. 2016;29(2):173-192. [In Persian]

[11] Kaboosi H, Samadloo HR, Ab Salan M. Investigation of the effect of carbon and nitrogen sources on the growth and production of single-cell oil by the fungus *Cunninghamella echinulata*. Iran J Microbiol. 2012;14(4):39-46. [In Persian]

[12] Abdoli A, Enshaeieh M, Madani M. Production of oil rich in omega series fatty acids by lipid-producing yeasts and the extent of the effect of various parameters on the production process. Food Sci Ind. 2016;13(59), 59-74. [In Persian]

[13] Yazawa H, Iwahashi H, Kamisaka Y, Kimura K, Uemura H. Production of polyunsaturated fatty acids in yeast *Saccharomyces cerevisiae* and its relation to alkaline pH tolerance. Yeast. 2009; 26(3), 167-184. doi: 10.1002/yea.1659.

[14] Ghavanini H, Nahvi A. The effect of glucose and xylose on the growth and production of single-cell oil by selected yeast strains. Pet Res J. 2013; 23(75), 24-36. [In Persian]

[15] Kaboosi H, Behbahani B. An overview on effective parameters in production of single cell oil by microorganisms especially the fungus of *Mortierella isabellina*. Ann Biol Res. 2012;3(3):1650-1654.

بی‌رویه این پارامترها و یا در مقابل کاهش بی‌رویه آن‌ها رشد سلولی مخمر تحت تأثیر قرار گرفته و رسیدن به مقصود مورد نظر امکان‌پذیر نمی‌باشد. به عنوان مثال با افزایش بی‌رویه زمان ماند، سلول با کاهش مواد مغذی روبه‌رو شده و دیگر قادر به رشد نمی‌باشد. از این رو در نظر گرفتن مقداری معین که باعث تولید بهینه اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد امری مهم می‌باشد.

منابع

[1] Gharachorloo M, Ghavami M, Hosseini S, Azin M, Mazhari SZ. Cultivation of *Mortierella alpina* on Less Expensive Medium - Chemical Evaluation of Produced Oil. J Pure Appl Microbiol. 2012;6(1):1-10. [In Persian]

[2] Katre G, Joshi C, Khot M, Zinjarde S, RaviKumar A. Evaluation of single cell oil (SCO) from a tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589 as a potential feedstock for biodiesel. AMB Express. 2012;2:36. doi: 10.1186/2191-0855-2-36.

[3] Enshaeieh M, Abdoli A, Nahvi I, Madani M. Medium optimization for biotechnological production of single cell oil using *Yarrowia lipolytica* M7 and *Candida* sp. J Cell Mol Res. 2013;5(1):17-23.

[4] Enshaeieh M, Abdoli A, Madani M, Nahvi A. Production and optimization of microbial oil in lipid-producing yeasts *Yarrowia lipolytica* DSM 70562 and native yeast *Geotrichum* BL. New Cell Mol Biotechnol J. 2013;3(12):57-64. [In Persian]

[5] Pashaei S, Ghorbchi T, Yamchi A. The effect of dietary sources containing unsaturated fatty acids in diets with different levels of energy and protein on growth performance and blood indices of fattening lambs. Res Ruminants. 2014;4(2):103-121. [In Persian]

[6] Ratledge C. 2002. Regulation of lipid accumulation in oleaginous micro-organisms. Biochem Soc Trans, 30(Pt 6), 1047-1050. doi: 10.1042/bst0301047.

[7] Makkar RS, Cameotra SS, Banat IM. 2011. Advances in Utilization of Renewable Substrates for

- [16] Enshaieih M, Madani M, Abdoli A, Nahvi A. 2015. Isolation, identification and increased production of lipids using UV radiation and replica plating method in the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*. J Mod Genet., 10(4), 477-486. [In Persian]
- [17] Ayadi I, Kamoun O, Trigui-Lahiani H, Hdihi A, Gargouri A, Belghith H, Guerfali M.. Single cell oil production from a newly isolated *Candida viswanathii* Y-E4 and agro-industrial by-products valorization. J Ind Microbiol Biotechnol, 2016;43(7), 901-914. doi: 10.1007/s10295-016-1771-5.
- [18] Buerth C, Tielker D, Ernst JF. 2016. *Candida utilis* and *Cyberlindnera (Pichia) jadinii*: yeast relatives with expanding applications. Appl Microbiol Biotechnol, 100(16), 6981-6990. doi: 10.1007/s00253-016-7700-8.
- [19] Buerth C, Heilmann CJ, Klis FM, de Koster CG, Ernst JF, Tielker D. Growth-dependent secretome of *Candida utilis*. Microbiology (Reading), 2011;157(Pt 9), 2493-2503. doi: 10.1099/mic.0.050021-0.
- [20] Bekatorou A, Psarianos C, Koutinas AA. 2006. Production of food grade yeasts. Food Technol Biotechnol, 44(3), 407-415.
- [21] Ando S, Nishiguchi Y, Hayasaka K, Iefuji H, Takahashi J. Effects of *Candida utilis* Treatment on the Nutrient Value of Rice Bran and the Effect of *Candida utilis* on the Degradation of Forages In vitro. Asian-Australas J Anim Sci. 2006;19(6):806-810.
- [22] Walenga RW, Lands WEM.. Effectiveness of Various Unsaturated Fatty Acids in Supporting Growth and Respiration in *Saccharomyces cerevisiae*. J Biol Chem, 1975;250(23), 9121-9129.
- [23] Gouda M, Omar SH, Aouad LM. Single cell oil production by *Gordonia* sp. DG using agro-industrial wastes. World J Microbiol Biotechnol. 2008;24:1703-1711. doi: 10.1007/s11274-008-9664-z.
- [24] Enshaieih M, Madani M, Abdoli A, Nahvi A, Asgari Karchegani F. Optimization of microbial oil and xylitol production in the lipid-producing yeast *Rhodotorula mucilaginosa*. Sci-Res J Alzahra Univ Appl Biol. 2016;29(1):5-25. [In Persian]
- [25] Mohammadi Nasr M, Mirbaqeri M, Nahvi A. se of carbohydrate source and oil wastes in lipid production from the fungus *Mucor himalensis*. J Food Sci Ind Iran. 2014;9(2):59-66. [In Persian]
- [26] Amaretti A, Raimondi S, Sala M, Roncaglia L, De Lucia M, Leonardi A, Rossi M. Single cell oils of the cold-adapted oleaginous yeast *Rhodotorula glacialis* DBVPG 4785. Microb Cell Fact. 2010;9:73. doi: 10.1186/1475-2859-9-73.
- [27] Ledesma-Amaro R, Santos MA, Jiménez A, Revuelta JL. Strain design of *Ashbya gossypii* for single-cell oil production. Appl Environ Microbiol. 2014;80(4):1237-1244. doi: 10.1128/AEM.03560-13.
- [28] Akpınar-Bayazit A, Özcan T, Yılmaz-Ersan L, Basoglu F. Single cell oil (SCO) production by *Fusarium* species using cheese whey as a substrate. Mljekarstvo. 2014;64(2):111-118.
- [29] Ochsenreither K, Glück C, Stressler T, Fischer L, Syltatk C. Production Strategies and Applications of Microbial Single Cell Oils. Front Microbiol. 2016;7:1539. doi: 10.3389/fmicb.2016.01539.
- [30] Probst KV, Vadlani PV. Production of single cell oil from *Lipomyces starkeyi* ATCC 56304 using biorefinery by-products. Bioresour Technol. 2015;198:268-275. doi: 10.1016/j.biortech.2015.09.008.
- [31] Ertugrul Karatay S, Donmez G. Improving the lipid accumulation properties of the yeast cells for biodiesel production using molasses. Bioresour Technol. 2015;198:268-275. doi: 10.1016/j.biortech.2015.09.008.
- [32] Singh A, Mishra P. 1995. Microbial production of single cell protein (SCP) and single cell oil (SCO). Progress in Industrial Microbiology. 1995;33:301-316.

MICROBIAL BIOTECHNOLOGY AND
BIOPROCESS ENGINEERING02157416262
02157416806 <https://mbbe.irost.ir> <https://mbbe.irost.ir>

A Review on the Extraction of Single Cell Oil from the Microbial Strain *Candida utilis*

Atefeh Farjadmanesh  ^{1*}^{1*} Master, Chemical Engineering-Biotechnology, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran.

Article Info

Document Type:
*Review Paper***Paper History:**
Received: 2026-05-17
Revised: 2026-05-31
Accepted: 2026-06-07**Keywords:****Biotechnology,
Microbial production of
organic acids,
Agricultural waste,
Single cell oil,
*Candida utilis*****ABSTRACT**

Essential fatty acids, as vital components of the diet, play a crucial role in human physiological functions. Since the human body cannot synthesize these unsaturated fatty acids (characterized by multiple double bonds), they must be obtained through dietary sources. The nutritional significance of single-cell oils (SCO) produced by yeasts lies in their richness in long-chain unsaturated fatty acids. This unique feature has led to the widespread utilization of lipid-producing microorganisms in the manufacturing of dietary supplements and SCOs. Recently, oil-producing microorganisms have gained significant attention as a sustainable and alternative source for unsaturated fatty acid production. Attributes such as high growth rates and the ability to metabolize a wide range of carbon sources make these microorganisms an attractive option for the industrial production of SCOs. The lipids synthesized by these organisms find extensive applications in the food and pharmaceutical industries. Furthermore, the type of carbon source plays a decisive role in the lipid accumulation process. In this context, numerous studies conducted by researchers worldwide have focused on lipid-producing yeasts, optimal production conditions, and parameters affecting lipid biosynthesis, aiming to optimize the yield and quality of these products.

<https://doi.org/10.22104/mbbe.2026.8264.1018>https://mbbe.irost.ir/article_1694.html**How to cite this paper:**Farjadmanesh, A. (2026). A Review on the Extraction of Single Cell Oil from the Microbial Strain *Candida utilis*. 1(1), 46-59. DOI: 10.22104/mbbe.2026.8264.1018

*Corresponding author E-mail: Ath.farjadmanesh@gmail.com