بررسی سوخت و ساز قارچ *مورتیرلا آلپینا* در شرایط بهینه تولید روغن و آراشیدونیک اسید با استفاده از روش سطح پاسخ

حمید رضا صمدلویی[۱]، زهره حمیدی[۲]*، سید مهدی علوی[۳]، محمد علی سحری[۴]، سلیمان عباسی[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی.
۲- دانشیار، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی.
۳- استادیار، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، گروه فیزیولوژی گیاهی
۴- استاد، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی.

(تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲۳ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۸)

چکیده

در این تحقیق شرایط بهینه تولید روغن و آراشیدونیک اسید توسط گونه قارچی *مورتیرلا آلپینا* CBS 754.68 از نظر میزان کربن (گلوکز) در پنج سطح(۴۵/۸، ۵۰، ۶۰، ۷۰ و ۷۴/۱۴ گرم در لیتر)، منبع نیتروژنی(پودر سویا) در پنج سطح(۷/۹۲، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۲/۰۷ گرم درلیتر) به روش آماری سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که برای تولید حداکثری روغن (۵۰٪)، گلوکز باید ۷۰ و پودر سویا ۱۰ گرم در لیتر باشد و برای تولید بهینه آراشیدونیک اسید (۵۶/۴۰٪) گلوکز۵۰/۳۵ و پودر سویا ۱۸/۳۰ گرم در لیتر باشد. در مرحله بعد تغییرات ترکیبات محیط کشت و توده زیستی در حین فرایند تخمیر در دو محیط کشت بهینه بررسی شد. نتایج نشان داد که تولید روغن و آراشیدونیک اسید به ترتیب با توقف رشد ریزسازواره و ذخیره روغن افزایش قابل توجه ای می یابد و ترکیبات فنولیک با رشد سلول و میزان روغن ریزسازواره ارتباط مستقیم دارد.

کلید واژگان: *مورتیرلاآلپینا*، تخمیر، آراشیدونیک اسید، روغن، روش آماری سطح پاسخ

* مسئول مکاتبات: hamidy_z@modares.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]

۱- مقدمه

امروزه مصرف غـذاهای فراسـودمند رونـد رو بـه افزایـشی دارد. اسـیدهای چـرب ضـروری از مهمتـرین مکمـل هـای غـذایی فراسودمند به شمار می رود که تاثیر قابل ملاحظه ای در سـلامتی انـسان دارد [۱]. اسـیدهای چـرب ضـروری، در چرخـه‌هـای بیوشیمیایی موجود زنده ساخته نمی‌شوند و بایـد از طریـق رژیـم غذایی تامین گردند. همه این اسیدهای چرب جزء گروه اسیدهای چرب بلند زنجیره چندغیراشباعی[1] تقسیم بندی می شوند [۲].

در بین اسیدهای چرب غیراشباع ضروری، آراشیدونیک اسـید بـا توجه به تاثیر آن، در رشد مغز و قدرت بینایی بیشتر مـورد توجـه قرار گرفته است و مصرف آن به عنوان مکمـل غـذایی در تغذیـه نوزادان و کودکان رو به افزایش است [۳].

با توجه به اهمیت این اسید چرب، اگـر چنـین تـصور شـود کـه آراشیدونیک اسید بطور وسیعی به‌عنوان مکمل مورد استفاده قـرار گیرند، میزان تولید سـالیانه فعلـی آن بـرای بـرآورده نمـودن ایـن تقاضا غیرکافی خواهد بود [۴]. با در نظر گرفتن این نکتـه تـلاش برای بدست آوردن منابع مناسب تولید این اسـید چـرب در حـال انجام است.

نتایج تحقیقات نـشان داده کـه کـشاورزی سـنتی و روغـن هـای حیوانی با توجه به پایین بـودن اسـیدهای چـرب غیراشـباع بلنـد زنجیره توانایی پاسخ گویی به نیاز روز افزون به این ماده ضروری نمی باشد [۵]. منبع اصلی PUFA روغن ماهی اسـت. امـا جـدا سازی وتخلیص PUFA ها از آن مشکل وپیچیده است. [۶].

بعد از اندکی تحقیق دانشمندان پی بردند کـه پروتـزوا، جلبـک و قارچ منبع مناسبی برای تولیـد روغـن بـا اسـیدهای چـرب چنـد غیراشباعی است. بنابراین ریزسازواره‌ها به عنوان منـشاء PUFA در زنجیره غذایی مورد توجه قرار گرفتند.

گونه های ریزسازواره ای که می توانند بیشتر از ۲۰٪ وزن خشک توده زیستی شان روغن تولید کنند معروف بـه ربزسـازواره هـای اولیگونوس[2] یا گونه روغنی[3] می باشند. در بین ریزسـازواره هـای روغنی، کپک‌ها بیشتر مورد بررسی قرار گرفته است توانایی تولید محـدوده وسـیع‌تـری از اسـیدهای چـرب، اسـتفاده از ضـایعات کشاورزی برای تولید محصول و رشد در محیط‌هایی با pH پایین از ویژگی های مثبت قارچ ها می باشد [۷].

در بین گونه های قارچی، گونه‌هایی از قـارچ رشـته‌ای *مـورتیرلا*[4] می‌توانند بیش از ۴۰٪ چربی در خود ذخیره کنند که بیشتر از ۴۰٪ این میزان را آراشیدونیک اسید تشکیل می‌دهد [۱۰-۸].

با توجه به اهمیت قارچ *مـورتیرلا آلپینا*[5] بـه علـت تولیـد بـالای آراشیدونیک اسـید تحقیقـات وسـیعی در زمینـه بررسـی شـرایط مناسب کشت موثر در تولید آراشیدونیک اسید به عمل آمده است [۱۶-۱۱]. با مروری به مقالات انجام شده چنین نتیجـه مـی شـود که با بهینـه کـردن شـرایط فیزیکوشـیمیایی کـشت، میـزان تولیـد آراشیدونیک اسید و روغن افزایش مـی یابـد. از ایـن رو در ایـن تحقیق با استفاده از روش آماری سطح پاسخ تـاثیر دو گوهرمایـه[6] کلیدی کربن (گلـوکز) و نیتـروژن (پـودر سـویا) مـوثر در تولیـد روغن و آراشیدونیک اسید بهینه شد. و در نهایت با بدست آمـدن شرایط کشت بهینه تغییرات محیط کشت از نظـر میـزان گلـوکز و نیتروژن و تغییـرات تـوده زیـستی، ترکیبـات فنولیـک، روغـن و آراشیدونیک اسید در روزهای ۲، ۳، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ بررسی شد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

در این تحقیق قـارچ *مـورتیرلا آلپینا* CBS[7]۷۵۴/۶۸ از مجموعـه میکروبی کشور هلند[8] خریداری شد. نمونه قـارچ *مـورتیرلا آلپینا* خریداری شده به صورت میسلیوم در لوله آزمایش آگار شیب‌دار[9] بود که بر روی محـیط کـشت مالـت آگـار در بـشقابک[10] و لولـه آزمایش آگار شیب‌دار در درجه حـرارت ۲۲°C و مـدت زمـان ۷ روز کشت داده شد و تا انجام آزمون نمونه ها در یخچال ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شد همچنین مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق همگی از شرکت مرک آلمان خریداری شد.

1. Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA)
2. Oleagious species
3. single cell oil

4. *Mortierella*
5. *Mortierella alpine*
6 Substrate
7. *Mortierella alpina* CBS 754.68
8. Centraalbureau voor Schimmelcultures
9 Slant agar
4 Petri dish

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]

۲-۲- مایه تلقیح و کشت‌های اصلی

از سوسپانسیون میسلیومی برای تلقیح کشت‌های تولید محصول استفاده شد [۱۸]. برای تهیه سوسپانسیون میسلیومی، ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت شامل گلوکز تک آبه (g/L ۳۰) و عصاره مخمر (g/L ۱۰) در یک ارلن ۵۰۰ میلی لیتری تهیه شد، در درجه حرارت ۱۲۱°C و ۱۵ دقیقه سترون گردید. سپس بوسیله آنس سترون ریزسازواره تلقیح شده و در درجه حرارت ۲۶°C به مدت ۷۲ ساعت و ۱۷۰ دور بر دقیقه[1] گرمخانه‌گذاری شد [۱۹]. ۳ تا ۱۰٪ از کشت‌های توسعه تلقیح به‌عنوان مایه تلقیح به محیط کشت تولید محصول افزوده شد. محیط کشت تولید محصول با بهینه کردن میزان گوهرمایه کربنی و نیتروژنی محیط کشت با استفاده از روش سطح پاسخ به دست آمد. در این تحقیق دما (۲۱ درجه سانتی گراد)، pH (۶) و دورهمزن (۱۸۵ دور در دقیقه) از ثابت های آزمون می باشد.

۲-۳- اندازه‌گیری وزن خشک توده زیستی

برای جداسازی توده زیستی از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱، بر روی قیف بوخنر مجهز به پمپ خلاء استفاده شد. سپس برای اندازه‌گیری وزن خشک سلولی[2] آنها را بر روی شیشه‌های ساعت قرار داده و به مدت ۲ ساعت در آون با درجه حرارت ۱۰۵°C خشک شد [۲۰].

۲-۴- استخراج چربی

برای استخراج چربی ها توده زیستی خشک شده در هاون چینی خرد شد. چربی پودر حاصله با حلال نرمال هگزان در دستگاه سوکسله استخراج گردید [۲۱].

۲-۵- اندازه گیری اسیدهای چرب

برای تعیین و اندازه‌گیری اسیدهای چرب، با توجه به عدم فراریت اسیدهای چرب بایستی مشتق‌های متیل استر آنها را تهیه نمود. بعد از مشتق‌سازی، اسیدهای چرب متیله به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق شد [۲۲]. سپس با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی(Unicam 4600, England)، نوع اسید چرب براساس مقایسه زمان بازداری[3] با زمان بازداری استاندارد پنتادوکونوئیک اسید تعیین گردید. مقدار اسیدچرب آنها براساس روش استاندارد داخلی اندازه‌گیری شد [۲۲].

۲-۶- اندازه گیری قند احیا به روش DNS[4]

نمونه محیط کشت درروزهای ۲، ۳، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ تخمیر برداشت شده، توده زیستی از محیط کشت با سانتریفوژ کردن در ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه از محیط کشت جدا شده و میزان قند محیط کشت به روش DNS اندازه گیری شد [۲۳].

۲-۷- اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک

ابتدا نمونه های حاوی توده زیستی قارچی *مورتیرلا* در روزهای ۲، ۳، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ تخمیر برداشت شده، توده زیستی با سانتریفوژ کردن در ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه از محیط کشت جدا شده و خشک شد، سپس نمونه های خشک شده با استفاده از هاون چینی خرد گردید. سپس یک گرم نمونه توزین شد به آن چهار میلی لیتر حلال (هشتاد قسمت متانول به بیست قسمت آب) اضافه شد به مدت ۳ ساعت در دستگاه فراصوت (Transsonic Tp 690/H, Germany) در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. نمونه ها سانتریفیوژ شده و محلول شفاف رویی برای اندازه گیری ترکیبات فنولیک برداشته شد. برای اندازه گیری ترکیبات فنولیک از روش واترهوس[5] در سال ۲۰۰۲ استفاده شد [۲۴].

۲-۸- طرح آزمایشی

بهینه‌سازی به روش سطح پاسخ[6]انجام شد. در این مرحله عوامل کلیدی منبع کربنی (گلوکز) و منبع نیتروژنی (پودر سویا) در ۵ سطح در نظر گرفته شد (جدول ۱). از طرح مرکب مرکزی[7] با ۱۰ آزمایش که شامل ۲ آزمایش در نقطه مرکزی است (هدف از تکرار در نقطه مرکزی، بررسی خطای آزمایش در طرح است) استفاده شد. آزمون ها در دو تکرار انجام گرفت (جدول ۲). ضریب‌های رگرسیون و منحنی‌های سطح پاسخ و کنتور توسط نرم‌افزار (Design expert, USA) محاسبه و رسم شد.

1. Revolution per minute (rpm)
2. Dry cell weight (DCW)
3. Retention time
4. Dinitrosalicylic acid
5. Waterhouse
6. Response surface methodology (RSM)
7. Central composite design (CCD)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]

۳- نتیجه و بحث

۳-۱- بهینه سازی به روش آماری سطح پاسخ

آزمایش های بهینه سازی، بدست آوردن یک مدل ریاضی برای پیش بینی رفتار فرایند می باشد [۲۵]. طرح های بهینه سازی از عوامل کمتری برخوردار بوده ولی این عوامل شدیدا تاثیر گذار می باشند. از آنجائی که هدف از این مرحله تحقیق افزایش میزان آراشیدونیک اسید و روغن می باشد، دو ترکیب کلیدی کربن (گلوکز) و نیتروژن (پودر سویا) با توجه به مطالعات و کارهای تحقیقاتی انجام شده انتخاب گردید و میزان این دو ترکیب به منظور افزایش تولید روغن و آراشیدونیک اسید به روش آماری RSMبهینه شد. طرح مرکب مرکزی روش سطح پاسخ به همراه میزان واقعی و پیش بینی شده داده ها در جدول ۲ گزارش شده است.

معادله (۲ و ۱) مدل رگرسیون را برای روغن و مقدار آراشیدونیک اسید در توده زیستی پس از تجزیه و تحلیل نتایج توسط نرم‌افزار Desing expert نشان می‌دهد. مقدار عددی ضریب تعیین (R^2) برای دو فرمول آراشیدونیک اسید و روغن به ترتیب ۰/۹۵ و ۰/۹۷ نشان‌دهنده میزان انحراف داده‌ها از مدل رگرسیون می‌باشد و می‌توان چنین نتیجه گرفت که مدل‌های رگرسیون بخوبی توانسته‌اند رابطه بین شرایط کشت (گلوکز و پودر سویا) و میزان آراشیدونیک اسید و روغن در توده زیستی را نشان داده و پیش‌بینی کنند. همچنین مدل نهایی دارای عدم تطابق[1] غیر معنی‌دار است که نشان دهنده برازش خوب مدل می باشد. جدول ۳ ضریب‌های رگرسیون و مقادیر P را برای مدل‌های رگرسیون نشان می‌دهد.

همانطور که از جدول ۳ مشخص است اثرات خطی پودر سویا و گلوکز در میزان روغن و آراشیدونیک اسید در محیط کشت، معنی‌دار می‌باشند ($P<0.01$). اثرات متقابل گلوکز-پودر سویا برای مقدار آراشیدونیک اسید و روغن در توده زیستی معنی‌دار نمی‌باشند ($P>0.01$). در مورد اثرات درجه دوم بر تولید روغن تمام عوامل معنی‌دار نمی‌باشد ($P>0.01$). ولی اثر درجه دوم منبع کربنی برای تولید آراشیدونیک اسید معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$). ضرایب مدل چند جمله ای درجه دوم پس از تجزیه و تحلیل توسط نرم افزار و حذف عبارت‌های غیرمعنی دار توسط روش Forward در نرم افزار بدست آمد و نتیجه حاصل معادله (۱) و (۲) می باشد.

$$Y_1 = 78.49318 - 6.67638 \times A - 0.13588 \times B + 0.030000\ A \times B + 0.088571 \times A^2 \quad (1)$$

$$Y_2 = 25.71204 + 4.64248 \times A - 0.059987 \times B - 0.025000\ A \times B - 0.084286 \times A^2 \quad (2)$$

میزان Y1 و Y2 به ترتیب مربوط به درصد روغن در وزن خشک سلولی و درصد آراشیدونیک اسید در روغن می باشد. A و B به ترتیب مربوط به میزان گلوکز و پودرسویا بر حسب گرم در لیتراست.

۳-۲- نتایج میزان روغن

شکل ۱ تاثیر سطوح مختلف گلوکز و پودر سویا را بر روی میزان روغن نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که نمودار کنتور روغن بصورت ماکزیمم ساده[2] و شکل سطح پاسخ آن بصورت صفحه ای می باشد. بنابراین بیشترین مقدار روغن در بالای صفحه بدست می‌آید و هرچه به سمت پائین حرکت کنیم، روغن کاهش می‌یابد. در واقع کنتور نشان می دهد که هر چه میزان کربن افزایش و پودر سویا کاهش می یابد میزان روغن افزایش می یابد. بیشترین مقدار روغن در غلظت گلوکز (۶۰-۷۰ g/L) و پودر سویا (۱۰ g/L) بدست می‌آید.

۳-۳- نتایج میزان آراشیدونیک اسید

شکل ۲ تاثیر سطوح مختلف گلوکز و پودر سویا را بر روی آراشیدونیک نشان می‌دهد. منحنی کنتور آراشیدونیک اسید بصورت لبه بالارونده[3] است.همانطور که در کنتور مشاهده می شود افزایش میزان نیتروژن تاثیر قابل توجه ای در تولید آراشیدونیک اسید دارد. به طوری که افزایش میزان پودر سویا (۱۵-۲۰ گرم در لیتر) و کاهش غلظت گلوکز (۴۵-۵۰ g/L) موجب افزایش آراشیدونیک اسید می‌شود.

1. Lack of fit

2. Simple maximum
3. Rising ridge

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]

جدول۱ میزان واقعی و کد شده متغییرهای غیروابسته در روش آماری RSM

عامل	سطح				
	کد شده				
	-۱/۴۱۴۲	-۱	۰	۱	۱/۴۱۴۲
	واقعی				
پودر سویا (گرم در لیتر)	۷/۹۳	۱۰	۱۵	۲۰	۲۲/۰۷
گلوکز (گرم در لیتر)	۴۵/۸۵	۵۰	۶۰	۷۰	۷۴/۱۴

جدول۲ جدول طراحی آزمایش ها و نتایج واقعی و پیش بینی شده از دو متغییر اعمال شده بر روی پاسخ در روش آماری RSM

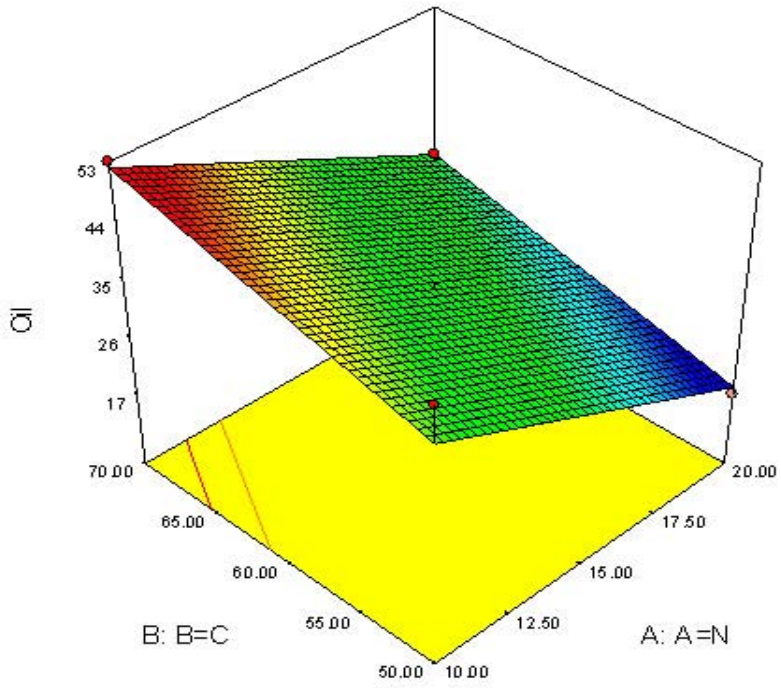
			میزان آراشیدونیک اسید (درصد)		میزان روغن (درصد)	
نمونه	پودر سویا (B)	گلوکز (A)	پاسخ مشاهده شده	پاسخ پیش بینی شده	پاسخ مشاهده شده	پاسخ پیش بینی شده
۱	۱	-۱	۵۶±۰/۱	۵۶/۶۷	۱۷±۰/۵	۱۷/۴۲
۲	۰	۰	۵۱±۰/۱	۵۰/۹۹	۳۳±۰/۴	۳۲/۵۰
۳	۱	۱	۴۶±/۲	۴۵/۴۷	۳۰±۰/۵۶	۳۲/۱۳
۴	۰	۰	۵۱±۰/۱۵	۵۰/۹۹	۳۲±۰/۶	۳۲/۵۰
۵	۰	-۱/۴۱	۵۶±۰/۱۳	۵۵/۹۰	۲۴±۰/۳	۲۵/۸۴
۶	۰	۱/۴۱	۴۲±۰/۱	۴۳/۶۰	۴۳±۰/۵	۴۲/۴۱
۷	۱/۴۱	۰	۵۱±۰/۲	۵۰/۵۹	۲۴±۰/۴	۲۱/۹۳
۸	-۱	۱	۴۴±۰/۱۴	۴۱/۸۳	۵۳±۰/۶	۵۱/۳۳
۹	-۱/۴۱	۰	۴۰±۰/۱	۴۱/۹۱	۵۰±۰/۶	۵۳/۳۱
۱۰	-۱	-۱	۴۹±۰/۱۶	۴۸/۰۳	۴۶±/۵	۴۲/۶۱

جدول ۳ پارامترهای ANOVA برای مدل آراشیدونیک اسید و روغن (A گلوکز و B پودر سویا)

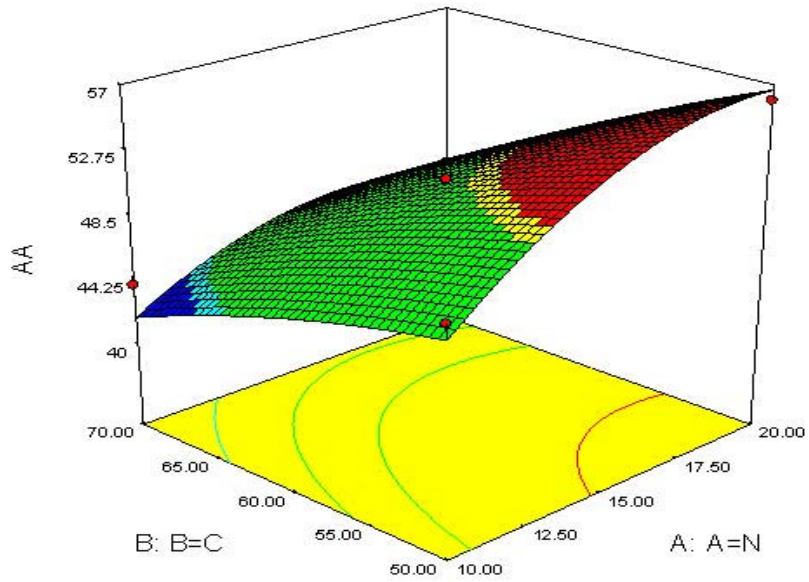
	مجموع مربعات		درجه آزادی		میانگین مربع		F		P	
	روغن	آراشیدونیک	روغن	آراشیدونیک	روغن	آراشیدونیک	روغن	آراشیدونیک	روغن	آراشیدونیک
مدل	۱۲۹۶/۰۶	۲۵۷/۸۶	۴	۴	۳۲۴/۰۲	۶۴/۴۷	۳۹	۱۷/۲۲	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۲۲
A	۹۸۵	۷۵/۳۸	۱	۱	۹۸۵	۷۵/۳۸	۱۱۸/۵۷	۲۵/۹۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۳۸
B	۲۷۴/۶۰	۱۵۱/۳۷	۱	۱	۲۷۴/۶۰	۱۵۱/۳۷	۳۳/۰۵	۵۲/۰۶	۰/۰۰۲۲	۰/۰۰۰۸
AB	۹	۶/۲۵	۱	۱	۹	۶/۲۵	۱/۰۸	۲/۱۵	۰/۳۴۵۶	۰/۲۰۲۵
A^2	۲۷/۴۶	۲۴/۸۶	۱	۱	۲۷/۴۶	۲۴/۸۹	۳/۳۱	۸/۵۵	۰/۱۲۸	۰/۰۳۲۸
باقی‌مانده	۴۱/۵۴	۱۴/۵۴	۵	۵	۸/۳۱	۲/۹۱				
عدم تطابق	۴۱/۰۴	۱۴/۵۴	۴	۴	۱۰/۲۶	۳/۶۳	۲۰/۵۲		۰/۱۶۳۹	
خطای خالص	۰/۵۰	۰/۰۰۰	۱	۱	۰/۵۰	۰/۰۰۰				
همبستگی	۱۳۳۷/۶۰	۲۷۲/۴۰	۹	۹						

میزان R^2 برای دو فرمول آراشیدونیک اسید و روغن به ترتیب ۰/۹۵ و ۰/۹۷ می باشد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]



شکل ۱ منحنی RSM برای تولید روغن به وسیله قارچ *mortierella alpina* با متغییرهای پودر سویا (N) و گلوکز (C)



شکل ۲ منحنی RSM برای تولید آراشیدونیک اسید به وسیله قارچ *mortierella alpina* با متغییرهای پودر سویا (N) و گلوکز (C)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]

۳-۴- مقادیر بهینه پیش بینی شده توسط مدل درجه دوم برای متغییرها

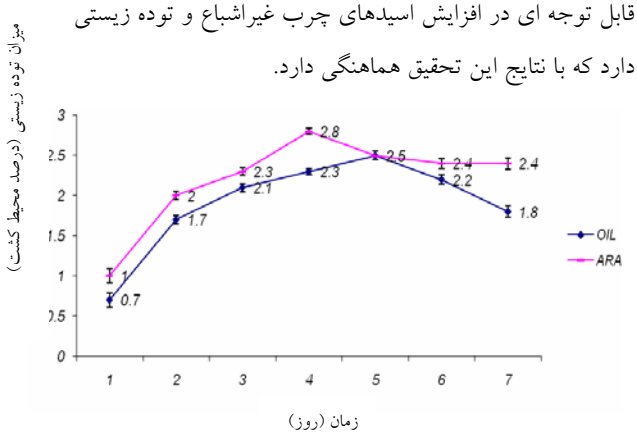
مقادیر بهینه پیش بینی شده با استفاده از نرم افزار Design Expert برای متغییر های گلوکز (A) و پودر سویا (B) به منظور تولید حداکثری روغن به ترتیب ۷۰ و ۱۰ گرم در لیتر می باشد میزان محصول ۵۰ درصد پیش بینی شد. در حالیکه مقادیر بهینه پیش بینی شده برای متغییر های گلوکز و پودر سویا به منظور تولید حداکثری آراشیدونیک اسید (۵۶/۴۰٪) به ترتیب ۵۰/۳۵ و ۱۸/۳۰ گرم در لیتر می باشد.

۳-۵- ارزیابی مدل رگرسیون تولید روغن و آراشیدونیک اسید

به منظور ارزیابی مدل، در آزمون هایی با دو تکرار شرایط پیش بینی شده مدل تولید روغن و اراشیدونیک اسید اعمال گردید. محیط کشت مناسب تولید آراشیدونیک اسید حاوی ۵۰/۳۵ گرم در لیتر گلوکز و ۱۸/۳۰ گرم در لیتر پودر سویا بوده pH اولیه ۶ تنظیم شد. محیط کشت مناسب تولید روغن به ترتیب حاوی ۷۰ و ۱۰ گرم در لیتر گلوکز و پودر سویا بود. پس از ۱۰ روز تخمیر میزان آراشیدونیک اسید ۵۶٪ و میزان روغن ۵۱٪ بدست آمد که با نتیجه پیش بینی شده از فرمول که آراشیدونیک اسید ۵۶/۴٪ و روغن ۵۰٪ می باشد نزدیکی قابل توجه ای دارد. میزان خطا به ترتیب ۰/۰۰۷ و ۰/۰۲ برای محیط بهینه آراشیدونیک اسید و روغن بدست آمد.

۳-۶- بررسی میزان تغییرات وزنی توده زیستی در حین فرایند تخمیر

روند رشد توده زیستی تحت تاثیر مواد مغذی محیط کشت و مرحله رشد ریزسازواره می باشد. کاهش مواد مغذی از عوامل موثر در کاهش رشد توده زیستی و حتی از بین رفتن آن می باشد. نتایج نشان داد میزان توده زیستی در محیط کشت مناسب تولید آراشیدونیک اسید تا روز ۴ و در محیط کشت مناسب تولید روغن تا روز ۵ افزایش پیدا کرده و از آن به بعد میزان توده زیستی در محیط کشت مناسب آراشیدونیک اسید و روغن کاهش می یابد. نکته قابل توجه اینکه در فاز رشد میزان توده زیستی محیط کشت مناسب تولید آراشیدونیک اسید بیشتر از محیط کشت تولید روغن می باشد (شکل۳). در تحقیقی که راتلج[1] در سال ۲۰۰۲ انجام شد (۲۶) نشان دادند که منبع نیتروژنی تاثیر قابل توجه ای در افزایش اسیدهای چرب غیراشباع و توده زیستی دارد که با نتایج این تحقیق هماهنگی دارد.



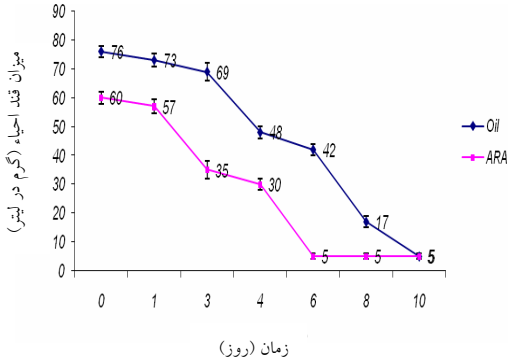
شکل۳ تغییرات میزان توده زیستی در محیط مناسب تولید روغن و آراشیدونیک اسید

۳-۷- مصرف گلوکز در حین فرایند تخمیر

گلوکز به عنوان منبع کربنی از دو لحاظ قابل اهمیت می باشد اولا به عنوان منبع انرژی به منظور فعالیت حیاتی ریزسازواره ضروری می باشند ثانیا به منظور تبدیل به محصول که در اینجا روغن می باشد ضروری است. در محیط کشت مناسب تولید روغن بیشترین کاهش گلوکز از روز ۳ به ۴ و روزهای ۶ تا ۱۰ می باشد. در محیط کشت مناسب تولید آراشیدونیک اسید روند کاهش متفاوت است. در روزهای ۱ به ۲ ریزسازواره باشدت کمتری قند را مصرف می کند در حالیکه بیشترین مصرف گلوکز در روزهای ۲ به ۳ و روزهای ۴ تا ۶ می باشد. در روز ۶ قند احیاء در محیط کشت به کمترین سطح خود می رسد و تا آخر فرایند در همین سطح باقی می ماند. (شکل۴).

1. Ratledge

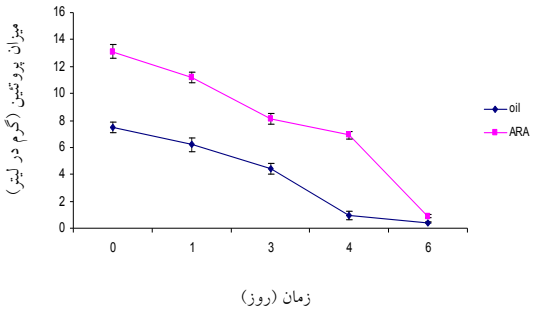
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]



شکل۴ تغییرات میزان قند احیاء در محیط مناسب تولید روغن و آراشیدونیک اسید

۳-۸- مصرف پروتئین در حین فرایند تخمیر

همانطور که مشاهده می شود در هر دو محیط کشت سریعا منبع پروتئینی تخلیه نشده و تا روز ۶ در محیط باقی می ماند نتایج بدست آمد مشابه نتایج زو[1] و همکاران در سال ۲۰۰۶ می باشد (۲۷). با مقایسه روند مصرف پروتئین و تولید روغن چنین استنباط می شود که با کاهش پروتئین، روند تولید روغن در ریزسازواره افزایش یافته نکته قابل توجه اینکه در محیط بهینه تولید روغن در کمترین سطح پروتئین و در شرایطی که رشد ریزسازواره متوقف شده تولید روغن افزایش قابل توجه ای می یابد. نتایج بدست آمده با نتایج راتلج[2] و همکاران در سال ۲۰۰۲ هماهنگی دارد (۲۶) که گزارش کرده بودند کاهش پروتئین محیط کشت عامل اصلی تولید روغن می باشد

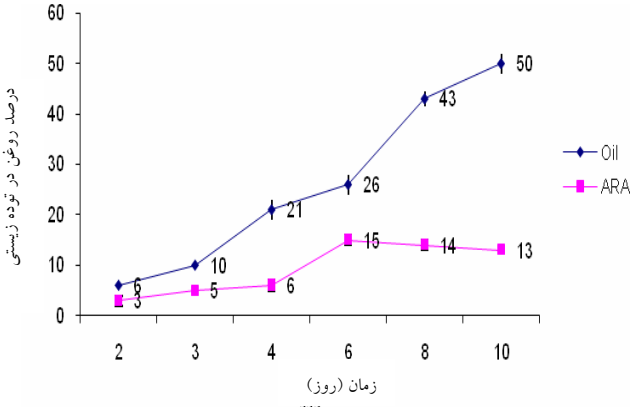


شکل۵ تغییرات میزان پروتئین در محیط مناسب تولید روغن و آراشیدونیک اسید

1. Zhu
2. Ratlage

۳-۸ - بررسی تغییرات روغن در حین فرایند تخمیر

محصول اصلی قارچ *مورتیرلا* روغن می باشد در واقع ریزسازواره منبع کربنی را به روغن تبدیل می کند، در شرایط کاهش مواد مغذی از روغن به عنوان منبع انرژی استفاده می کند [۲۶]. در محیط مناسب تولید روغن بیشترین افزایش روغن از روز ۳ به ۴ و روز ۶ به ۸ می باشد. روند این افزایش در روزهای ۲ به ۳ و ۸ به ۱۰ کند تر می باشد. نتایج نشان داد که روغن در محیط کشت مناسب تولید آراشیدونیک اسید از روز ۴ به ۶ بیشترین افزایش را داشته و از روز ۶ به بعد روغن کاهش می یابد (شکل ۶).



شکل ۶ تغییرات میزان روغن در محیط مناسب تولید روغن و آراشیدونیک اسید

۳-۹- بررسی تغییرات آراشیدونیک اسید در حین فرایند تخمیر

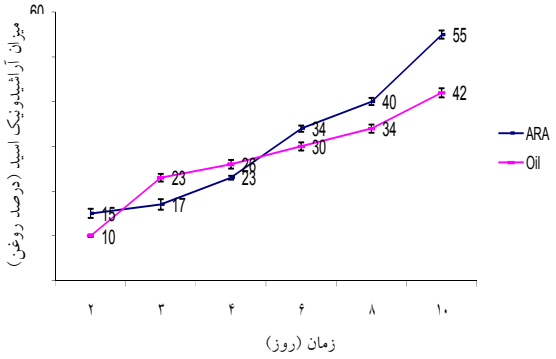
نتایج نشان داد که آراشیدونیک اسید در محیط مناسب تولید روغن یک روند افزایشی تند تا روز ۳ را داشته در این شرایط ریزسازواره آراشیدونیک اسید را در دیواره سلولی غشائی برای حفظ سیالیت غشائی ذخیره می کند و بعد از آن روند افزایشی کند و در انتها از روز ۸ به ۱۰ این روند تند شده در این شرایط آراشیدونیک اسید روغن ذخیره ای افزایش می یابد در تحقیقی که توسط سز –یونی[3] و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام شد (۲۹) نشان دادند در ابتدای رشد، میزان آراشیدونیک اسید درفسفولیپیدها بالا بوده و با افزایش سن میزان آراشیدونیک اسید

3. Sze-Yuen

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]

در فسفولیپیدها کاهش و در چربی خنثی افزایش می یابد. بیشترین میزان آراشیدونیک اسید در چربی خنثی ذخیره ای (۷۰ تا ۸۰٪) است که در حدود ۲ برابر فسفولیپیدها و ۱۰ برابر اسفنگولیپید-گلیکولیپید می باشد.

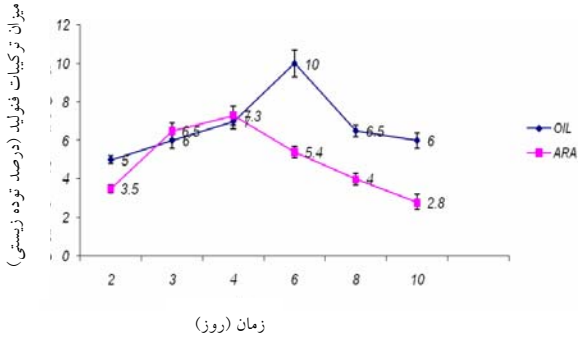
روند تولید آراشیدونیک اسید در محیط مناسب تولید آراشیدونیک اسید همواره رو به افزایش است مخصوصا وقتی تولید روغن در محیط کشت متوقف می شود (شکل-۷).



شکل۷ تغییرات میزان اراشیدونیک اسید در محیط کشت مناسب تولید روغن و آراشیدونیک اسید

۳-۱۰- بررسی تغییرات ترکیبات فنولیک در حین فرایند تخمیر

از آنجایی که این گونه قارچی توانایی تولید روغن بالایی داشته چنین استنباط شد که سازو کار به منظور محافظت از این ترکیب حیاتی که مورد نیاز رشدش می باشد را داشته باشد. در همین راستا میزان ترکیبات فنولیک در حین فرایند رشد ریزسازواره اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که در محیط کشت مناسب تولید روغن روند افزایش ترکیبات فنولیک بیشتر از محیط کشت مناسب تولید آراشیدونیک اسید می باشد. ترکیبات فنولیک تا روز ۶ در محیط مناسب تولید روغن افزایش می یابد و از آن به بعد شروع به کاهش می کند. در محیط مناسب تولید آراشیدونیک اسید ترکیبات فنولیک تا روز ۴ افزایش می یابد و از آن به بعد کاهش می یابد. این روند با روند رشد توده زیستی هماهنگ می باشد (شکل۸).



شکل۸ تغییرات میزان ترکیبات فنولیک در محیط مناسب تولید روغن وآراشیدونیک اسید

۳-۱۱- بحث

نتایج حاصل از بهینه سازی به روش سطح پاسخ نشان داد که افزایش مصرف پودر سویا به عنوان منبع پروتئین باعث شده میزان روغن کاهش و آراشیدونیک اسید افزایش یابد در حالیکه افزایش میزان کربن در سطح بالای ۵۰ گرم در لیتر، میزان روغن و آراشیدونیک را به ترتیب افزایش و کاهش می دهد. در واقع گوهرمایه کلیدی در افزایش آراشیدونیک اسید و روغن به ترتیب منبع نیتروژنی و کربنی می باشد. نتایج بدست آمده مشابه نتایج کوکی[1] و همکاران در سال ۲۰۰۱ [۳۰] می باشد که گزارش کرده بودند با افزایش منبع کربنی و کاهش سطح نیتروژن میزان روغن افزایش و آراشیدونیک اسید کاهش می یابد. در تحقیقاتی که توسط راکی و همکاران [۱۶] انجام شد گزارش کردند کاهش میزان منبع قندی با ثابت ماندن منبع نیتروژنی تاثیر مثبتی در تولید آراشیدونیک اسید دارد که با نتایج بدست آمده از این تحقیق هماهنگی دارد. رتلج[2] و همکاران در سال ۲۰۰۰ اعلام کردند [۲۸] با افزایش میزان نیتروژن در محیط کشت تولید روغن کاهش می یابد که نتایج بدست آمده گزارشهای اخیر را تایید می کند. آزمون بهینه سازی انجام شده دو محیط بهینه مختلف برای تولید روغن و آراشیدونیک اسید پیش بینی کرد. که در مرحله بعد تغییرات ترکیبات محیط کشت و محصول در حین فرایند تخمیر در این دو محیط بررسی شد.

میزان توده زیستی در محیط کشت مناسب تولید آراشیدونیک اسید تا روز ۴ روند افزایشی داشته در حالیکه در محیط کشت مناسب تولید روغن افزایش توده زیستی تا روز ۵ می باشد و از

1. Koike
2. Ratlage

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]

آن به بعد توده زیستی در هر دو محیط کاهش می یابد. ریزسازواره به علت کاهش مواد مغذی محیط و تولید محصولات ثانویه، وارد فاز سکون و مرگ می شود. در این مرحله قارچ که در محیط به صورت گویچه می باشد، از هم گسیخته و شروع به خرد و شکسته شدن می کند. کاهش اندازه و خرد شدن ریسه به علت تجزیه آنزیمی داخل سلولی می باشد در عین حال ریزسازواره به نیروی مکانیکی حساس تر می شود و تحت تاثیر نیروی مکانیکی همزن شروع به تخریب می کند. تحقیقات نشان داده که کاهش گلوکز و نیتروژن محیط کشت از عوامل اصلی ضعیف شدن دیواره سلولی بوده و باعث شده تا ریسه ها تحت تاثیر نیروی همزدن آسیب ببینند (۳۰). از این رو چنین تحلیل می شود که در اواخر فاز رشد به علت کاهش گلوکز و نیتروژن ریزسازواره به نیروی مکانیکی ناشی ازهمزدن حساس شده و شروع به تخریب و کاهش وزن می کند.

در محیط کشت مناسب تولید آراشیدونیک اسید بعد از توقف رشد ریزسازواره، مصرف گلوکز شدت یافته و میزان قابل توجه ای روغن در ریزسازواره ذخیره می شود. روند کاهش گلوکز با افزایش روغن در مرحله که رشد ریزسازواره متوقف شده هماهنگ می باشد. در حالیکه در مرحله رشد ریزسازواره میزان کاهش گلوکز با میزان تولید روغن مطابقت ندارد. در محیط مناسب تولید آراشیدونیک اسید، از روز ۲ به ۳ کاهش شدید گلوکز با افزایش همزمان روغن و توده زیستی همراه می باشد درحالیکه در روز ۶ که رشد متوقف شده، کاهش شدید قند با افزایش شدید روغن همراه بوده است. در مورد محیط کشت مناسب تولید روغن نیز به همین شکل است تا روز ۶ که ریزسازواره رشد کرده تولید روغن روند افزایشی کندی داشته از روز ۶ به بعد که رشد متوقف شده است روند تولید روغن شدیدا تحت تاثیر مصرف گلوکز افزایش می یابد. زو[1] و همکاران در سال ۲۰۰۶ [۲۷] گزارش کردند که تجمع اصلی روغن با توقف رشد ریزسازواره صورت می پذیرد. همچنین نشان دادند که که رشد ریزسازواره تحت تاثیر میزان گلوکز محیط کشت است و مقداری از گلوکز صرف افزایش توده زیستی می شود. در تحقیقی کیم[2] و همکاران در سال ۱۹۹۷ انجام دادند [۳۲] نشان داده شده که معمولا رابطه عکسی بین سرعت رشد و نرخ تجمع روغن در ریزسازوارهها وجود دارد. تحقیقات انجام شده نتایج بدست آمده از این تحقیق را تایید می کند.

در محیط بهینه تولید آراشیدونیک اسید روند کاهش پروتئین از روز ۱ به ۳ شدید بوده در این روزها روند افزایش توده زیستی نیز افزایش یافته است نکته قابل توجه اینکه از روز ۲ به ۳ مصرف گلوکز بالاست همزمان در این روز مصرف پروتئین نیز بالاست این افزایش مصرف با افزایش همزمان توده زیستی و روغن همراه است

در محیط کشت بهینه تولید روغن نیز بر همین ترتیب می باشد در شرایطی که مصرف گلوکز بالا است مصرف پروتئین نیز افزایش می یابد. در روز ۳ به ۴ که مصرف پروتئین و گلوکز بالا می باشد توده زیستی و روغن افزایش قابل توجه ای می یابند درحالیکه در روز ۶ به ۸ میزان مصرف قند احیاء بالا است در حالیکه پروتئین به پایین ترین حد خود رسیده و رشد توده زیستی متوقف شده است در این شرایط افزایش روغن قابل توجه می باشد. در محیط کشت بهینه تولید روغن کاهش پروتئین عامل اصلی توقف رشد می‌باشد.

نتایج آزمایشات نشان داد که روند تولید آراشیدونیک اسید نیز با توقف تولید روغن در محیط کشت مناسب تولید آراشیدونیک اسید افزایش قابل توجه ای می یابد. در حالیکه در محیط کشت مناسب تولید روغن همواره گلوکز مورد نیاز برای تولید روغن، در اختیار ریزسازواره می باشد و تا انتهای رشد تغییر منبع انرژی برای ریزسازواره بوجود نمی آید و همواره تولید آراشیدونیک اسید روند افزایشی کندتری نسبت به محیط کشت بهینه تولید آراشیدونیک اسید دارد.

در تحقیقی که توسط پنگ[3] و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام شده بود [۳۳] نشان دادند که میزان تولید آراشیدونیک اسید با تخلیه گلوکز و توقف ذخیره سازی روغن در محیط افزایش قابل توجه ای می یابد که با نتایج بدست آمده از این تحقیق هماهنگ می باشد. نتایج تحقیق اروشین[4] و همکاران در سال ۲۰۰۰ [۱۷] هاکی از آن بود که افزایش رشد با افزایش تولید روغن همراه می باشد در حالیکه آراشیدونیک اسید در فاز ساکن افزایش یافته در واقع

1. Zhu
2. Kim
3. Peng
4. Eroshin

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]

مرحله ساکن مرحله تبدیل اسیدهای چرب اشباع به غیراشباع می باشد.

در تحقیق که توسط زو[1] و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام شد [۲۷] چنین گزارش کردند که هنگامی که ذخیره سازی روغن متوقف می شود میزان قابل توجه ای آراشیدونیک اسید افزایش می یابد. همچنین در گزارشات مشابه ای، نتایج مرجع ۱۷ و ۳۴ نشان داد، که در فاز مرگ ریزسازواره از منبع روغنی برای تولید محصول هایی مانند آراشیدونیک اسید استفاده می کند.

با توجه به نتایج بدست آمده از تحقیقات انجام شده چنین تحلیل می شود که هنگامی ریزسازواره با کمبود گلوکز و مواد مغذی مواجه می شود از روغن به عنوان منبع انرژی استفاده کرده در واقع منبع کربنی از گلوکز به روغن تغییر می یابد و با توجه به اینکه روغن در اثر تجزیه، اسیدهای چرب بلند زنجیره در اختیار ریزسازواره قرار می دهد با انرژی کمتری نسبت به منبع کربنی گلوکزی آراشیدونیک اسید بوجود می آید از اینرو دراواخر فرایند، تولید آراشیدونیک اسید افزایش می یابد.

میزان ترکیبات فنولیک توده زیستی در محیط کشت تولید روغن به صورت قابل توجه ای بیشتر از محیط کشت مناسب آراشیدونیک اسید می باشد. با افزایش رشد توده زیستی میزان ترکیبات فنولیک افزایش و با کاهش رشد کاهش می یابد. با توجه به اینکه ترکیبات فنولیک از آنتی اکسیدان های اولیه به شمار می روند چنین می توان تحلیل کرد که با افزایش روغن میزان ترکیبات فنولیک برای جلوگیری از فساد اکسیداتیو روغن افزایش می یابد.

۴- منابع

[1] Annunziata, A. and Annunziata, R. (2011). Functional foods development in the European market: A consumer perspective. Journal of Functional Foods, 3: 223–228.

[2] Roncone, M., Bartlett, H. and Eperjesi, F. (2010). Essential fatty acids for dry eye: A review. Contact Lens and Anterior Eye, 33: 49–54.

[3] Hikiji, H. Takato, T. Shimizu, T. Ishii, S. (2010). The roles of prostanoids, leukotrienes, and platelet-activating factor in bone metabolism and disease . Progress in Lipid Research. 47: 107–126.

[4] Streekstra, H. (1997). On the safety of *Mortierella alpina* for the production of food ingredients, such as arachidonic acid. Journal of Biotechnology, 56: 153–165.

[5] Nisha, A., Rastogi, K. N. and Venkateswaran, G. (2011). Optimization of media components for enhanced arachidonic acid production by *Mortierella alpina* under Submerged Cultivation. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 16: 229–237.

[6] Karl, H., Ruoff, U. and Blüthgen, A. (2002). Levels of dioxins in fish and fishery products on the German market. Chemosphere, 49: 765–773.

[7] Papanikolaou, S., Papanikolaou, M. and Aggelis, G. (2004). Single cell oil (SCO) production by *Mortierella isabellina* grown on high-sugar content media. Bioresource Technology, 95: 287–291.

[8] Park, E. Y., Koike, Y., Higashiyama, K., Fujikawa, S. and Okabe, M. (1999). Effect of nitrogen source on mycelia morphology and arachidonic acid production in cultures of *Mortierella alpina*. Journal of Bioscience and Bioengineering, 88: 61–67.

[9] Park, E. Y., Hamanaka, T., Higashiyama, K. and Fujikawa, S. (2002). Monitoring of morphological development of the arachidonic acid producing filamentous microorganism *Mortierella alpina*. Applied Microbiology and Biotechnology, 59: 706–712.

[10] Radwan, S. S. and Soliman, S. S. (1988). Arachidonic acid from fungi utilizing fatty acids with shorter chains as sole source of carbone and energy. Journal of Genetic and Microbiology, 134: 387–393.

[11] Jang, H. D., Lin, Y. Y. and Yang, S. S. (2005). Effect of culture media and condition on polyunsaturated fatty acid production by *Mortierella alpine*. Bioresource Technology, 96: 1633–1644.

[12] Jin, M. J., Huang, H., Xiao, A. H., Zhang, K., Liu, X. and Peng, C. (2008). A novel two-step fermentation process for improved arachidonic acid production by *Mortierella alpine*. Biotechnol Letters, 30: 1087–1091.

[13] Sandra, D. D. and Suresh, S. N. (2005). Implications for the use of *Mortierella* fungi in

1. Zhu

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]

from lipid for gas chromatography analysis. Analytical Chemistry, 38: 514-518.
[23] Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry, 31: 426–428.
[24] Waterhouse, A. L. (2002). Wine phenolics. Annals of the New York Academy of Sciences, 957: 21–36.
[25] Strobel, R. J. and Sullivan, G. R. (1999). Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology (second ed.), ASM press, Washington, DC. pp: 80–93.
[26] Ratledge C. (2002). Regulation of lipid accumulation in oleaginous micro-organisms. Biochem Soc Transactions, 30: 1047-1050.
[27]Zhu, M., Yu, L., Li, L., Zhou, P. and Li, C. (2006). Optimization of arachidonic acid production by fed-batch culture of *Mortierella alpina* based on dynamic analysis. Enzyme Microbiology Technology, 38: 735–740.
[28] Higashiyama, K., Fujikawa, S., Park, E. Y. and Okabe, M., (1999). Image analysis of morphological chang arachidonic acid production by *Mortierella alpina*. J. Bioscience and Bioengineering, 87: 489–494.
[29] Sze Yuen, H. (2008). Genetic, lipidic and proteomic characterization of an arachidonic acid producing fungus, *Mortierella alpine*. University of Hong Kong, pp: 348.
[30]Koike, Y., Cai, J., Higashiyama, K., Fujikawa, S. and Park E. Y. (2001). Effect of consumed carbon to nitrogen ratio on mycelial morphology and arachidonic acid production in cultures of *Mortierella alpina*. Journal of Bioscience and Bioengrgy, 91: 382–389.
[31] Prosser, J. I. (1979). A model for hyphal growth and branching. Journal Gen Microbiol, 111: 153– 164.
[32] Kim, H. (1997). Lipid production in fungi. PhD. Thesis. Auburn University, Alabama, USA.
[33] Peng, C., Huang, H., Ji, X., Liu, X., You, J., Lu, J. and Cong, L. (2010). A temperature-shift strategy for efficient arachidonic acid fermentation by *Mortierella alpina* in batch culture. Biochemical Engineering Journal, 53: 92–96.
the industrial production of essential fatty acids. Food Reserch Internatinal, 38: 445–467.
[14] Hou, C. T. (2008). Production of arachidonic acid and dihomo-gama-linolenic acid from glycerol by oil-producing filamentous fungi, *Mortierella* in ARS Culture Collection. J Industrial Microbiol Biotechnology, 35: 501–506.
[15] Zhu, M., Yu, L. J., Li, W., Zhou, P. P. and Li, C.Y. (2005). Optimiztion of arachidonic acid production by fed-bath culture of *Mortierella* alpine based on dynamic analysis. Enzyme Microbial Technology, 38: 735–740.
[16] Rocky-Salimi, K., Hamidi, Z. and Abbasi, S. (2011). Statistical optimization of arachidonic acid production by *mortierella alpine* CBS 754.68 in submerged fermentation. Iranian Journal of Biotechnology, 9: 11–12.
[17] Eroshin, V. K., Dedyukhina, E. G., Satroutdinov, A. D. and Chistyakova, T. I. (2002). Growth-coupled lipid synthesis in *Mortierella* alpine LPM 301 a producer of arachidonic acid. Microbiology, 71: 169–72.
[18] Zhu, M., Zhou, P. P. and Yu, L. J. (2003). Extraction of lipid from *Mortierella alpina* and enrichment of arachidonic acid from the fungal lipids. Bioresource Technology, 84: 93–95.
[19] Singh, A. Ward, O. P. (1997). Production of high yields of arachidonic acid in a fed-batch system by *Mortierella alpina* ATCC 32222. Applied Microbiology and Biotechnology, 48: 1–5.
[20] Sakuradani, E., Hirano, Y., Kamada, N., Nojiri, M., Ogawa, J. and Shimizu, S. (2004). Improvement of arachidonic acid production by mutants with lower n-3 desaturation activity derived from *Mortierella alpina* 1S-4. Applied Microbiology and Biotechnology, 66: 243-248.
[21] Folsch, J., Lees, M. and Sloane-Stanely, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry, 226: 497-509.
[22] Metcalf, L. C., Schmitz, A. A. and Pelka, J. R. (1996). Rapid preparation of methyl esters

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]

Investigation of metabolism of *Mortierella alpina* in optimal condition for oil and arachidonic acid production using response surface methodology (RSM)

Samad loui, H. R. [1], Hamidi, Z. [2*], Alavi, S. M. [3], Sahari, S. A. [4], Abbasi, S. [2]

1. M.Sc. student of Faculty of Agriculture, Food Science and Technology Department, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Associat Professor, Faculty of Agriculture, Food Science and Technology Department, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
3. Assist. Professor, National Institute of Genetic Enginearing and Biotechnology, Plant Physiology Department, Tehran, Iran.
4. Professor, Faculty of Agriculture, Food Science and Technology Department, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

(Received: 89/5/23 Accepted: 89/10/8)

In this reasearch, optimal condition on oil and arachidonic acid production by *mortierella alpina* CBS 754.68 was investigated using response surface methodology. Tow factors which influencing arachidonic acid and oil production; including carbon source (glucose) in five levels (45.8, 50, 60, 70 and 74.14 g\l) and nitrogen source (soybean meal) in five levels (7.92, 10, 15, 20 and 22.07 g\l) were studied. Arachidonic acid and oil yield varied msignificantly in response to changes in concentration of soybean meal and glucose. The model predicted that, maximum production of AA (that is, up to %56.40) and oil (that is, up to %50.13) could be achieved using the medium containing (glucose 50.35 and soybean 18.30 g\l) and (glucose 70 and soybean 10 g\l), respectively. In the next stage change the medium composition and biomass during fermentation was investigated in two medium optimized. The results showed that oil and arachidonic acid production significant increase with fungi and storage oil stopped respectively. Phenolic compounds are directly related with cell growth rate and the amount of fungi oil.

Keyword: *Mortierella alpine,* Fermentation, Arachidonic acid, Oil, Response surface methodology

* Corresponding Author E-Mail Address: hamidy_z@modares.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-27]