بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی رنگدانه‌های جدا شده از مخمرهای پساب کارخانجات مواد غذایی

محدثه لاری‌پور*[۱]، مینا شکری مقدم[۲]

[۱]گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاداسلامی واحد تهران شمال

[۲]گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۱۰

چکیده

خواص کاربردی رنگدانه ی مخمرهای بومی در بیوتکنولوژی اثبات شده است. توان تولید رنگدانه وخواص آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مخمری بومی مورد بررسی این پژوهش است. در این مطالعه از بین۲۶ نمونه‌ی پساب مواد غذایی، پنج جدایه مخمری در طی مراحل نمونه برداری و تست‌های تشخیصی بیوشیمیایی، میکروسکوپی و ماکروسکوپی شناسایی شدند. توان تولید رنگدانه وخواص آنتی‌اکسیدانی آن با روش‌های DPPH و TEAC و IC50 در جدایه‌ها بررسی شد. در مقایسه با سویه استاندارد، سویه‌های برتر انتخاب و با استفاده از روش PCR و رسم درخت فیلوژنی با استفاده از نرم‌افزار MEGA7 مشخص شدند. براساس نتایج به‌دست آمده، جدایه یک Rhodotorula sp.EY12114 (LC229721.1)، جدایه دو *Rhodotorula mucilaginosa* OMA Y14 (KR2649021) و جدایه پنج *Rhodotorula mucilaginosa* ITS1 (MG0206871)، ۳ جدایه برتر بودند. بیشترین میزان تولید رنگدانه توسط جدایه ۵ (۳۹/۰۲۸ PPM) بود که در مقایسه با نمونه استاندارد *Rhodotorula glutinis PTCC5256* (۴۷/۷۳۱ PPM) می‌باشد. جداسازی وتجاری سازی گونه‌های بومی از پساب کارخانجات و بهینه‌سازی تولید متابولیت‌های زیست سازگار صنعتی آنها مانند رنگدانه‌ها که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، رنگ مجاز خوراکی و نگهدارنده در تولید فراورده های غذایی استفاده می‌شود علاوه بر بازده صنعتی با کیفیت بالا، صرفه اقتصادی فراوانی نیز دارد.

واژگان کلیدی: رنگدانه، آنتی‌اکسیدان، *Rhodotorula*

* m.larypoor@iau-tnb.ac.ir

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

مقدمه

در چند دهه گذشته، به دلیل بروز بیماری‌های مختلف ناشی از استفاده از رنگ‌های مصنوعی خوراکی و به‌دلیل تقاضای زیاد مصرف کنندگان برای استفاده از محصولات طبیعی، جایگزینی رنگ‌های طبیعی با رنگدانه‌های مصنوعی روند افزایشی دارد (۱). در طول سال‌ها، صدها رنگ خوراکی مصنوعی معرفی شده‌اند، اما بیشتر آنها سمی تشخیص داده شدند و نگران کننده‌ترین ادعا درباره رنگ‌های خوراکی مصنوعی احتمال ایجاد سرطان است(۲). به‌دلیل خطرات احتمالی ناشی از مصرف رنگ‌های مصنوعی بر سلامت انسان، بررسی‌های پژوهشگران بر روی این مورد متمرکز شده است. رنگ‌ها ظاهر جذابی به محصولات قابل فروش مانند محصولات غذایی، پارچه، محصولات دارویی و... می‌دهند. رنگ‌ها زیبایی جهان هستند و جهان بدون رنگ قابل تصور نیست. رنگدانه‌های طبیعی از زمان‌های گذشته رایج بوده‌اند و به علت مشکلات سمیت ناشی از رنگدانه‌های مصنوعی و نیز به علت اثرات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی رنگدانه‌های طبیعی، تمایل به آنها افزایش یافته است(۳). با توجه به هزینه بالای تولید رنگدانه‌های طبیعی مواد غذایی به عنوان بزرگترین مانع، مطالعات پژوهشگران بر کاهش هزینه تولید رنگدانه با استفاده از مخمرها پایه ریزی شده است.

ظاهر رنگارنگ مواد غذایی با افزایش ویژگی‌های حسی، در افزایش مصرف آنها توسط مشتریان نقش مهمی دارد. بنابراین، فعالان صنعت غذا برای رسیدن به این هدف، از انواع رنگ‌ها برای ایجاد تنوع و افزایش جذابیت در محصولات غذایی استفاده می‌کنند. رنگدانه‌ها اهمیت زیادی در تولید محصولات در صنایع مختلف دارند و به‌عنوان افزودنی‌ها، تقویت کننده‌های رنگ، آنتی‌اکسیدان‌ها و مواردی از این دست استفاده می‌شوند(۵و۶). از سویی، رنگدانه‌های مصنوعی باعث آلودگی محیط زیست و عوارض جانبی سمی ناشی از آن می‌شوند. بنابراین، ضروری است که انواع مختلفی از مواد طبیعی برای رنگ‌آمیزی مواد غذایی و پتانسیل استفاده آنها بررسی شود(۷). رنگدانه‌های استخراج شده از میکروارگانیسم‌ها به‌دلیل زیست سازگار بودن، حلیت در موادغذایی، سالم بودن، اثرات ضد میکروبی، اثرات آنتی‌اکسیدانی، اثرات ضد سرطان، ایجاد تنوع در رنگ مواد غذایی و اثرات نگهدارنده مواد غذایی، در تولید محصولات سالم غذایی اهمیت زیادی دارند(۸).

از میان میکروارگانیسم‌ها، قارچ‌ها مهمترین تولید کنندگان رنگدانه به شمار می‌روند(۴). شواهد علمی در حال رشدی در مورد مزایای بالقوه رنگدانه‌های کاروتنوئید بر سلامت انسان و حیوانات وجود دارد.همچنین، تاثیر مثبت رژیم غذایی غنی از کاروتنوئیدها در مقابله با بیماری‌های خطرناک مختلفی مطرح شده است. بنابراین،کاروتنوئیدها یکی از ترکیبات با ارزش و کاربردی در صنایع مختلف دارویی، شیمیایی، غذا، خوراک و سایر صنایع وابسته می‌باشند. سنتز کاروتنوئیدهای مختلف طبیعی تجاری مهم (کاروتن، ترولن، تورولورودین و آستاگزانتین) توسط گونه‌های مختلف مخمر متعلق به جنس *فافیا ردوزیما*[1]، *رودوتورولا*[2]، *ردوسپوریدیم*[3]، *اسپوروبلومایست*[4] به‌عنوان منبع طبیعی کاروتنوئید شناخته شده است.

بر طبق مطالعات، کاروتنوئیدها در به تاخیر انداختن و جلوگیری از پیری، بیماری‌های قلبی، بیماری‌های چشمی و سرطان مورد توجه هستند (۹). امروزه رنگدانه‌های تجاری از میکروارگانیسم‌ها یا گیاهان به دست می‌آیند. این رنگدانه‌ها می‌توانند برای رنگ‌آمیزی مواد غذایی و مکمل‌های غذایی استفاده شوند. از میان میکروارگانیسم‌ها، مخمرها یکی از مناسب‌ترین گروه‌های میکروبی برای تولید طیف وسیعی از رنگدانه‌ها هستند. مخمرها به‌دلیل قدرت تجزیه و تولید طیف گسترده‌ای از ترکیبات کربنی و رشد مطلوب در دمای محیط، منابع مهمی در تولید رنگدانه‌های صنعتی می‌باشند(۱۰).

[1] *Phaffia rhodozyma*
[2] *Rhodotorula*
[3] *Rhodosporidim*
[4] *Sporobolomyces*

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

در حال حاضر گونه‌های مخمری متعلق به جنس، رودوترولاو فافیا، به‌عنوان منابع رنگدانه بالقوه می‌باشد که در بسیاری ازفرایندهای تولیدی در واحدهای صنعتی، محصولات جانبی تولید می‌شود(۹). برای این محصولات جانبی هیچ مفهوم مدیریتی منطقی وجود ندارد و دفع آنها در شرایط طبیعی ممکن است منجر به تخریب پیشرونده محیط زیست شود. نمونه‌هایی از این ضایعات عبارتند از فاضلاب سیب زمینی که در تولید نشاسته سیب زمینی و گلیسرول به‌عنوان سوبسترای تولید بیودیزل، به کار می‌رود که می‌تواند به‌صورت طبیعی حاوی گونه‌های مخمری باشد(۱۱) .

آنتی‌اکسیدان‌ها با جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد و یا تبدیل آنها به اشکالی با فعالیت کمتر، تهدید رادیکال‌های آزاد را برای حیات سلول‌ها از بین می‌برند. آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان داروی ضد پیری و ضد سرطان، درمان کننده بیماری‌های قلبی-عروقی وبیماری‌های میتوکندریایی، بیماری هانتیگتون و بیماری‌های تخریب کننده اعصاب نظیر بیماری پارکینسون استفاده می‌شوند(۱۲). علاوه بر این، تجویز خوراکی برخی از آنتی‌اکسیدان‌ها مکمل افزایش انرژی و تقویت سیستم ایمنی می‌باشند(۱۳و۱۲). مرکز کنترل و نظارت بر محصولات غذایی، آنتی‌اکسیدان‌ها را تحت عنوان افزودنی‌های غذایی طبقه‌بندی کرده است و آنها را مواد محافظت کننده غذا عنوان می‌کند. بیشتر مطالعات بر روی آنتی‌اکسیدان‌ها در غذاها، بر تاخیر اکسیداسیون لیپیدی تاکید دارند، که با به تاخیر انداختن تجزیه و فساد مواد غذایی به عنوان وظیفه آنتی‌اکسیدان ها عمل می‌کنند(۱۴). در مجموع آنتی‌اکسیدان‌ها کاربردهای دارویی و غذایی فراوانی دارند.

تجزیه زیستی یک روش جایگزین برای تجزیه آلاینده‌ها با استفاده از موجودات زنده است. مسئله اساسی دراین مورد، انتخاب میکرو ارگانیسم‌هایی است که بتوانند در زمان کوتاهی بدون تولید متابولیت‌های سمی، آلاینده‌ها را تجزیه کند و به ترکیباتی ساده و زیست‌تخریب پذیر تبدیل کند تا به چرخه تجزیه محیطی ورود پیدا کند. در بررسی‌ها نشان داده شده است که *پیچیا*[1] و *رودوترولا* برای تخریب زیست محیطی پساب‌های سیب زمینی و گلیسرول استفاده شده است(۱۵).

بسیاری از کارخانجات، پساب‌هایی حاوی ترکیبات مغذی برای رشد میکروارگانیسم‌ها تولید می‌کنند. پساب کارخانجات تولید کننده چرم، پارچه ومواد غذایی از جمله لبنیات، فراورده های گوشتی و پروتئینی مانند سوسیس و کالباس و کارخانجات تولید کننده محصولات کنسروی مهمترین این پساب‌ها می‌باشند(۱۶). تولید رنگدانه از مخمرهای جدا شده از پساب کارخانجات، به‌دلیل ارزان بودن مخمر نه تنها یک راهکار مناسب برای کاهش هزینه‌ها در تولید رنگدانه‌ها است، بلکه با عملکرد مخمر و فروشویی پساب‌ها، محیط زیست نیز از آلودگی‌ها پاک می‌شود و سلامت انسان و محیط زیست کمتر به مخاطره می‌اندازد. همچنین، این مخمرها به دلیل بومی، ارزان و در دسترس بودن، می‌توانند با کمترین هزینه محصولات مفیدی را برای سلامت انسان و محیط زیست تولید کنند و بنابراین برای معرفی به صنعت وتجاری سازی بسیار مناسب می‌باشند(۱۷). در این پژوهش بر جداسازی مخمرهای بومی از پساب کارخانجات مواد غذایی، استخراج رنگدانه‌های مختلف از مخمرها، سنجش خواص آنتی‌اکسیدانی در آزمایشگاه و معرفی گونه‌های مخمر بومی تولید کننده رنگدانه برای صنعتی شدن تلاش شده است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

نمونه‌برداری طی سه مرحله انجام شد. مرحله اول نمونه‌برداری در فروردین ۹۷ از سه کارخانه تولید کننده فراورده‌های گوشتی پاک تلیسه ۱، پاک تلیسه ۲ و آندره در اطراف کرج، مرحله دوم جداسازی از دو کارخانه تولید کننده لبنیات دامداران و کنسرو سازی سحر در اطراف تهران در اردیبهشت ۹۷ و مرحله سوم از دو کارخانه تولید کننده کنسروسازی بهرام و چاشنی واقع در چهارباغ در خرداد ۹۷

[1] *Pichia*

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

از پساب‌های مختلف انجام شد. تمام نمونه‌ها درلوله فالکون استریل ۵۰ ml ریخته شد و بلافاصله به یخچال آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال منتقل شدند. تعداد کل نمونه‌ها بر اساس فرمول کوکران ۲۶ مورد تعیین شد.

جداسازی مخمرها

ابتدا محیط‌کشت سابورو دکستروز آگار و پتیتو دکستروز آگار تهیه شد. برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین (به ازای هر ml ۱۰۰۰ محیط‌کشت g ۰/۱ تتراسایکلین) به محیط‌های کشت اضافه شد. پس از آماده شدن محیط‌ها برای افزایش احتمال جداسازی مخمر، از نمونه‌ها به سه شکل رسوب، سوپرناتانت و نمونه کامل قبل از سانتریفیوژ (دور ۱۰۰۰ برای ۱۵ دقیقه) پس از شیک کردن کشت داده شد و نمونه‌ها به مدت h ۴۸ در دمای ۳۰°C انکوبه شدند. سپس، مخمرهای رشد کرده برای تشخیص بیشتر و بهتر در محیط‌های اختصاصی کشت داده و انکوبه شدند. تمام ایزوله‌های مخمرهای جدا شده از پساب، روی محیط کروم اگاربه روش خطی کشت داده شدند. پلیت‌ها در دمای ۳۰°C به مدت h ۴۸ گرما گذاری و پس از آن رنگ کلنی‌ها مطابق بروشور شرکت تولید کننده بررسی شد. به‌عنوان مثال کاندیدا دراین محیط به رنگ سبزآبی، پیچیا و رودوترولا به رنگ صورتی نارنجی دیده می‌شوند. از محیط کورن میل آگاربرای تولید کلامیدوسپور برای شناسایی گونه‌هایی مانند *کاندیدا آلبیکنس*[1] استفاده می‌شود. از هر نمونه برای جلوگیری از خطای کار سه بار کشت تهیه شد.(۱۸)

شناسایی میکروسکوپی مخمرها

از کلنی به‌دست آمده بر روی محیط‌های کشت با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم لام تهیه شد و خصوصیات مخمری در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰× بررسی شد.

شناسایی مخمرها با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی

تست تخمیر قند

ابتدا محیط فنل رد براث در داخل ارلن ریخته شد و بر روی هیتر گذاشته شد. پس از حل شدن کامل محلول، قند مورد بررسی به ارلن اضافه و سپس از کشت تازه مخمر بر روی محیط واجد قند کشت داده شد. محیط‌کشت به مدت h ۴۸ در دمای ۳۰°C گرماگذاری شد. در طول این مدت در صورت تغییر رنگ محیط‌کشت به زرد نتیجه مثبت و در صورت عدم تغییر رنگ منفی گزارش می‌شود(۱۸).

تست اوره آز

با استفاده از آنس یک کلنی از کشت تازه مخمر برداشته شد و در محیط حاوی اوره تعلیق شد. سپس، نمونه‌ها به مدت ۳ روز در دمای ۳۰°C گرماگذاری شد. در این روش، تغییر رنگ محیط در درون لوله‌ها از صورتی به قرمز به معنای مصرف اوره و رشد مخمرها است (۱۸).

تست سیترات

با استفاده از آنس یک کلنی از کشت تازه مخمر برداشته شد و در محیط حاوی سیمون سیترات تعلیق شد. سپس، نمونه‌ها به مدت ۱ هفته در دمای ۲۸°C گرماگذاری شدند. در صورت توانایی جدایه در جذب منبع نیترات رشد مخمر در لوله ها با تغییر رنگ همراه است. در صورت مثبت بودن آزمون، لوله ها به رنگ آبی قابل مشاهده است(۱۸).

تست تولید آسکوسپور

برخی از مخمرها مانند *ساکارومایسس سرویزیه*[2] بر روی محیط‌کشت اختصاصی عصاره هشت سبزیجات[3] تکثیر جنسی انجام می‌دهند. پس از تشکیل کلنی نمونه‌های مخمری بر روی محیط‌کشت اختصاصی، لام تهیه و فیکس شد. سپس، روی گسترش با محلول ۵ ٪ رنگ مالاشیت به مدت s ۳۰ تا ۶۰ پوشانده شد و۳ تا ۴ بار حرارت داده شد. لام با آب شسته شد وزمینه آن به‌مدت s ۳۰ با سافرانین ۱۵ ٪ زمینه لام را رنگ‌آمیزی شد. سپس، لام شسته شد و بررسی شد. تولید آسکسپور بالغ به رنگ آبی متمایل به سبز وسلول‌های زایا به رنگ قرمز می‌باشد(۱۸).

تست احیاء نیترات

[1] *Candida albicans*
[2] *Saccharomyces cerevisiae*
[3] V8 Agar

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

از کشت تازه مخمر، به محیط احیای نیترات حاوی نوترینت براث همراه ۰/۱ ٪ نیترات پتاسیم به‌عنوان منبع ازت تلقیح شد. سپس، به مدت ۴۸ °C در دمای ۳۰°C گرماگذاری شد. پس از گرماگذاری به محیط‌کشت‌ها دو نوع معرف آ (اسید سولفانیلیک) و بی (آلفانفیتیل آمین) اضافه شد. ظهور رنگ قرمز پس از افزودن دو معرف نشانه وجود نیتریت در محیط و مثبت بودن آزمایش است(۴).

استخراج مستقیم پیگمان با اتانول

برای انجام هر آزمایش، مقدار ۵ ml محیط‌کشت حاوی سلول‌های مخمر (۲۵ gr) با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد و مقدار ۱۰ ml اتانول به‌طور مجزا به سلول‌های مخمر افزوده شد. سپس، سلولها به‌مدت ۵ min ورتکس شدند. برای جداسازی مخمرها از حلال، نمونه‌ها به مدت ۱۰ min با دور ۴۵۰۰×g در دمای ۴ °C سانتریفیوژ شدند. سپس، محلول حاصل با استفاده از فیلترهای مقاوم به حلال، فیلتر شد ودر نهایت جذب رنگ با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۷۰ nm اندازه‌گیری شد (۴).

تعیین بیومس مخمر

محیط‌کشت را در دور ۱۰۰۰ به‌مدت ۱۵ min سانتریفوژ شد و ۲ مرتبه با آب مقطرشستشو داده شد. سپس، در دمای ۵۵°C به مدت ۲۴ h خشک شد(۴).

تعیین اثرات آنتی‌اکسیدانی

تعیین دی‌پی‌پی‌اچ

در مطالعه حاضر برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از دی فنیل پیکریل هیدرازیل یا به اختصار دی‌پی‌پی‌اچ (DPPH)[1] استفاده شد. دراین روش ۱۰۰ µmol از محلول DPPH در متانول با ۲ ml از غلظت‌های PPM ۱۰، ۵، ۲۰ و ۴۰ رنگدانه مخلوط شد. مخلوط به‌دست آمده ۳۰ min در دمای اتاق قرار گرفت. پس از آن جذب نمونه‌ها در ۵۲۰ nm توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی} = \frac{100-(\text{جذب نمونه} - \text{جذب منفی کنترل}) \times 100}{\text{جذب نمونه کنترل منفی}}$$

نمونه بلانک شامل : مخلوط ۲ ml متانول و ۲ ml رنگدانه

نمونه کنترل منفی شامل : شامل ۲ ml محلول دی‌پی‌پی‌اچ و ۲ ml رنگدانه با غلظت مورد استفاده

تست نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی

نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی (IC50)[2] وزنی از نمونه (mg) یا رقتی از محلول (mg/ml) است که در آن ۵۰ درصد مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد به‌دست می‌آید. در این پژوهش میزان نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی تکرارهای مختلف آزمایش محاسبه شد و با نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی ویتامین C -به‌عنوان شاخص سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی- مقایسه شد. هرچه مقدار به‌دست آمده به نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی ویتامین C نزدیکتر باشد، نمونه مورد نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی قویتری خواهد داشت. برای این کار ۳ نمونه استوک با غلظت ۱ (mg/ml) تهیه شد. در مرحله بعد سریال رقتی از هر نمونه تهیه شد و غلظت مهار ۵۰ درصدی ۳ نمونه جداگانه اندازه‌گیری و میانگین محاسبه شد. ویتامین C با غلظت‌های مختلف نیز به‌عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. تمام آزمایش‌ها به‌صورت ۳ بار تکرار انجام شد.(۱۹)

تست تاک

یکی از روش‌های سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی تست تاک(TEAC)[3] است که در این مطالعه از آن استفاده شد. برای تهیه رادیکال ای‌بی‌تی‌اس (ABTS)[4] ابتدا یک محلول آبی از ای‌بی‌تی‌اس به غلظت ۷ mmol تهیه شد. به این محلول، پتاسیم پرسولفات اضافه شد تا غلظت نهایی آن به ۲/۴۵ mmol در محلول برسد. محلول حاصل به مدت ۱۶ h در شرایط دمای اتاق و تاریکی قرار داده شد. در این مدت از مولکول ای‌بی‌تی‌اس، رادیکال کاتیون ای‌بی‌تی‌اس تولید شد.

[1] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
[2] Half maximal inhibitory concentration
[3] Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)
[4] 2,2′-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

مقدار µl ۲۰ از نمونه‌ها با ml ۲ از محلول ای‌بی‌تی‌اس مخلوط شد. سپس، جذب آن در nm ۷۳۴ در زمان‌های min ۲، ۴ و ۶ پس از مخلوط کردن خوانده شد (۲۰).

شناسایی ژنتیکی سوش‌های برتر

پس از انجام آزمایشات تعیین اثرات آنتی‌اکسیدانی و تولید رنگدانه، سوش‌های با نتیجه بهتر برای شناسایی مولکولی انتخاب شدند و استخراج DNA انجام شد. رسوب حاصل، یک باره با محیط کشت تلقیح نشده استریل شسته شد و پس از سانتریفیوژ بر روی رسوب به‌دست آمده ml ۲۳۰ بافر لیز اضافه شد و به مدت h ۳ در دمای °C ۳۷ قرار داده شد. سپس، g ۰/۴ دانه شیشه‌ای استریل و ml ۲۰۰ مخلوط فنل–کلروفرم (۱:۱) اضافه شد و پس از مخلوط کردن، به مدت min ۱۰ در rpm× ۱۴۰۰۰ و °C۴ سانتریفیوژ انجام شد. مایع رویی به آرامی به میکروتیوب استریل دیگری منتقل شد و ml ۶۰۰ اتانول سرد به آن اضافه شد و به مدت min ۳۰ در فریزر °C ۲۰– قرار داده شد. پس از این مرحله، به مدت min ۳۰ در °C ۴ و rpm×۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ انجام شد و مایع رویی دور ریخته شد. پس از خشک شدن نمونه در °C ۳۷، ml ۲۰ بافر TE و ml ۵ آنزیم RNase به آن افزوده شد و به مدت min ۱۰ در °C ۳۷ قرار داده شد. پس از پایان این مرحله، ml ۸ از نمک طعام M ۵ افزوده شد و در پایان ml ۲ ماده اولیه با اتانول سرد به حجم نهایی رسانده شد (تقریباً معادل ml ۴۳۰) و min ۳۰ در دمای °C ۲۰– نگهداری شد. در مرحله بعد DNA با کمک سانتریفیوژ در rpm× ۱۴۰۰۰ و °C ۴۰ به مدت min ۳۰ رسوب داده شد. مایع رویی به آرامی بیرون ریخته شد و میکروتیوپ‌ها در °C ۳۷ خشک شد. رسوب حاصل در ml ۵۰ بافر TE سوسپانسیون شد. خلوص نمونه‌ها با دستگاه نانودراپ[1] کنترل شد و نمونه‌ها در °C ۴ ذخیره شد. برای شناسایی ایزوله‌ها از جفت پرایمرهای نام برده شده در جدول ۱ برای تکثیر ناحیه مناطق D1-D2 مربوط به DNA ریبوزومی استفاده شد(۲۱). پس از مشاهده باندها بر روی ژل الکتروفورز، توالی‌ها بلاست شده و میزان شباهت هر ایزوله با مخمرها با رسم درخت فیلوژنی با استفاده از نرم‌افزار رسم درخت فیلوژنی (Mega7) تعیین می‌شود.

تهیه سوش استاندارد

سوش استاندارد *رودوترولا گلوتینیس*[2] *PTCC5256* از مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی ایران خریداری شد. این سوش در محیط سابورو دکستروز براث کشت شد و ۳ روز در دمای °C ۳۰ گرماگذاری شد. سپس، به محیط جامد سابورو دکستروز اگار منتقل شد و به مدت ۵ روز در دمای °C ۳۰ گرماگذاری شد.

آنالیز آماری

برای انجام محاسبات آماری تمام تست‌ها ۳ بار تکرار شد و نتایج به‌صورت میانگین با احتساب انحراف معیارگزارش شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون ANOVA و Tukey استفاده شد و میزان معنی‌داری با سطح اطمینان ۵٪ بیان شد.

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی ژنتیکی

نام پرایمر	توالی	طول توالی ها	رفرنس
ITS1-R	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	22bp	Manter et al. 2007
ITS1-F	GAACCAGTAAATCTCCTTCAT	21bp	
ITS2-R	GCTGCGTTCTTCATCGATGC	20bp	Manter et al. 2007
ITS2-F	CGACGCAAGGTAGCTAC	17bp	
ITS4-R	TCCTCCGCTTATTGATATGC	20bp	Manter et al. 2007
ITS4-F	AGGAGGCGAATAACTATACGCCAG	24bp	

[1] Nanodrop

[2] *Rhodotorula glutinis*

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

نتایج

نمونه‌برداری

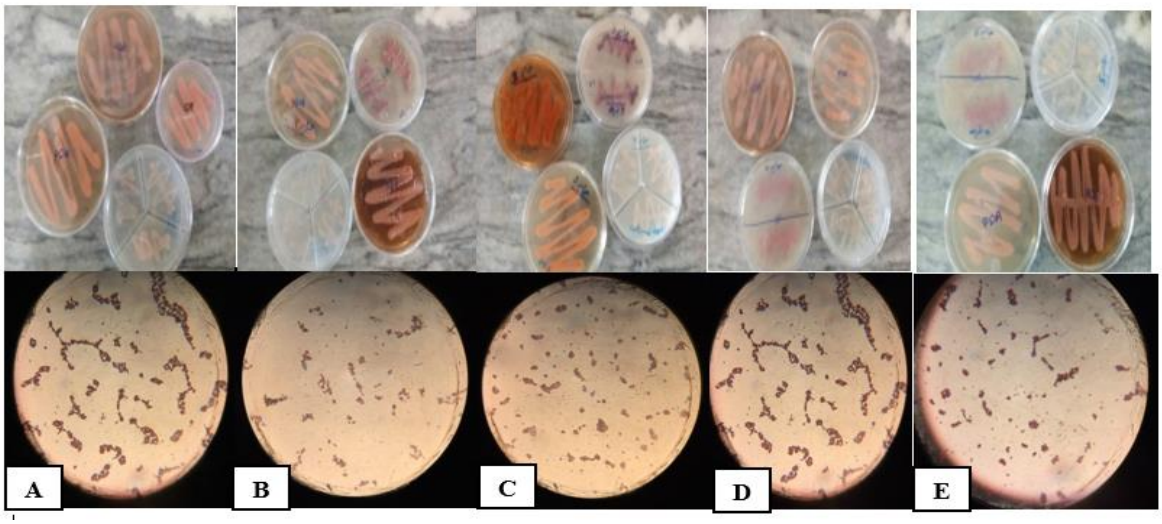
از میان ۲۶ نمونه برداشت شده از کارخانجات مواد غذایی اطراف کرج، پنج جدایه مخمری جداسازی شد و برای شناسایی‌های میکروسکوپی، ماکروسکوپی و بیوشیمیایی و مولکولی طی آزمایشات بعدی کنار گذاشته شد.

شناسایی میکروسکوپی و ماکروسکوپی

از بین ۲۶ نمونه برداشت شده در هر مرحله و کشت هر نمونه برروی سه نوع محیط‌کشت، پنج جدایه مخمری جداسازی شد که نتایج میکروسکوپی و ماکروسکوپی آنها در شکل ۱ نشان داده شده است. تمام کلنی‌ها بر روی محیط کروم آگار به رنگ صورتی دیده شد. بر روی این محیط کروموژن کلنی‌ها با طیف رنگی مختلف مشاهده می‌شوند. نتایج کلی تست‌های مورفولوژیک برای ۵ جدایه در جدول ۲ ذکر شده است.

آزمون تولید اسپورهای جنسی بر روی محیط V8 آگار

این آزمون برای تشخیص مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* استفاده می‌شود. بر روی محیط‌کشت حاوی عصاره سبزیجات تنها مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* تولید آسکواسپور می‌کند. پس از انجام آزمون، هر پنج جدایه آسکوسپور منفی بودند. نتایج در شکل ۲ قابل مشاهده است.

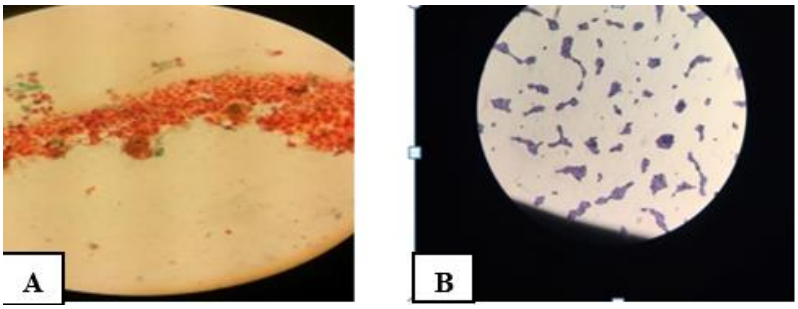


شکل۱. مشاهده کلنی پنج ایزوله A تا E جداسازی شده. مشاهده مورفولوژی کلنی‌ها بر روی محیط‌های کشت اختصاصی کروم آگار کاندیدا، کورن میل آگار، پتیتودکستروز آگارو سابورودکستروز آگار در بالا وتصویر میکروسکوپی ایزوله ها در پایین.

جدول۲. نتایج کلی تست های مورفولوژیک برای ۵ جدایه

جدایه‌ها	رنگ کلنی	شکل کلنی	حالت کلنی
جدایه ۱	صورتی_نارنجی	گرد_بیضی	صاف
جدایه ۲	صورتی_نارنجی	گرد_بیضی	صاف
جدایه ۳	صورتی_نارنجی	گرد_بیضی	صاف
جدایه ۴	صورتی_نارنجی	گرد_بیضی	صاف
جدایه ۵	صورتی_نارنجی	گرد_بیضی	صاف
رودوترولا گلوتینیس PTCC5256	صورتی_نارنجی	گرد_بیضی	صاف

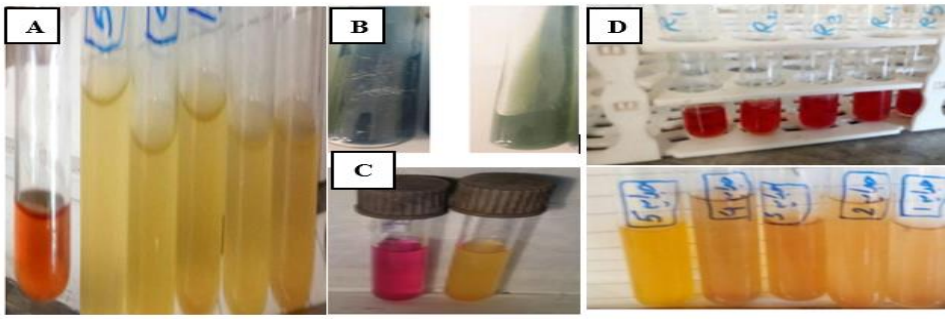
[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]



شکل۲.نتایج تولید آسکوسپور. A) تولید آسکوسپور؛ B) عدم تولید آسکوسپور

آزمون‌های بیوشیمیایی جدایه‌های مخمری

آزمون‌های تخمیر قند، اوره‌آز، سیترات، احیای نیترات وآزمون تولیدآسکوسپور برای پنج جدایه انجام شد. از بین جدایه‌ها ۵ جدایه قادر به تجزیه قندهای سوکروز، تره هالوز و گلوکز بودند و محیط از قرمز به زرد تغییر رنگ داشت. اما قندهای رافینوز و زایلوز بدون تغییر رنگ قرمز باقی ماند. همچنین، پنج جدایه اوره‌آز مثبت بودند که اوره موجود در محیط را تجزیه و به آمونیاک تبدیل کرده و در نتیجه تجمع آمونیاک محیط قلیایی شده و معرف از زرد به قرمز تغییر رنگ می‌دهد. هر پنج جدایه سیترات منفی بودند و توانسته بودند از سیترات به‌عنوان تنها عامل کربن دار در محیطاست استفاده کنند و در نتیجه در مجاورت معرف رنگی بروموتیمول بلو به رنگ آبی در آیند. تمامی جدایه‌های مخمری نیترات منفی بودند و بدون تغییر رنگ باقی به رنگ زرد باقی ماندند. نتایج آنها در شکل ۳ و جدول ۳ بیان شده است.



شکل۳. نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی جدایه‌های مخمری A) B) C) D)

جدایه	اوره	سیترات	اسکوسپور	نیترات	قند سوکروز	قند زایلوز	قند گلوکز	قند ترهالوز	قند رافینوز
۱	+	-	-	-	+	-	+	+	-
۲	+	-	-	-	+	-	+	+	-
۳	+	-	-	-	+	-	+	+	-
۴	+	-	-	-	+	-	+	+	-
۵	+	-	-	-	+	-	+	+	-
رودوترولا گلوتینیس PTCC5256	+	+	–	–	+	+	+	+	+

جدول۳. مقایسه نتایج تست‌های بیوشیمیایی در ۵ جدایه مخمری

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

استخراج پیگمان

پس از استخراج رنگدانه‌ها به روش بیرانوند وهمکاران (۱۳۹۸)، جذب نوری آنها در طول موج ۴۷۰ nm خوانده شد. وزن خشک آنها تعیین شد و با نمونه استاندارد مقایسه شد. نتایج این بخش از بررسی‌ها در جدول ۴ نشان داده شده است.

تعیین اثرات آنتی‌اکسیدانی

تعیین دی‌پی‌پی‌اچ

نتایج حاصل از محاسبه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان و محاسبه درصد خطا، نشان می‌دهد فعالیت آنتی‌اکسیدانی رنگدانه جداشده با افزایش غلظت رنگدانه‌ها، افزایش می‌یابد که به معنای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر در غلظت ۴۰ PPM نسبت به غلظت ۵ PPM است. در حقیقت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی رنگدانه جدا شده به‌صورت وابسته به دوز غلظت رنگدانه افزایش می‌یابد. نتایج پس از محاسبه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان رنگدانه در جدایه‌ها براساس دوز غلظت رنگدانه در جدول ۵ و درصد مهار رادیکال‌های دی‌پی‌پی‌اچ در جدول ۶ نشان داده شده است.

جدول٤. مقادیر جذب نوری وبیومس رنگدانه‌های استخراج شده از جدایه‌ها

جدایه	وزن خشک	میزان جذب نوری	مقدار رنگدانه
جدایه ۱	0.548	1.690	41.628
جدایه۲	0.526	1.480	36.016
جدایه۳	0.567	0.614	15.472
جدایه۴	0.005	0.934	24.120
جدایه۵	0.561	1.390	39.028
رودوترولا گلوتینیس PTCC5256	0.578	1.856	47.731

جدول٥. محاسبه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان رنگدانه در جدایه‌ها براساس دوز غلظت رنگدانه

غلظت رنگدانه/ PPM	میزان جذب نوری وفعالیت آنتی‌اکسیدانی					
			جدایه ۱	جدایه۲	جدایه۵	*Rhodotorula glutinis PTCC5256*
5	92/10	1/4	05/5	2/7	29/5	98/25
10	18/16	88/10	37/9	36/14	93/9	22/57
20	14/23	29/19	71/15	27/19	34/16	18/65
40	60/33	12/28	26/20	43/22	41/27	63/43

جدول٦. مقایسه درصد مهار رادیکال‌های DPPH در غلظت های متفاوت رنگدانه

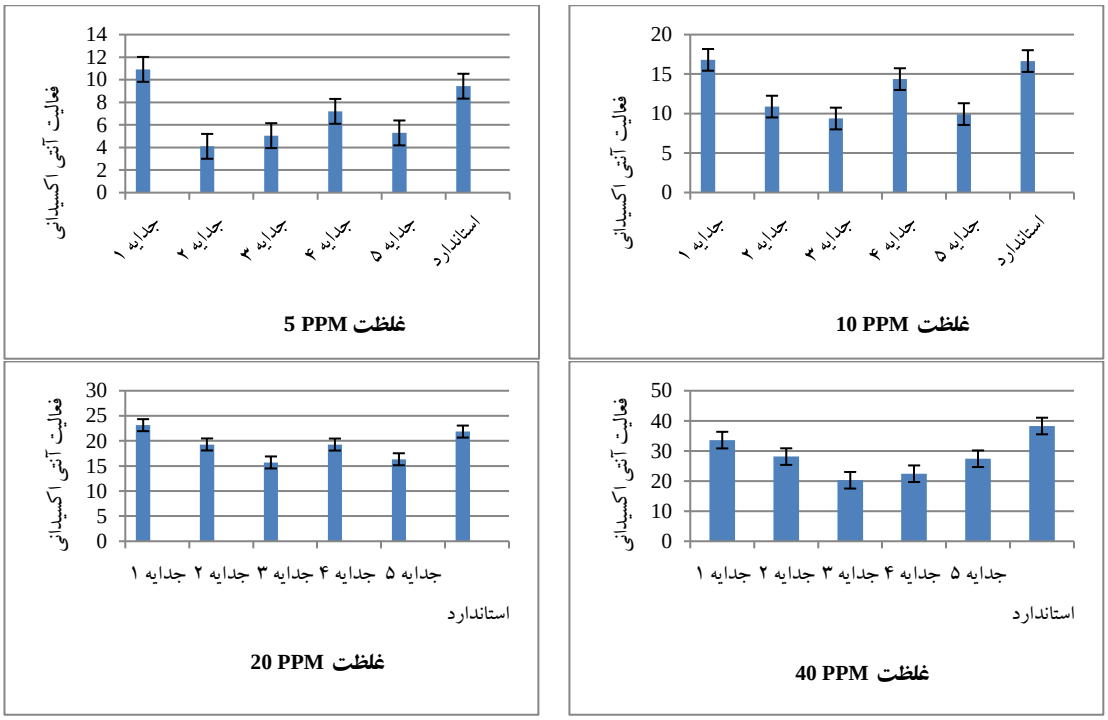
غلظت نمونه بر حسب PPM	5	10	20	40
رودوترولا گلوتینیس PTCC5256	325/2	631/2	237/2	431/2
جدایه ۱	150/2	253/2	461/2	867/2
جدایه ۲	105/2	212/2	418/2	835/2
جدایه ۳	051/2	102/2	228/2	491/2
جدایه ۴	493/2	895/2	387/3	690/3
جدایه ۵	233/2	451/2	863/2	863/3

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

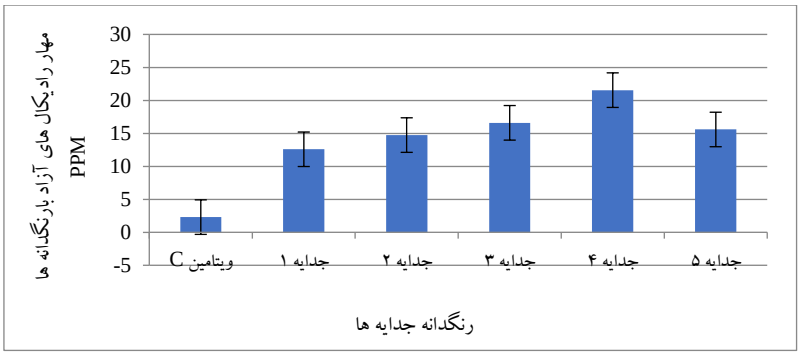
در شکل ۴ میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۵ جدایه همراه نمونه استاندارد در غلظت‌های PPM ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ در مقایسه با نمونه استاندارد نشان داده شده است. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به جدایه یک می‌باشد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن به نمونه استاندارد بسیار نزدیک است.

تست نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی

دراین آزمون میزان نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی تکرارهای مختلف آزمایش محاسبه شده است و با نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی ویتـامین C که به‌عنوان شاخص سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد مقایسه می‌شود. هرچه مقدار به‌دست آمده بـه نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی ویتامین C نزدیکتر باشد، ماده مورد نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی قویتری خواهد داشت. نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی رنگدانه منجر به مهار ۵۰ درصدی رادیکالی برای ۵ جدایه ایزوله در مقایسه با ویتامین C در شکل ۵ آورده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد توسط رنگدانه در غلظت‌های مختلف در مقایسه با ویتامین C کمتر است که قابل انتظار نیز می‌باشد.



شکل.٤ میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ٥ جدایه و نمونه استاندارد در غلظت‌های PPM ٥، ١٠، ٢٠ و٤٠ در مقایسه با نمونه استاندارد



شکل ٥. مهار رادیکال‌های آزاد مربوط به رنگدانه‌های استخراج شده از ٥ جدایه در مقایسه با ویتامین C

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

تست بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

پس از انجام مراحل تست ABTS، جذب نمونه‌ها در nm ۷۳۴ در زمان‌های min ۲، ۴ و ۶،خوانده شد که نتایج در جدول ۷ بیان شد. بر طبق این نتایج جدایه ۱،۲، ۴،۵ و ۳ به‌ترتیب نسبت به نمونه استاندارد میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نشان دادند.

معنی‌داری تفاوت‌های بین تولید رنگدانه و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی در جدایه ۱تا ۵ در مقایسه با نمونه استاندارد با استفاده از آزمون آماری ANOVA انجام شد. با توجه به جدول ۸ که شاخص‌های پژوهش را به‌صورت آماری توصیف می‌کند، میانگین نمونه استاندارد (نمونه ۶) از سایر میانگین‌ها کمتر است و نمونه شماره ۴ میانگین بیشتری را نشان می‌دهد. برای بررسی معناداری آماری این تفاوت‌ها از روش آماری تحلیل واریانس ANOVA استفاده شد.طبق این روش، میانگین نمونه‌ها با ۹۹ ٪ با یکدیگر تفاوت دارند که در جدول ۹ قابل مشاهده است.

جدول ۷. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی جدایه‌های مختلف در دقایق ۴، ۲ و ۶ نسبت به نمونه استاندارد

زمان برحسب min	2	4	6
جدایه ۱	6/18	61/19	73/20
جدایه ۲	13/21	70/22	45/23
جدایه ۳	73/28	28/29	19/30
جدایه ٤	37/30	15/31	05/32
جدایه ٥	17/22	93/22	39/23
رودوترولا گلوتینیس*PTCC5256*	25/16	90/16	48/17

جدول۸. آمار توصیفی شاخص‌های پژوهش

			فاصله ۹۵ ٪ اطمینان	
شماره نمونه	**میانگین**	**انحراف استاندارد**	**حد بالا**	**حد پایین**
1	65/19	07/1	29/22	29/22
2	43/22	83/1	37/25	37/25
3	40/29	737/0	31/23	23/31
4	34/31	08/1	02/34	02/34
5	83/22	616/0	36/24	36/24
6	88/16	615/0	41/18	41/18

جدول ۹. تجزیه‌وتحلیل واریانس برای بررسی تفاوت میانگین گروه‌ها

منبع واریانس	**مجموع مجذورات**	**درجه آزادی**	**میانگین مجذورات**	**مقدار F**	**سطح معناداری**
الگوی اصلاح‌شده	625/468	5	725/93	468/112	001/0
عرض از مبدأ	10	12	833/0		
پیش‌آزمون متغیر	625/478	17			

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

از آزمون مقایسه زوجی Tukey برای بررسی تفاوت معنادار بین نمونه‌ها استفاده شد. با توجه به جدول ۱۰ اختلاف تولید رنگدانه و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی رنگدانه جدایه ۱ با ۹۵ ٪ اطمینان (P=۰/۰۲۷) نسبت به نمونه استاندارد (نمونه ۶) اختلاف معنی‌داری دارد که نشانگر افزایش میزان تولید رنگدانه در جدایه ۱ است. بنابراین، تفاسیر جدایه ۱ و پس از آن به ترتیب نمونه جدایه ۲ سپس جدایه ۵، جدایه ۴ و جدایه ۳ به‌عنوان بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند.

همچنین، با توجه به جدول ۱۱ برای مقایسه اختلاف بین دقایق که شاخص‌های پژوهش را به‌صورت آماری توصیف می‌کند و برای بررسی معناداری آماری این اختلاف دقایق از روش آنالیز آماری واریانس یک طرفه درجدول ۱۱ استفاده شد. از آزمون مقایسه زوجی توکی برای بررسی تفاوت معنادار بین دقایق استفاده شد. با توجه به جدول ۱۲ و ۱۳ دقیقه ۲ با ۴و۶، دقیقه ۴ با ۲و ۶، دقیقه ۶ با ۲ و ۴ مقایسه شد که نتایج تفاوت معنی‌داری بین دقایق نشان نمی‌دهد.

جدول ۱۰: آزمون توکی برای مقایسه زوجی بین میانگین‌های نمونه‌های پژوهش

	تفاوت میانگین‌ها	خطای استاندارد	معناداری	حد بالا	حد پایین
نمونه ۱	77/2-	745/0	027/0	27/5-	266/0-
نمونه ۲	55/5-	745/0	001/0	05/8-	05/3-
نمونه۳	52/12-	745/0	001/0	03/15	02/10-
نمونه ۴	46/14-	745/0	001/0	97/16-	96/11-
نمونه ۵	95/5-	745/0	001/0	46/8-	45/3-

جدول ۱۱. آمار توصیفی شاخص‌های پژوهش

			فاصله ۹۵ ٪ اطمینان	
دقیقه	میانگین	انحراف استاندارد	حد بالا	حد پایین
2:00	22/8750	5/58864	17/0101	28/7399
4:00	23/7617	5/49867	17/9912	29/5322
6:00	24/6233	5/69408	18/6478	30/5989
کل	23/7533	5/30607	21/1147	26/3920

جدول ۱۲. تجزیه‌وتحلیل واریانس برای بررسی تفاوت بین دقایق

منبع واریانس	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	مقدار F	سطح معناداری
الگوی اصلاح‌شده	9/171	2	4/585	0/147	0/865
عرض از مبدأ	469/454	15	31/297		
پیش‌آزمون متغیر	478/625	17			

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

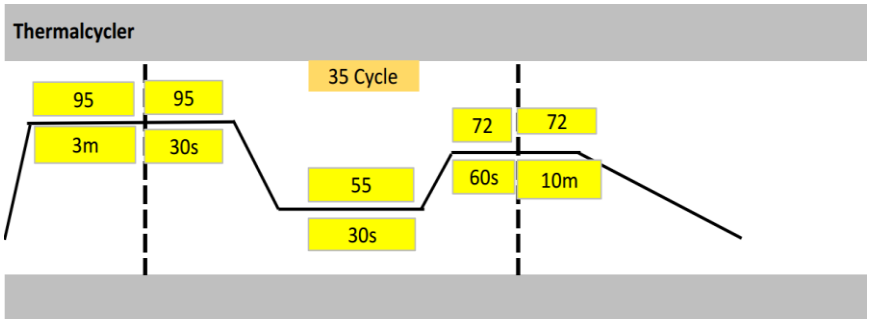
جدول ۱۳. آزمون توکی برای مقایسه بین دقیقه ۲ با دقیقه ٤و ٦، دقیقه ٤ با دقیقه ۲و ٦، دقیقه ٦ با دقیقه ۲ و ٤

دقیقه	تفاوت میانگین‌ها	خطای استاندارد	معناداری	حد بالا	حد پایین
2/00 4/00 6/00	-0/88667 -1/74833	3/22991 3/22991	0/959 0/852	-9/2763 -10/1379	7/5029 6/6413
4/00 2/00 6/00	0/88667 -0/86167	3/22991 3/22991	0/959 0/962	-7/5029 -9/2513	9/2763 7/5279
6/00 2/00 6/00	1/74833 0/86167	3/22991 3/22991	0/852 0/962	-6/6413 -7/5279	10/1379 9/2513

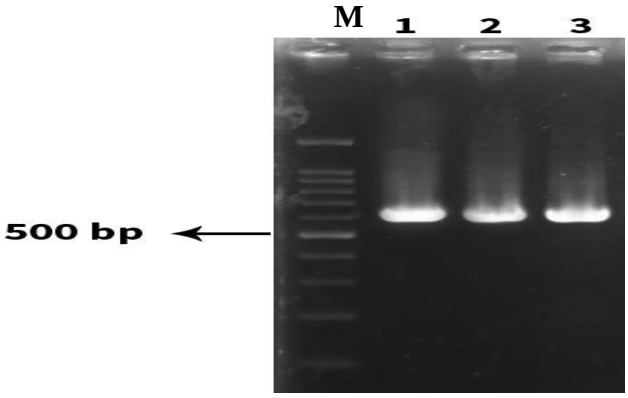
تشخیص ژنتیکی

با توجه به نتایج به‌دست آمده از مراحل قبل، بیشترین میزان تولید میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با نمونه استاندارد به ترتیب مربوط به جدایه ۲،۱ و ۵ می‌باشد. از میان این ۵ جدایه،۳ جدایه‌ای که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان را نشان دادند برای انجام مراحل ژنتیکی انتخاب شدند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر اساس شکل ۶ مراحل انجام شد و سپس الکتروفورز انجام شد.

قطعات تکثیر شده توسط الکتروفورز بر روی ژل آگارز۲ ٪ در بافر تریس بورات ۰/۵ ٪ و رنگ‌آمیزی ایتدیوم بروماید مرئی شد. نشانگر با وزن مولکولی bp ۱۰۰۰ استفاده شد که در شکل ۷ قابل مشاهده است.



شکل٦. مراحل انجام PCR

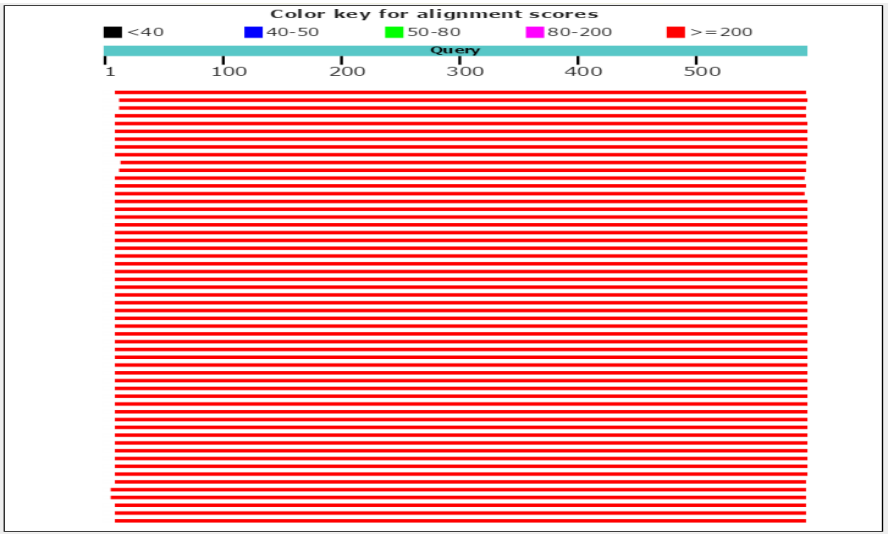


شکل ۷. نتایج الکتروفورز. (M): مارکر bp1000 DNA Ladder.

(۱):جدایه ۱، (۲): جدایه ۲، (۳) :جدایه ۵ که در محدوده bp ٦۰۰ قرار گرفته است

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

نتایج بلاست نمونه‌ها در شکل ۸ و۹ و۱۰ مشاهده می‌شود. خطوط رنگی در شکل نشانگر توالی بلاست شده در سایت NCBI هستند. هر توالی بر اساس میزان شباهت خود دارای یک طیف رنگی است. کلید رمز رنگ‌ها بر اساس امتیاز هم ردیفی در بالای آن آمده است. هر چه جور شدگی توالی یافت شده با توالی در حال جستجو بیشتر باشد با رنگ قرمز مشخص می‌شود و هر چه این جورشدگی کمتر باشد با رنگ‌های رو به مشکی نمایش داده می‌شود.



شکل ۸. نتایج بلاست که بیشترین جور شدن توالی یافت شده با توالی در حال جستجو را با رنگ قرمز نمایش داده شده است.

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Rhodotorula sp. EY12114 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence; isolate: EY12114-2-33	1053	1230	98%	0.0	99%	LC229719.1
Rhodotorula sp. EY12114 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence; isolate: EY12114-2-36	1053	1228	98%	0.0	99%	LC229721.1
Rhodotorula sp. EY12114 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence; isolate: EY12114-2-19	1048	1213	98%	0.0	99%	LC229718.1
Rhodotorula sp. EY12114 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence; isolate: EY12114-2-13	1044	1204	97%	0.0	99%	LC229714.1
Sporobolomyces sp. AYO-K04 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1044	1187	99%	0.0	99%	KR919600.1
Rhodotorula sp. EY12114 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence; isolate: EY12114-2-18	1042	1143	98%	0.0	99%	LC229717.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate OMA Y14 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1068	1068	98%	0.0	99%	KR264902.1
Rhodotorula mucilaginosa strain AUMC13584 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1059	1059	97%	0.0	99%	MH033100.1
Rhodotorula mucilaginosa culture CBS:6727 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1057	1057	98%	0.0	99%	KY104848.1
Rhodotorula mucilaginosa strain AUMC13587 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1057	1057	97%	0.0	99%	MH098827.1
Rhodotorula mucilaginosa strain Y9-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1053	1053	98%	0.0	99%	KF646193.1
Rhodotorula mucilaginosa strain YD3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1053	1053	98%	0.0	99%	KF646195.1
Rhodotorula mucilaginosa strain AUMC 10725 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1053	1053	98%	0.0	99%	KX376274.1
Rhodotorula mucilaginosa strain KDLYC24-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1051	1051	98%	0.0	99%	HQ999092.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate IA32 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1051	1051	98%	0.0	99%	KM246206.1
Rhodotorula mucilaginosa strain ASU1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1051	1051	97%	0.0	99%	KP960512.1
Rhodotorula mucilaginosa strain AUMC13585 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1051	1051	97%	0.0	99%	MH098828.1
Rhodotorula sp. EY12114 genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence; isolate: EY12114-2-14	1050	1050	98%	0.0	99%	LC229715.1
Rhodotorula mucilaginosa strain Y 17497 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	AF444610.1
Rhodotorula mucilaginosa strain CRUB 1100 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	EF174512.1
Rhodotorula mucilaginosa strain SN27 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	FJ515192.1
Rhodotorula mucilaginosa genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, isolate Ka2715	1048	1048	98%	0.0	99%	FR690147.1
Uncultured fungus isolate FICUS 079 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	JX174807.1
Uncultured fungus isolate FICUS 108 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	JX174836.1
Rhodotorula mucilaginosa isolate KDLYL10-1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	JX174412.1
Rhodotorula mucilaginosa strain PMM08-1716L isolate ISHAM-ITS_ID MITS2205 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, pa	1048	1048	98%	0.0	99%	KP132583.1
Rhodotorula mucilaginosa culture CBS:2386 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	KY104792.1
Rhodotorula mucilaginosa culture CBS:12021 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	KY104803.1
Rhodotorula mucilaginosa culture CBS:2384 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	KY104820.1
Rhodotorula mucilaginosa culture CBS:2376 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	KY104868.1
Rhodotorula mucilaginosa strain IF15W-F2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	KY218665.1
Rhodotorula mucilaginosa strain IF35W-F2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	KY218672.1
Rhodotorula mucilaginosa strain IF45W-F2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	KY218675.1
Rhodotorula mucilaginosa strain IF55W-F1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1048	1048	98%	0.0	99%	KY218676.1

شکل ۹. فهرست شماره دسترسی و نام توالی‌های به‌دست آمده

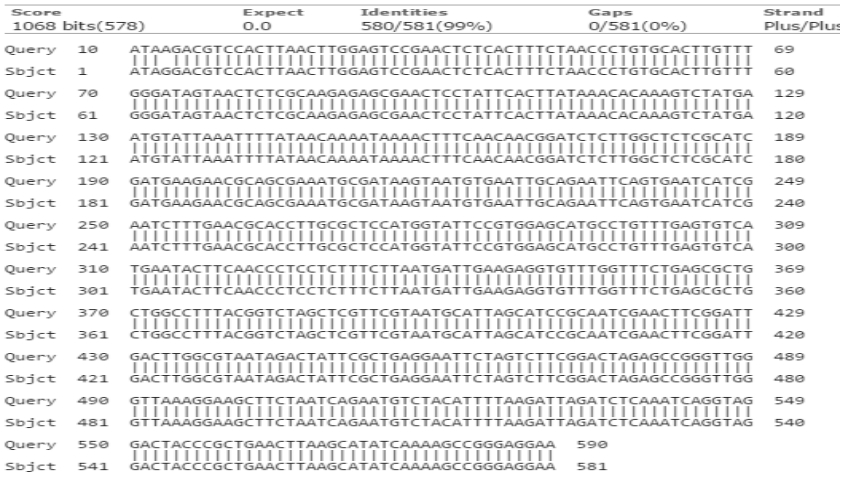
در شکل ۹ شماره دسترسی[1] و نام[2] توالی‌های به‌دست آمده فهرست شده‌اند. در این شکل، روبروی هر توالی دو عدد نوشته شده است که اولین عدد امتیاز هم ردیفی دوگانه توالی یافت شده و توالی در حال جستجو است که اطلاعات بعدی

[1] Accession

[2] Description

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

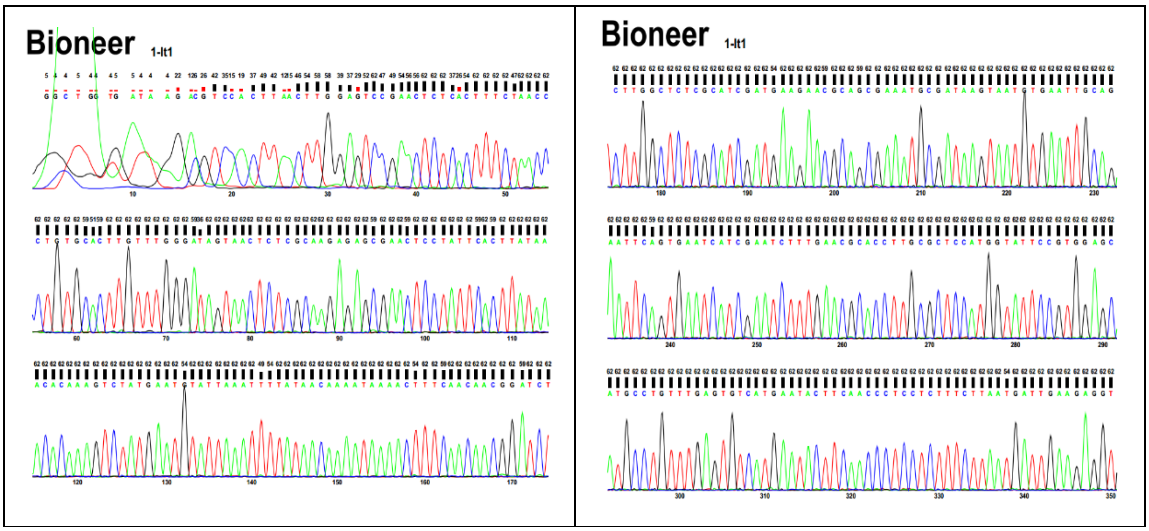
بر اساس آنها مرتب می‌شوند. دومین شاخص مورد می‌باشد که برای قابل قبول بودن توالی یافت شده باید این عدد کمتر از ۰/۰۱ باشد، در غیر این صورت جفت شدن توالی‌ها تصادفی است. شکل ۱۰ میزان شباهت[1] دو توالی را نشان می‌دهد، شماره ۴ درصدی از توالی‌های هم‌پوشان را نشان می‌دهد. این نتایج بیشترین شباهت را با گونه رودوترولا نشان می‌دهد.



شکل ۱۰. جفت شدن دو توالی query و subject.

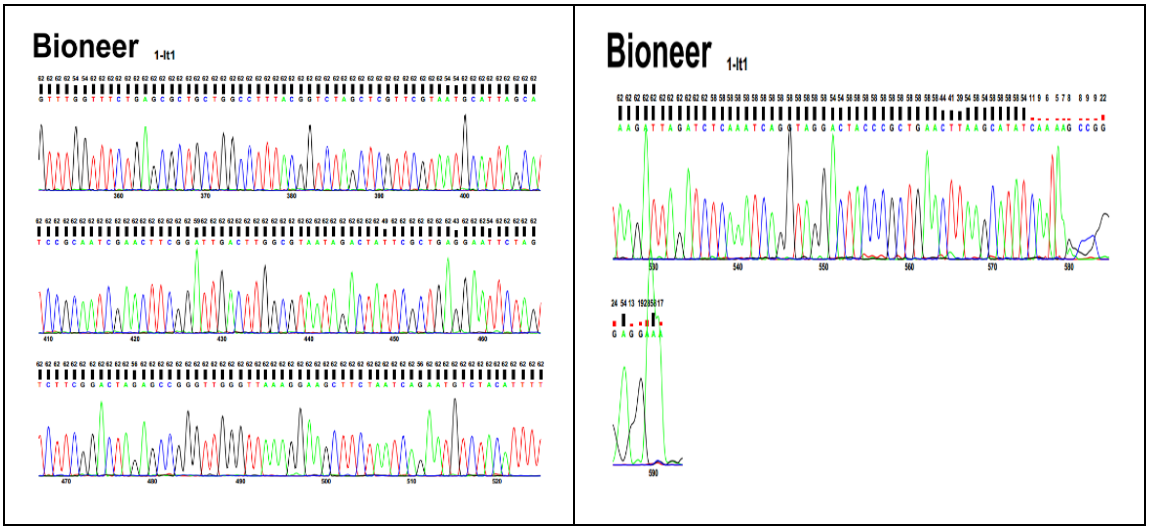
*تمام توالی‌های با طول مناسب (هر چه توالی بلندتر، مطلوب‌تر) می‌توانند کاندیدهای مناسبی برای *رودوترولا* باشند.

پرایمرها قطعات کوچک پلی نوکلئوتیدی هستند و در آزمایشگاه به گونه‌ای طراحی و سنتز شده‌اند که دارای سکانس نوکلئوتیدی مکمل با ناحیه ۳َ در یکی از رشته‌های DNA مورد نظر هستند. سکانس جدایه‌های هدف ۲و ۱و ۵ که با سکانس پرایمرها مکمل است در شکل ۱۱ مشاهده می‌شود.



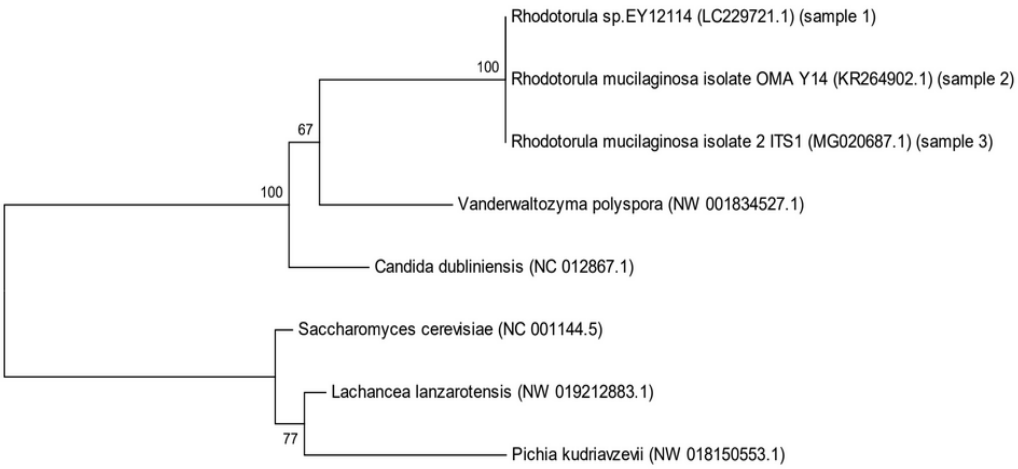
[1] Ident

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]



شکل ۱۱. سکانس جدایه ۱، ۲ و ۵ مربوط به رودوترولا.

*نوکلئوتید با رنگ و طول موجی در بازه حدودا bp ۵۰ تا ۶۰۰ نمایش داده شده است.



شکل ۱۲. درخت فیلوژنی-روابط تکاملی در میان گونه‌های مختلف با جدایه مورد نظر بر اساس شباهت‌ها و تفاوت‌های فیلوژنتیکی

درخت فیلوژنی یک نمودار انشعابی است و روابط تکاملی در میان گونه‌های مختلف زیستی را بر اساس شباهت‌ها و تفاوت‌های فیلوژنتیکی نشان می‌دهد. واحدهای متصل به یکدیگر در درخت، از یک جد مشترک جدا شده‌اند. در یک درخت تکامل نژادی ریشه‌دار، هر گروه نشان دهنده جد مشترکی برای فرزندان آن گروه می‌باشد، و طول یال‌ها در برخی از درختان نشان دهنده تخمین زمان است. در شکل ۱۲ میزان شباهت هر ۳ نمونه به جنس *ردوتورولا* نشان داده شده است که میزان قرابت نمونه ۱و ۲و ۵ با *ردوترولا* ۱۰۰٪ بوده است. دو نمونه با تشابه ۱۰۰ ٪ با گونه *ردوترولا موسیلاژینوزا*[1] و یک نمونه در حد جنس شناسایی شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

قارچ‌ها موجوداتی یوکاریوت، اغلب هوازی و منتشر در سراسر دنیا می‌باشند و برای گسترده فعالیت اکولوژیک، جزء مهمترین میکروارگانیسم‌های یوکاریوتی محسوب

[1] *Rhodotorula mucilaginosa*

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

میشوند(۲۲). امروزه مخمرها با تغییرات بهینه در طعم ، عطر و مزه مواد غذایی تحت فرایند تخمیر و بازده اقتصادی مناسب در تولید محصولات بیوتکنولوژی از سایر میکروارگانیسم‌های صنعتی پیشی گرفته‌اند(۵). از جمله دلایل اهمیت مخمرها در تولید این محصولات می‌توان به نگهداری و کشت آسان و غیر ویسکوز، نیازهای محیطی و غذای ساده، تراکم سلولی بالا در محیط تولید با هزینه کم، قابلیت انجام فرایندهای پس از ترجمه، فقدان اندوتوکسین دیواره و ماده ژنتیکی ویروس اشاره کرد(۴). از جمله محصولات بیوتکنولوژی تولیدی توسط مخمرها می‌توان به بیو اتانول، الکل‌های پلی هیدرولیک، پروتئین‌های تک سلولی، لیپیدها، کارتنوئیدها، ترکیبات طعم‌دار، ویتامین‌ها، اسیدهای آلی، پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی، محصولات فراسودمند پروبیوتیک و پری‌بیوتیک و آنزیم‌های صنعتی اشاره کرد(۲۳). در سال‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای روی مخمرهای جدا شده از محیط‌های مختلف انجام شده است، که بیشتر این مطالعات بر روی مخمرهای جداشده ازمواد غذایی بوده است. در بیشتر موارد هدف، بهبود کیفیت ترکیبات غذایی از جمله افزایش خواص، ماندگاری، ویژگی آنتی‌اکسیدانی و اثرات ضدسرطانی می‌باشد (۲۴و۲۳). از جمله مطالعات انجام شده بر روی مخمرهای غذایی می‌توان به بررسی جمعیت میکروبی و پتانسیل مخمرهای جدا شده از پنیرهای صنعتی در جنوب اشاره کرد(۲۵). اگرچه، بررسی گونه‌های محیطی می‌تواند علاوه بر حفظ ذخایر میکروبی به غربالگری جدایه‌های بومی با توانایی تولید انواع متابولیت‌های مختلف و جدید، نه در غذا بلکه برای کاربرد در صنایع مختلف منجر شود، اما مطالعات کمتری بر روی این گونه‌ها انجام شده است. گونه‌های محیطی نسبت به گونه‌های غذایی و گونه‌های دارای منشا حیوانی و انسانی تنوع و توانایی‌های بیشتری دارند، زیرا بر همکنش‌ها و شرایط محیطی به مراتب پیچیده‌تر، سخت‌تر و ضعیف‌تر از محیط تقریباً تعریف شده غذا و بدن می‌باشد(۲۶).

بیرانوند و همکاران (۱۳۹۸) در پژوهشی با نمونه‌برداری از پساب کارخانجات چرم توانستند از این پساب *ردوترولا موسیلاژینوزا و ردوترولا گلوتینیس* را جداسازی کنند که توان تولید رنگدانه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا را داشت. در این پژوهش *ردوترولا موسیلاژینوزا* از پساب کارخانجات مواد غذایی جداسازی شد که توان تولید بتاکارتن در مقیاس بالایی را داشت (۴). محیط‌های طبیعی تغییرات زیادی را از نظر متغیرهای دما، اسیدیته، میزان شوری فقر و مواد غذایی، خشکی، تغییرات انسانی و ورود ترکیبات سخت تجزیه متحمل می‌شوند. بدیهی است که بررسی این گونه نواحی نه تنها در غربالگری میکروارگانیسم‌هایی با توانایی‌ها و ویژگی‌های جالب و خاص مفید می‌باشد، بلکه به دلیل بومی بودن با از بین رفتن کارایی صنعتی مخمر در هر زمانی، امکان بازیابی و جداسازی آسان و کم هزینه آن از همان محیط فراهم است(۲۷).به‌طور کلی، روش‌های مولکولی اطلاعات جزئی‌تری ازتعداد و تنوع گونه‌های حاضر در نمونه به دست می‌دهند، اما حساسیت کمتری دارند و گونه‌های غیر غالب را نیز شناسایی نمی‌کنند. به همین علت در مطالعه تنوع زیستی میکروارگانیسم‌ها برای مطالعه و جداسازی حداکثر جدایه‌های موجود، استفاده از روش‌های مولکولی و روش کشت به‌صورت هم زمان توصیه می‌شود(۳۰-۲۸). Mata-Gómez وهمکاران (۲۰۱۴) در پژوهشی نشان دادند که حداکثر مقدار کل کاروتنوئیدها به‌طور مستقیم با حداکثر مقدار زیست توده سلولی رابطه مستقیم ندارد. تجمع رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در اکثر مخمرها در مرحله فاز لگاریتمی شروع می‌شود و در فاز ثابت ادامه می‌یابد(۳۵-۳۱). نتایج مقایسه مقدار کل کاروتنوئید در دو سویه انتخاب شده در ۷۲ h نشان داد که *ردوترولا اسلوفیه*[1] و *ردوترولا موسیلاژینوزا* در میزان تولیدکاروتنوئید متفاوت هستند و *ردوترولا اسلو فیه* دارای توانایی بیشتری برای تولید کاروتنوئیدها می‌باشد. با این‌حال، نتایج اثر زمان انکوباسیون نشان داد که به‌طور کلی، *ردوترولا موسیلاژینوزا* پتانسیل بیشتری برای تولید کاروتنوئید دارد(۳۶). Lin وهمکاران

[1] *Rhodotorula slooffiae*

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

(۲۰۲۰) در مطالعه‌ای نشان دادند که ردوترولا *موسیلاژینوزا* دارای بالاترین پتانسیل تولید کاروتنوئید در میان گونه‌های مورد استفاده در این مطالعات است، که با نتایج حاصل از این پژوهش همخوانی دارد. گزارش شده است که *ردوترولا موسیلاژینوزا* یکی از امیدوار کننده‌ترین میکروارگانیسم‌ها برای تولید تجاری کاروتنوئیدها خواهد بود(۳۷)

Monishdeep و همکاران (۲۰۲۲) پژوهشی را بر روی رنگدانه‌های میکروبی به‌عنوان منابع رنگ طبیعی انجام دادند. در این بررسی، منابع مختلفی از رنگدانه‌های میکروبی ارائه شده و خواص بیولوژیکی و بالینی آنها مانند آنتی‌بیوتیک، آنتی‌اکسیدان، ضد سرطان و ضد التهاب بررسی شد. این مطالعه همچنین بر پارامترهای کلیدی برای بهبود زیست سازگاری و تولید رنگدانه‌های میکروبی برای استفاده تجاری آنها در زمینه‌های دارویی و پزشکی تاکید دارد که مشابه پژوهش حاضر نیز بود(۳۸).

Narsing و همکاران (۲۰۱۷) با برنامه‌های گسترده به بررسی انواع مختلف رنگدانه‌های قارچی و باکتریایی به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه پرداختند که در مقایسه با سایر رنگ‌ها، دارای مزایای فراوانی از جمله رشد سریع، پردازش آسان و استقلال شرایط آب و هوایی می‌باشند که متفاوت از پژوهش حاضر بود. اما دررابطه با رنگدانه‌های باکتریایی و قارچی که دارای خواص بیولوژیکی زیادی مانند فعالیت آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی و ضد سرطانی هستند مشابه پژوهش حاضر بود (۳۹). در این پژوهش از پساب کارخانجات فراورده‌های گوشتی، مرباجات و کنسرو سازی نمونه‌برداری شد. سپس، ۵ جدایه مخمری جداسازی شد و براساس نتایج مورفولوژی و بیوشیمیایی شناسایی اولیه انجام شد و بر اساس نتایج به‌دست آمده، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به جدایه ۲،۱ و ۵ بود و بر اساس نتایج ژنتیکی بیشترین فعالیت مربوط به سه جدایه بود.

جدایه۱ مربوط به *Rhodotorula sp.EY12114 (LC229721.1)* جدایه ۲ مربوط به *Rhodotorula mucilaginosa isolate OMA Y14 (KR2649021* و جدایه ۵ مربوط به *Rhodotorula mucilaginosa isolate ITS1 (MG0206871)* شناسایی شد که گونه اول بیشترین میزان رنگدانه را تولید کرد..

تولید رنگدانه از یک سویه بومی با توجه به ارزان بودن، در دسترس بودن و بومی بودن سویه می‌تواند در صنایع غذایی بسیار با اهمیت باشد. با توجه به سازگاری سویه‌های بومی با شرایط نگهداری و آب‌وهوایی یک کشور و پایداری بیشتر، ارائه و معرفی یه سویه بومی به صنایع مختلف از اهمیت زیادی برخوردار است. مخمرها در جنس *رودوترولا* سنتز رنگدانه کاروتنوئید را انجام می‌دهند. ترکیبات اصلی تولید شده توسط این مخمر تورولن و تورالارودین می‌باشد.(۳۲)

این رنگدانه قابلیت کاربرد در صنایع غذایی، آرایشی، منسوجات و سایر صنایع را دارد. برطبق مطالعات محققان غلظت مناسبی از رنگدانه‌های مخمری می‌توانند بدون عوارض جانبی بر روی دستگاه گوارش انسان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و نگهدارنده طبیعی مواد غذایی استفاده شوند. همچنین، این رنگدانه می‌تواند جاگزین مناسبی برای رنگ‌های مصنوعی کاربردی مواد غذایی باشد و به بهبود کیفیت مزه برخی از ترکیبات گوشتی نیز کمک کند(۳۳).

از سویی جداسازی مخمرها از پساب کارخانجات مواد غذایی، می‌تواند سبب کاربردی شدن پساب‌های بدون استفاده و آلوده کننده محیط‌زیست باشد. کاربرد این مخمرها در صنعت تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان، تولیدپروتئین‌های تک یاخته، تصفیه محیط و غیره می‌تواند، در پیشرفت صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی، زیست پالایی و تولید مکمل‌های غذایی دام و طیور بسیار مفید باشد و مفهومی واقعی از بیوتکنولوژی ارائه کند. برای مصرف این رنگدانه‌های زیست سازگار با منشاء میکروبی، سنجش سمیت رنگدانه ضروری است. همچنین، مشخص کردن ژن تولید رنگدانه و تاثیر عوامل محیطی بر روی بیان ژن و دستکاری ژنتیکی رودوترولا جدا شده برای بهینه‌سازی تولید رنگدانه بیشتر مورد نیاز در تولید فراورده‌های صنعتی می‌باشد.

تشکر وقدر دانی

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

نویسندگان از کادر آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال کمال تشکر را دارند.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تضاد منافعی در این پژوهش وجود ندارد.

میزان مشارکت

ایده و پروتکل اصلی، آنالیز داده‌ها و مطالعه مفهوم و طراحی نوشتن مقاله و بازنگری نسخه چاپ نشده توسط محدثه لاری‌پور انجام شد و اجرای پروژه و ارائه داده‌ها با همراهی مینا شکری انجام شد.

منابع

1. Chen, Y.-S., F. Yanagida, and L.-Y. Chen, Isolation of marine yeasts from coastal waters of northeastern Taiwan. Aquatic Biology, 2009. **8**(1): p. 55-60.

2. Brandão, L.R., et al., Yeasts from an oligotrophic lake in Patagonia (Argentina): diversity, distribution and synthesis of photoprotective compounds and extracellular enzymes. FEMS microbiology ecology, 2011. **76**(1): p. 1-13.

3. Tamang, J.P. and G.H. Fleet, Yeasts diversity in fermented foods and beverages, in Yeast Biotechnology: Diversity and Applications. 2009. Springer. p. 169-198.

4. Beiranvand, S., Larypoor, M., & Norozi, J. Optimization of beta-carotene production of Rhodotorula mucilaginosa isolated from the waste leather factory. Journal of Microbial World, 2019.**12**(1), 39-52.5.

5. Hesham, A.E.-L., et al., Biodegradation of high molecular weight PAHs using isolated yeast mixtures: application of meta-genomic methods for community structure analyses. 2012. **19**(8): p. 3568-3578.

6. Michelon, M., et al., Extraction of carotenoids from Phaffia rhodozyma: A comparison between different techniques of cell disruption. 2012. **21**(1): p. 1-8.

7. Pavlova, K.I., Production of polymers and other compounds of industrial importance by cold-adapted yeasts, in Cold-adapted Yeasts. 2014. p. 397-415.

8. García-Chavarría, M., M.J.R.J.o.F. Lara-Flores, and Hydrobiology, The use of carotenoid in aquaculture. 2013. **8**(2): p. 38-49.

9. Tkáčová J, Čaplová J, Klempová T, Čertík M. Correlation between lipid and carotenoid synthesis in torularhodin-producing Rhodotorula glutinis. Annals of Microbiology. 2017. **67**(8): p. 541-51.

10. Sevgili A, Erkmen O. Improved lycopene production from different substrates by mated fermentation of Blakeslea trispora. Foods. 2019. **8**(4): p. 120.

11. Mata-Gómez LC, Montañez JC, Méndez-Zavala A, Aguilar CN. Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. Microbial cell factories. 2014. **13**(1): p. 1-1.

12. Sartaj K, Patel A, Gunjyal N, Prasad R. Photo-induced biomitigation of sewage wastewater by new isolate of Rhodotorula glutinis ISO A1–lipid augmentation and profiling. Renewable Energy. 2022. **1**(195): p.742-54.

13. Khodaiyan, F., S.H. Razavi, and S.M.J.B.E.J. Mousavi, Optimization of canthaxanthin production by Dietzia natronolimnaea HS-1 from cheese whey using statistical experimental methods. 2008. **40**(3): p. 415-422.

14. Lopes, S.C., et al., Violacein extracted from Chromobacterium violaceum inhibits Plasmodium growth in vitro and in vivo. 2009. **53**(5): p. 2149-2152.

15. Diraviyam, T., M. Radhakrishnan, and R.J.D.I.T. Balagurunathan, Antioxidant activity of melanin pigment from Streptomyces species D5 isolated from Desert soil, Rajasthan, India. 2011. **3**(3): p. 12-13.

16. Sesso, H.D., et al., Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in women. 2004. **79**(1): p. 47-53.

17. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. Archives of toxicology. 2020. **94**(3): p. 651-715.

18. Mohaddeseh L. Mycology، Theoretical and practical, First Edition، Islamic Azad University Tehran North Branch; 2021. 378 p.

19. Noviendri, D., R.F. Hasrini, and F.J.J.o.M.P.R. Octavianti, Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. 2011. **5**(33): p. 7119-7131.

20. Srinivasan, M., et al., Lycopene: an antioxidant and radioprotector against γ-radiation-induced cellular damages in cultured human lymphocytes. 2009. **262**(1): p. 43-49.

21. Singh P, Sharma A, Bordoloi M, Nandi SP. Molecular identification of endophytic fungi isolated from medicinal plant. Biointerface Research in Applied Chemistry. 2020.**10**: p. 6436-43.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

22. Pizot, C., et al., Physical activity, hormone replacement therapy and breast cancer risk: A meta-analysis of prospective studies. 2016. **52**: p. 138-154.

23. Kot, A.M., et al., Effect of initial pH of medium with potato wastewater and glycerol on protein, lipid and carotenoid biosynthesis by Rhodotorula glutinis. 2017. **27**: p. 25-31.

24. Yolmeh, M., M.J.B. Khomeiri, and a. biotechnology, Effect of mutagenesis treatment on antimicrobial and antioxidant activities of pigments extracted from Rhodotorula glutinis. 2017. **10**: p. 285-290.

25. Hernández-Almanza, A., et al., Rhodotorula glutinis as source of pigments and metabolites for food industry. 2014. **5**: p. 64-72.

26. Poorniammal, R., et al., Yeast carotenoids importance in food and feed industries and its health benefits–A review. 2013. **34**(4): p. 307-312.

27. Panesar, R.J.I.J.F.S.N., Bioutilization of kinnow waste for the production of biopigments using submerged fermentation. 2014. **3**: p. 9-13.

28. Soheili, M., M. KHANDAN, and M.J.M.-i.d.-i.u.-i.p.-i.A. Salami, Evaluation of Anti-Oxidant Activity of Lavandula angustifolia using DPPH Method. 2017. **19**(12): p. 70-77.

29. Mueller, G.M., J.P.J.B. Schmit, and conservation, Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict? 2007. **16**(1): p. 1-5.

30. Rizk SM, Magdy M. An indigenous inland genotype of the black yeast Hortaea werneckii inhabiting the great pyramid of Giza, Egypt. Frontiers in Microbiology. 2022. **26**(13): p.997495.

31. Hagler AN. Yeasts as indicators of environmental quality. In biodiversity and ecophysiology of yeasts 2006. p. 515-532. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

32. Mata-Gómez, L.C., et al., Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. 2014. **13**(1): p. 12.

33. Varela, J.C., et al., Production of carotenoids by microalgae: achievements and challenges. 2015. **125**(3): p. 423-436.

34. Aksu, Z. and A.T.J.P.B. Eren, Carotenoids production by the yeast Rhodotorula mucilaginosa: use of agricultural wastes as a carbon source. 2005. **40**(9): p. 2985-2991.

35. Tuli, H.S., et al., Microbial pigments as natural color sources: current trends and future perspectives. 2015. **52**(8): p. 4669-4678.

36. Rao, N., et al., Fungal and bacterial pigments: Secondary metabolites with wide applications. 2017. **8**: p. 1113.

37. Lin L, Xu J. Production of fungal pigments: Molecular processes and their applications. Journal of Fungi. 2022. 28:**9**(1): p.44.

38. Monishdeep, V., Deshpande, H. W., Poshadri, A., & Kumar, B. V. P. A review on potential microbial sourced bio-colours from fungi. Pharma Innov. J, 2022. **11**: p. 3200-3205.

39. Narsing Rao, M. P., Xiao, M., & Li, W. J. Fungal and bacterial pigments: secondary metabolites with wide applications. Frontiers in microbiology,2017. **8**: p.1113.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]

Evaluation of antioxidant properties of pigments isolated from yeasts of food factories

Mohaddeseh Larypoor [1*], Mina Shokri moghadam[2]

1. Assistant Professor of mycology, Faculty of biological Science, Department of Microbiology, Islamic Azad University Tehran North branch, Tehran, Iran
2. Department of biotechnology, Faculty of biological Science, Islamic Azad UniversityTehran North branch Tehran, Iran

Abstract

The pigment properties of native yeasts have been proven in biotechnology. The ability of pigment production and antioxidant properties of native yeast species are investigated in this research. Among the 26 wastewater of food samples, five yeast isolates were identified in the stages of sampling and biochemical, microscopic, and macroscopic diagnostic tests. The ability to produce pigment and its antioxidant properties were investigated by DPPH, TEAC, and IC50 methods in the samples. Compared with the standard strain, the selected strains were identified using the PCR method and phylogeny tree drawing using MEGA7 software. Based on the results, the better 3 isolates were isolate No.1 (Rhodotorula sp. EY12114 (LC229721.1)), isolate No.2 (Rhodotorula mucilaginosa OMA Y14 (KR2649021)) and isolate No.5 (Rhodotorula mucilaginosa ITS1 (MG0206871)). The highest amount of pigment production was related to isolate No.5 (39.028 PPM), compared to the standard sample Rhodotorula glutinis PTCC5256 (47.731 PPM). Isolation and commercialization of indigenous species from factory effluents and optimizing the production of their biocompatible industrial metabolites such as pigments, which are used as antioxidants, permitted edible colors, and preservatives in the production of food products, not only have high-quality industrial efficiency but also It is very economical.

Keyword: Pigment, Antioxidant, *Rhodotorula*

* mlarypoor@yahoo.com

[Downloaded from amfi.ir on 2025-09-14]