

تولید اسیدهای چرب با قابلیت سوخت زیستی توسط مخمر یاروویا لیپولیتیکا از گلوکز

فرشاد درویشی^{۱*}، ناهیده سلمانی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۷

چکیده

چربی‌های میکروبی قابلیت استفاده در سوخت‌های زیستی، صنایع دارویی و غذایی دارند. تولید و کاربرد این چربی‌های میکروبی در مقایسه با روغن‌های گیاهی در حال افزایش است. هدف این تحقیق تولید چربی میکروبی توسط مخمر یاروویا لیپولیتیکا CBS6303 از گلوکز و بررسی نیم‌رخ اسیدهای چرب آن برای تعیین قابلیت سوخت زیستی بود. بیشترین مقدار تولید چربی و وزن خشک به ترتیب با مقدار ۱/۴۲ و ۷ گرم در لیتر پس از سه روز بدست آمد. چربی تولید شده توسط یاروویا لیپولیتیکا از گلوکز دارای اسیدهای چرب با قابلیت استفاده به عنوان سوخت زیستی می‌باشد که شامل اسید اولئیک (۳۴/۷۱ درصد)، اسید لینولئیک (۱۹/۴۵ درصد)، اسید پالمیتیک (۱۷/۰۵ درصد)، اسید استئاریک (۶/۱۲ درصد) و اسید میریستیک (۰/۸۲ درصد) بود.

واژه های کلیدی: چربی، روغن، میکروبی، نیم‌رخ.

مقدمه

صنعتی شدن دنیای کنونی، بحران انرژی و افزایش تقاضای انرژی موجب کاهش منابع سوخت‌های فسیلی مانند ذغال سنگ، نفت و گازهای طبیعی شده است. استفاده‌ی فراگیر از این سوخت‌ها مشکلاتی متعدد مانند کمبود منابع سوختی، آلودگی‌ها و مسائل زیست محیطی مانند اثرات گلخانه‌ای، سوراخ شدن لایه‌ی اوزون دارد. تجدیدنپذیر بودن و هزینه‌ی بالای از دیگر مشکلات استفاده از این سوخت‌ها می‌باشد. در همین راستا و در سال‌های اخیر، توجهات زیادی به سمت استفاده از سوخت‌های زیستی پاک به عنوان جایگزینی برای سوخت‌های فسیلی، معطوف شده است (Christophe *et al.*, 2012; Ghaly *et al.*, 2010; Katre *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2010; Matsakas *et al.*, 2015; Tchakouteu *et al.*, 2015).

نسل اول سوخت زیستی شامل تولید آن از طریق ترانس‌استریفیکاسیون تری‌گلیسیریدها می‌باشد که در مقیاس صنعتی در حال تولید است. وابستگی این نسل سوخت زیستی به چربی‌های حیوانی، ضایعات روغن و دانه‌های روغنی مانند آفتابگردان،

۱- استاد میکروبیولوژی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.

* (نویسنده مسئول: f.darvishi@maragheh.ac.ir)

۲- کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.

کلزا و سویا و بحران جهانی غذا موجب تحقیقات برای تولید نسل دوم سوخت‌های زیستی شده است که از مواد خام لیگنوسلولوزی و پساب‌های صنایع تولید می‌شوند. در سال‌های اخیر تحقیقات بر روی تولید بیودیزل از چربی میکروبی صورت گرفته است که از نظر اقتصادی بسیار کارآمدتر می‌باشد (Koutinas & Papanikolaou, 2011).

چربی‌ها یا لیپیدهای میکروبی، لیپیدهایی هستند که توسط میکروارگانیسم‌های روغنی تولید می‌شوند که به علت ترکیب اسید چرب مشابه با روغن‌های گیاهی، جایگزین‌هایی مناسب برای تولید سوخت زیستی می‌باشند (Christophe *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2013; Papanikolaou *et al.*, 2012). میکروارگانیسم‌هایی که توانایی ذخیره‌ی لیپید بیشتر از ۲۰ درصد وزن خشک خود را دارا هستند، به عنوان میکروارگانیسم روغنی (Oleaginous microorganisms) شناخته می‌شوند که در شرایط کمبود نیتروژن مقدار آن می‌تواند به حدود ۷۰ درصد وزن زیست توده یا بیشتر نیز برسد. این میکروارگانیسم‌ها به دلیل چرخه‌ی کوتاه رشد، محتوی لیپید بالا و راحتی تغییرات با روش‌های بیوتکنولوژی بیشتر مورد توجه هستند (Huang *et al.*, 2013; Mattanna *et al.*, 2014; Tsigie *et al.*, 2011).

مخمرها میکروارگانیسم‌های یوکاریوتی تک سلولی هستند که در تحقیق حاضر از مخمر *یارروویا لیپولیتیکا* (*Yarrowia lipolytica*) که قارچی دی‌مورف و نامتعارف است استفاده گردید که در ابتدا با نام *کاندیدا لیپولیتیکا* (*Candida lipolytica*) شناخته می‌شد ولی در سال ۱۹۸۰ وان در والت و آرکس (Van der walt & Von Arx)، به دلیل توانایی بالای این قارچ در تجزیه‌ی آن-پارافین‌ها و روغن‌ها اسم *یارروویا لیپولیتیکا* را برای این قارچ انتخاب کردند (Bankar *et al.*, 2009; Darvishi, 2012; Nicaud, 2014).

یارروویا لیپولیتیکا که توانایی ذخیره‌ی لیپید تا حدود ۴۰ درصد وزن خشک خود را دارد و میکروارگانیسمی مهم با کاربردهای بیوتکنولوژیکی فراوان است. پروتئین تک سلولی، اسیدهای آلی مانند اسید سیتریک، آنزیم‌ها (پروتازها، لیپازها، استرازها و فسفاتازها) و چربی میکروبی از فرآورده‌های اصلی دارای ارزش اقتصادی تولید شده توسط این مخمر است (Nicaud, 2014; Darvishi, 2012; Darvishi *et al.*, 2009; Darvishi *et al.*, 2011; Darvishi, 2012; Darvishi, 2014). اسید لینولئیک از جمله اسیدهای چرب ضروری ذخیره شده در *یارروویا لیپولیتیکا* که نقش مهمی در سلامتی دارد (Choque *et al.*, 2014; Gonçalves *et al.*, 2014).

هدف این تحقیق تولید چربی میکروبی توسط مخمر *یارروویا لیپولیتیکا* از گلوکز به عنوان منبع کربن و بررسی پروفایل اسید چرب و چربی تولید شده برای تعیین قابلیت مصرف آن به عنوان سوخت زیستی است.

مواد و روش‌ها

سویه‌ی مخمر

در این تحقیق از مخمر *یارروویا لیپولیتیکا* سویه‌ی CBS6303 (Yarrowia lipolytica CBS6303) استفاده گردید که از کلکسیون CBS (Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS)) هلند خریداری شده بود.

مواد شیمیایی

همه‌ی مواد استفاده شده در این تحقیق از شرکت مرک آلمان خریداری شد.

تهیه‌ی مایه تلقیح

از محیط YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose Agar) برای تهیه‌ی کشت تازه و فعال‌سازی مخمر استفاده گردید. سویه‌ی مورد نظر پس از کشت، به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۲۹ درجه‌ی سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس یک کلنی از مخمر فعال شده به ۲۰ میلی‌لیتر محیط پیش تولید که حاوی گلوکز ۱۵ گرم بر لیتر، پپتون ۱ گرم بر لیتر، عصاره مخمر ۰/۵ گرم بر لیتر، پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات ۱ گرم بر لیتر و سولفات منیزیم ۰/۵ گرم بر لیتر بود و در ارلن مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری تهیه شده بود منتقل گردید. ارلن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۹ درجه سانتیگراد و ۲۰۰ دور در دقیقه گرمخانه‌گذاری شد (Li-Xia *et al.*, 2009).

تهیه‌ی محیط تولید

۵۰۰ میکرولیتر از کشت ۲۴ ساعته سویه‌ی مخمر در محیط پیش تولید در شرایط استریل به محیط تولید که به مقدار ۵۰ میلی‌لیتر، در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری تهیه شده بود منتقل گردید و به مدت چهار روز در شرایط گرمخانه‌گذاری مشابه محیط پیش تولید گرمخانه‌گذاری شد. ترکیبات محیط تولید شامل گلوکز ۳۰ گرم در لیتر، پپتون ۱ گرم در لیتر، عصاره مخمر ۱ گرم در لیتر، سولفات منیزیم ۱/۵ گرم در لیتر، فسفات دی‌هیدروژن پتاسیم ۷ گرم در لیتر، فسفات دی‌هیدروژن سدیم ۲ گرم در لیتر بود که پس از حل کردن در آب مقطر استریل شد (Pan *et al.*, 2009).

اندازه‌گیری وزن خشک زیست توده

برای اندازه‌گیری وزن خشک زیست توده‌ی تولیدی، یک میلی‌لیتر از محیط کشت به ویال از قبل وزن شده منتقل با چرخش ۴۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب به دست آمده بعد از دو بار شستشو با آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت در آون با دمای ۸۰ درجه‌ی سانتیگراد قرار داده شد که در این مدت توده‌ی مخمری

کاملاً خشک و بدون آب گردید. بعد از ۲۴ ساعت و بال‌ها مجدداً وزن شدند که اختلاف وزن حاصل نشان‌دهنده‌ی مقدار زیست توده بر حسب گرم در لیتر بود (Chi et al., 2007).

سنجش میزان تولید چربی میکروبی

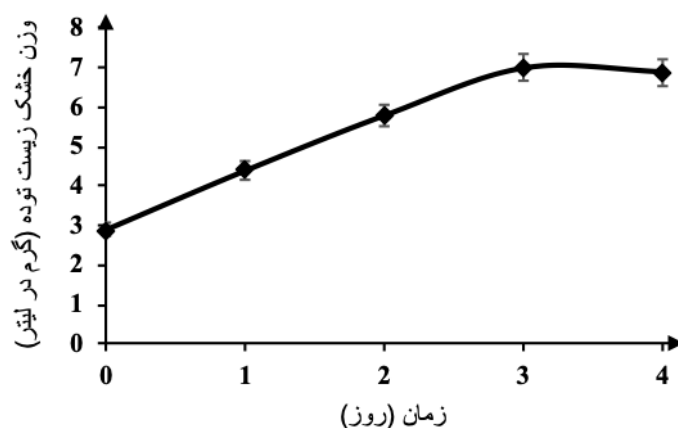
برای سنجش میزان چربی تولیدی روش اصلاح شده بلیق و دایر (Bligh & dyer) به کار رفت (Nambou et al., 2014). ابتدا برای به دست آوردن رسوب مخمری، مقدار ۵ میلی لیتر از محیط کشت در شرایط استریل به فالکون ۱۵ میلی لیتری منتقل شده و در سانتریفیوژ یخچال‌دار ۴۰۰۰ دور در دقیقه و با دمای چهار درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. هفت میلی لیتر از محلولی شامل اسید کلریدریک و آب (۶۰:۸۰) به رسوب حاصل اضافه و جوشانده شد و بعد از جوشیدن، بلافاصله ارلن درون آب یخ قرار گرفت و سپس ۳۰ میلی لیتر محلول مخلوط کلروفرم-متانول با نسبت ۳:۲ اضافه و به مدت یک ساعت در انکوباتور شیکردار با دمای ۳۷ درجه قرار داده شد. با گذشت یک ساعت دو فاز، فاز بالایی آبی و فاز زیرین آلی تشکیل می‌شود که محلول زیرین جدا شده و در آن ۸۰ درجه‌ی سانتیگراد قرار داده شد تا خشک شده و به وزن ثابت برسد. اختلاف وزن قبل و بعد از خشک شدن محلول، میزان لیپید تولیدی را نشان می‌دهد (Nambou et al., 2014).

تعیین نیم‌رخ اسید چرب با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنجی جرمی

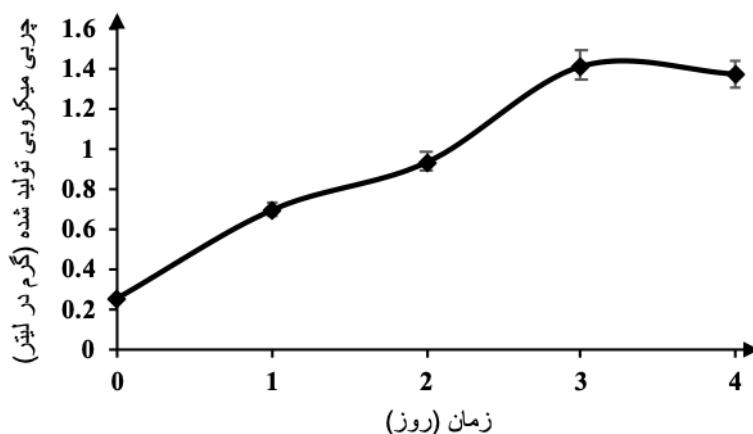
برای تعیین پروفایل اسیدهای چرب سازنده‌ی چربی میکروبی حاصل روش کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنجی جرمی مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا چربی میکروبی در بنزن و متانولیک کلرید هیدروژن پنج درصد حل گردید و به مدت دو ساعت رفلکس شد. سپس محلول کلرید سدیم پنج درصد به محلول اضافه گردید و متیل استرها‌ی اسیدهای چرب با هگزان استخراج شد. لایه‌ی حاوی هگزان با محلول پتاسیم بی‌کربنات پنج درصد شسته شد و توسط سولفات سدیم بی‌آب، آبگیری آن انجام شد (Ranga et al., 2007). یک میکرولیتر از متیل استر اسید چرب تهیه شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنجی جرمی مدل 7890B ساخت شرکت Agilent آمریکا، با ستون EZ-Guard TM: Capillary colum VF-5ms, (30m × 0.25mm × 0.50) با ستون (μm +10m) و برنامه‌ی دمایی ۱۳۰ تا ۱۸۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۳ °C/min تزریق شد و طیف‌های بدست آمده جهت بررسی اسیدهای چرب موجود، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

نتایج حاصل از وزن خشک و تولید چربی میکروبی در مخمر *یارروویا لیپولیتیکا* سویه‌ی CBS6303 (*Yarrowia lipolytica* CBS6303) در محیط حاوی گلوکز به ترتیب در شکل‌های (۱) و (۲) نشان داده شده است.

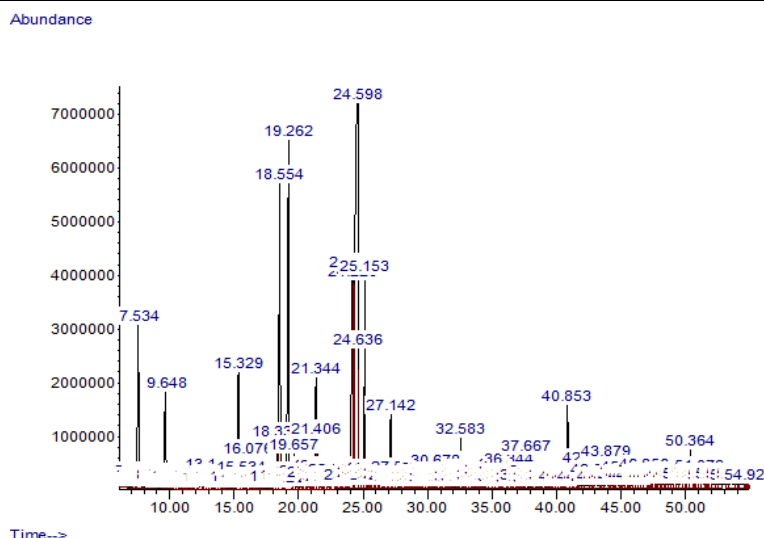


شکل ۱: نمودار وزن خشک زیست توده‌ی مخمر *یارروویا لیپولیتیکا* سویه CBS6303 (*Yarrowia lipolytica* CBS6303) بعد از خشک شدن در آون با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد در محیط تولید چربی میکروبی حاوی گلوکز در چهار روز



شکل ۲: نمودار تولید چربی میکروبی توسط *یارروویا لیپولیتیکا* سویه CBS6303 (*Yarrowia lipolytica* CBS6303) در محیط تولید حاوی گلوکز طی چهار روز

در روز سوم بعد از تلقیح بیشترین تولید چربی میکروبی با میزان ۱/۴۲ گرم در لیتر بدست آمد و وزن خشک زیست توده‌ی حاصل در همان روز برابر با ۷ گرم بود. بعد از به دست آوردن میزان تولید و نقطه‌ی اوج تولید چربی میکروبی در مخمر *یارروویا لیپولیتیکا* در حضور گلوکز به عنوان منبع کربن، چربی تولید شده جهت بررسی اسیدهای چرب موجود با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی متیله شد که دیاگرام آن در شکل (۳) و نتایج حاصل در جدول (۱) نشان داده شده است.

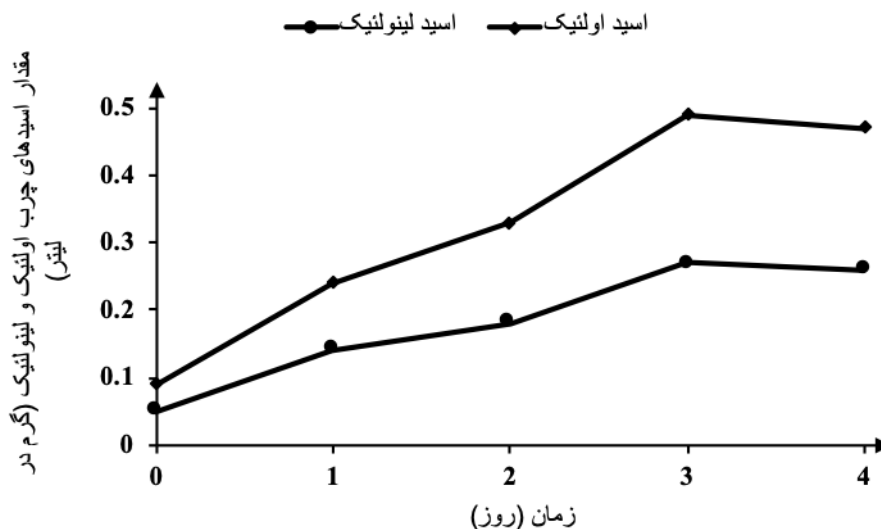


شکل ۳: دیاگرام نتایج حاصل از کروماتوگرافی گازی - طیف سنجی جرمی چربی میکروبی تولید شده توسط یاروویا لیپولیتیکا سویه CBS6303 (*Yarrowia lipolytica* CBS6303)

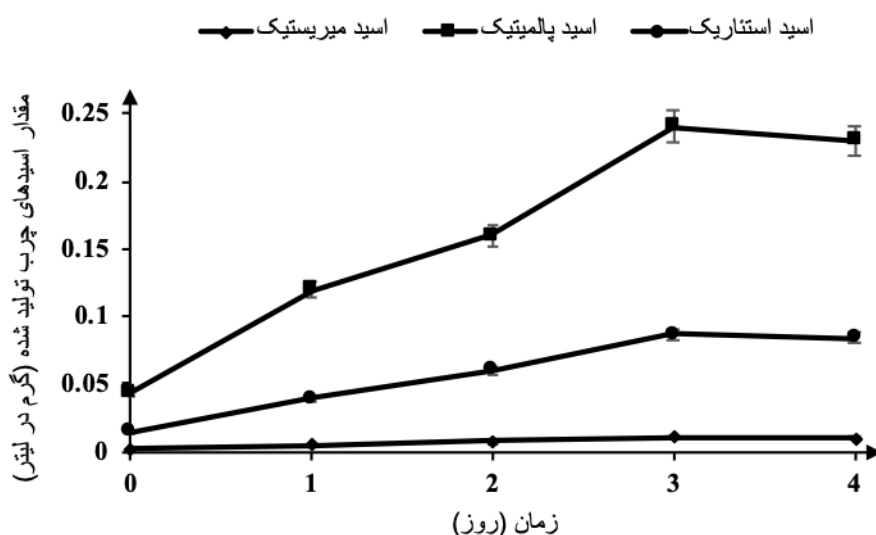
جدول ۱: اسیدهای چرب تولید شده توسط مخمر یاروویا لیپولیتیکا CBS6303 (*Yarrowia lipolytica* CBS6303) در محیط کشت حاوی گلوکز

شماره	نام علمی اسید چرب	نام عمومی اسید چرب	تعداد کربن	زمان بازداری (دقیقه)	درصد
۱	Tetradecanoic acid	اسید میریستیک	۱۴:۰	۱۳/۱۰	۰/۸۲
۲	Pentadecanoic acid	اسید پنتادکانوئیک	۱۵:۰	۱۶/۵۹	۰/۸
۳	Hexadecanoic acid	اسید پالمیتیک	۱۶:۰	۱۸/۳۳	۱۷/۰۵
۴	9-Hexadecanoic acid	اسید پالمیتولئیک	۱۶:۱	۱۸/۵۳	۱۲/۶۴
۵	Heptadecanoic acid	اسید مارگاریک	۱۷:۰	۲۰/۲۸	۰/۴۲
۶	9,12-Octadecadienoic acid	اسید لینولئیک	۱۸:۲	۲۴/۱۴	۱۹/۴۵
۷	9-Octadecenoic acid	اسید اولئیک	۱۸:۱	۲۴/۵۸	۳۴/۷۱
۸	Octadecanoic acid	اسید استئاریک	۱۸:۰	۲۵/۱۵	۶/۱۲
۹	Eicosanoic acid	اسید آراشیدیک	۲۰:۰	۳۰/۵۷	۰/۴۵
۱۰	Docosanoic acid	اسید بهنیک	۲۲:۰	۳۵/۰۹	۰/۵۹
۱۱	Tetracosanoic acid	اسید لیگنوسریک	۲۴:۰	۴۰/۵۶	۲/۰۵
۱۲	Hexacosanoic acid	اسید سروئیک	۲۶:۰	۴۵/۴۰	۰/۴۷
۱۳	Nonahexacontanoic acid	اسید نوناهاگزاکونتانوئیک	۶۹:۰	۵۱/۰۷	۴/۴۲
درصد کل اسیدهای چرب با قابلیت سوخت زیستی					۷۸/۱۵ درصد
مقدار کل اسیدهای چرب با قابلیت سوخت زیستی بر حسب گرم					۱/۱۱ گرم در لیتر

تجزیه و تحلیل داده‌های گاز کروماتوگرافی جرمی نشان دهنده‌ی تولید اسیدهای چرب با قابلیت استفاده در سوخت زیستی است که مقدار آن ۷۸/۱۵ درصد از کل اسید چرب تولید شده است که مقدار قابل توجهی بوده و برابر ۱/۱۱ گرم در لیتر از کل اسید چرب تولید شده است. مقدار این اسیدهای چرب در شکل‌های (۴) و (۵) نشان داده شده است که بیشترین آن اسید اولئیک با مقدار ۰/۴۹ گرم در لیتر با احتساب کل اسیدهای چرب تولید شده است.



شکل ۴: نمودار تولید اسیدهای چرب اولئیک و لینولئیک توسط *یارروویا لیپولیتیکا* CBS6303 (*Yarrowia lipolytica*) (CBS6303)



شکل ۵: نمودار اسیدهای چرب پالمیتیک، اسید استئاریک و اسید میریستیک توسط *یارروویا لیپولیتیکا* CBS6303 (*Yarrowia lipolytica*) (CBS6303)

بحث و نتیجه گیری

مخمر *یارروویا لیپولیتیکا* سویه CBS6303 (*Yarrowia lipolytica* CBS6303) توانایی تولید چربی میکروبی در حضور گلوکز به عنوان منبع کربن دارا می باشد که بالاترین تولید آن با میزان ۱/۴۲ گرم در لیتر و محتوی لیپیدی ۲۰/۲۸ درصد در روز سوم پس از کشت، به دست آمد. این مخمر به دلیل توانایی در تجمع مقادیر بالایی از چربی به عنوان مخمر روغنی شناخته می شود (Beopoulos *et al.*, 2009).

کاتر (Katre) و همکارانش پنج سویه از مخمر *یارروویا لیپولیتیکا* را مطالعه و مشاهده نمودند که هر پنج سویه‌ی مورد استفاده در آزمایش دارای توانایی تولید چربی میکروبی به میزان بیشتر از ۲۰ درصد وزن خشک سلولی می‌باشند (Katre *et al.*, 2012). راکیکا (Rakicka) و همکارانش با مخمر *یارروویا لیپولیتیکا* سویه‌ی JMY4086 با استفاده از ملاس و گلیسرول خام که از محصولات جانبی صنایع می‌باشند و تحت شرایط کشت مختلف، چربی میکروبی تولید نمودند که مقدار آن تا ۳۱ درصد وزن خشک نیز رسید (Rakicka *et al.*, 2015). پاپانیکولاو (Papanikolaou) و همکارانش با کشت سویه‌ی مخمر بر روی چربی صنعتی شامل اسیدهای چرب اشباع مشاهده نمودند که تجمع چربی تحت تاثیر pH و دمای محیط بوده و مقدار زیست توده به ۹-۱۲ گرم در لیتر و مقدار چربی میکروبی حاصل به ۰/۴۴-۰/۵۴ گرم در هر گرم از زیست توده رسید (Papanikolaou *et al.*, 2002).

اسیدهای چرب اشباع فاقد پیوند دوگانه بوده و اسیدهای چرب غیراشباع دارای پیوند دوگانه در ساختارشان می‌باشند که بر اساس تعداد این پیوندها در ساختارشان به اسیدهای چرب غیراشباع منفرد و اسیدهای چرب پلی غیراشباع تقسیم‌بندی می‌شوند (Sales-Campos *et al.*, 2013). اسیدهای چرب غیراشباع به دلیل حضور در ساختار و عملکرد غشاهای سلولی، نقش اساسی در فرآیندهای زیستی دارند (Choque *et al.*, 2014).

اسیدهای چرب اشباع نیز به دلیل پایداری برای کاربرد در سوخت‌های زیستی مناسب می‌باشند. اگر چه لازم به ذکر است که از اسیدهای چرب غیراشباع نیز می‌توان به عنوان سوخت زیستی استفاده کرد و مهم‌ترین اسیدهای چرب تولید شده توسط میکروارگانیسم‌های مولد چربی شامل اسید میریستیک، اسید پالمیتیک، اسید استئاریک، اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید لینولنیک می‌باشد که اجزای اصلی سوخت زیستی هستند که این اسیدهای چرب با کاتالیز توسط لیپاز یا کاتالیز شیمیایی می‌توانند به عنوان سوخت زیستی مصرف شوند (Katre *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2008).

همانطور که جدول (۱) نشان می‌دهد میزان کل اسیدهای چرب اشباع ۳۳/۱۹ درصد است که اسید چرب اشباع اسید پالمیتیک دارای بیشترین مقدار است و درصد کل اسیدهای چرب غیراشباع تولید شده ۶۶/۸ درصد بوده که اسید اولئیک با ۳۴/۷۱ درصد بیشترین مقدار را دارد. شایان ذکر است که پروفایل اسید چرب بر حسب شرایط محیط کشت مانند اکسیژن، pH و دما می‌تواند متغیر باشد (Mattanna *et al.*, 2014).

اسید اولئیک در بین اسیدهای چرب تولید شده، علاوه بر قابلیت استفاده به عنوان سوخت زیستی جزء اسیدهای چرب امگا نه C18:1 است و در غشای سلولی دارای نقش ساختاری می‌باشد. همچنین این اسید چرب در بیماری‌های سرطان و بیماری‌های قلبی-عروقی، خودایمنی و التهابی و فشار خون بالا دارای نقش می‌باشد و مشتقات آن با داشتن نقش تنظیمی بر روی غشای سلولی، به عنوان داروی ضد سرطان که باعث القای آپوپتوز و تفرق سلولی می‌شود، مورد استفاده قرار می‌گیرد (Choque *et al.*, 2014; Funari *et al.*, 2003; Sales-Campos *et al.*, 2013).

بر اساس جدول (۱)، اسید پالمیتیک C16:0 با ۱۷/۰۵ درصد همراه با اسید چرب ۱۸ کربنه‌ی اسید استئاریک با ۶/۱۲ درصد به‌دست آمد که برای مصرف در سوخت‌های زیستی به‌خوبی مطالعه شدند (Papanikolaou *et al.*, 2004). اسید لینولئیک از فراوان‌ترین اسیدهای چرب غیر اشباع است که در سوخت زیستی و در رژیم غذایی انسان مورد استفاده قرار می‌گیرد. این اسید چرب از اسیدهای چرب امگا شش بوده و به مقدار ۱۹/۴۵ درصد در این تحقیق به‌دست آمد. همچنین این اسید چرب دارای نقش فعال در رشد و سلامت عمومی بدن انسان است (Choque *et al.*, 2014).

بر اساس تجزیه و تحلیل اسیدهای چرب تولید شده، اسیدهای چربی با کاربرد در مصارف سوخت زیستی توسط مخمر *Yarrowia lipolytica* CBS6303 (سویه CBS6303) در محیط حاوی گلوکز تولید شدند. بر اساس نیاز و کاربرد می‌توان با روش‌های بهینه سازی محیط کشت و شرایط تخمیر و همچنین با روش‌های پیشرفته مهندسی متابولیت مسیرهای متابولیکی را تغییر داد تا بتوان محصول مورد نظر را با مقادیر بیشتر در این مخمر تولید نمود.

سپاسگزاری

از ستاد توسعه زیست فناوری و معاونت آموزشی - پژوهشی دانشگاه مراغه به خاطر حمایت‌های مادی و معنوی

سپاسگزاریم.

منابع

- Bankar, A.V., Kumar, A.R. and Zinjarde S.S. (2009) Environmental and industrial applications of *Yarrowia lipolytica*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84: 847-865.
- Beopoulos, A., Cescut, J., Haddouche, R., Uribelarrea, J.L., Molina-Jouve, C. and Nicaud, J.M. (2009) *Yarrowia lipolytica* as a model for bio-oil production. *Progress in Lipid Research*, 48: 375-387.
- Chi, Z., Pyle, D., Wen, Z., Frear, C. and Chen, S. (2007) A laboratory study of producing docosahexaenoic acid from biodiesel-waste glycerol by microalgal fermentation. *Process Biochemistry*, 42:1537-1545.
- Christophe, G., Kumar, V., Nouaille, R., Gaudet, G., Fontanille, P., Pandey, A., Ricardo soccol, C. and Larroche, C. (2012) Recent developments in microbial oils production: a possible alternative to vegetable oils for biodiesel without competition with human food. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55: 29-46.
- Choque, B., Catheline, D., Rioux, V. and Legrand, P. (2014) Linoleic acid: Between doubts and certainties. *Biochimie*, 96:14-21.
- Darvishi, F., Nahvi, I., Zarkesh-Esfahani, H. and Momenbeik, F. (2009) Effect of Plant Oils upon Lipase and Citric Acid Production in *Yarrowia lipolytica* Yeast. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2009: 1-7.
- Darvishi, F., Destain, J., Nahvi, I., Thonart, P. and Zarkesh-Esfahani, H. (2011) High-level production of extracellular lipase by *Yarrowia lipolytica* mutants from methyl oleate. *New Biotechnology*, 28: 756-760.
- Darvishi, F. (2012) Expression of native and mutant extracellular lipases from *Yarrowia lipolytica* in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Biotechnology*, 5: 634-641.

- Darvishi, F. (2014) *Yarrowia lipolytica* in biotechnological applications. Heidelberg, Springer.
- Enshaeieh, M., Abdoli, A., Nahvi, I. and Madani, M. (2012) Selection and optimization of single cell oil production from *Rodotorula* 110 using environmental waste as substrate. *Journal of Cell Molecular Research*, 4: 68-75.
- Funari, S.S., Barceló, F. and Escribá, P.V. (2003) Effects of oleic acid and its congeners, elaidic and stearic acids, on the structural properties of phosphatidylethanolamine membranes. *Journal of Lipid Research*, 44: 567-575.
- Ghaly, A.E., Dave, D., Brooks, M.S. and Budge, S. (2010) Production of biodiesel by enzymatic transesterification: review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 6: 54-76.
- Gonçalves, F.A.G., Colen, C. and Takahashi, J.A. (2014) *Yarrowia lipolytica* and its multiple applications in the biotechnological industry. *The Scientific World Journal*, 2014: 1-14.
- Huang, G., Chen, F., Wei, D., Zhang, X. and Chen, G. (2010) Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Applied Energy*, 87: 38-46.
- Huang, C., Chen, X.f., Xiong, L., Chen, X.d., Ma, L. and Chen, Y. (2013) Single cell oil production from low-cost substrates: The possibility and potential of its industrialization. *Biotechnology Advances*, 31: 129-139.
- Katre, G., Joshi, C., Khot, M., Zinjarde, S. and RaviKumar, A. (2012) Evaluation of single cell oil (SCO) from a tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589 as a potential feedstock for biodiesel. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2: 1-14.
- Koutinas, A.A. and Papanikolaou, S. (2011) Biodiesel production from microbial oil. Pages 177-198 in: Campelo J and Clark J, ed. *Handbook of Biofuels Production*. Cambridge, Woodhead Publishing.
- Li, Q., Du, W. and Liu, D. (2008) Perspectives of microbial oils for biodiesel production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80: 749-756.
- Matsakas, L., Bonturi, N., Miranda, E.A., Rova, U. and Christakopoulos, P. (2015) High concentrations of dried sorghum stalks as a biomass feedstock for single cell oil production by *Rhodospiridium toruloides*. *Biotechnology for Biofuels*, 8: 1-6.
- Mattanna, P., da Rosa, P.D., Poli, J., Richards, N.S.P.S., Daboit, T.C. and Scroferneker, M.L. (2014) Lipid profile and antimicrobial activity of microbial oils from 16 oleaginous yeasts isolated from artisanal cheese. *Revista Brasileira de Biociencias*, 12: 121-126.
- Nambou, K., Zhao, C., Wei, L., Chen, J., Imanaka, T. and Hua, Q. (2014) Designing of a “cheap to run” fermentation platform for an enhanced production of single cell oil from *Yarrowia lipolytica* DSM3286 as a potential feedstock for biodiesel. *Bioresource Technology*, 173: 324-333.
- Nicaud, J.M. (2012). *Yarrowia lipolytica*. *Yeast*, 29: 409-418.
- Pan, L.X., Yang, D.F., Shao, L., Li, W., Chen, G.G. and Liang, Z.Q. (2009) Isolation of the oleaginous yeasts from the soil and studies of their lipid-producing capacities. *Food Technology and Biotechnology*, 47: 215-220.
- Papanikolaou, S., Chevalot, I., Komaitis, M., Marc, I. and Aggelis, G. (2002) Single cell oil production by *Yarrowia lipolytica* growing on an industrial derivative of animal fat in batch cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58: 308-312.
- Papanikolaou, S., Komaitis, M. and Aggelis, G. (2004) Single cell oil (SCO) production by *Mortierella isabellina* grown on high-sugar content media. *Bioresource Technology*, 95:287-291.

-
- Rakicka, M., Lazar, Z., Dulermo, T., Fickers, P. and Nicaud, J.M. (2015) Lipid production by the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* using industrial by-products under different culture conditions. *Biotechnology for Biofuels*, 8: 1-10.
- Ranga Rao, A., Dayananda, C., Sarada, R., Shamala, T.R. and Ravishankar, G.A. (2007) Effect of salinity on growth of green alga *Botryococcus braunii* and its constituents. *Bioresource Technology*, 98: 560-564.
- Sales-Campos, H., de Souza, P.R., Peghini, B.C., da Silva, J.S. and Cardoso, C.R. . (2013) An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. *Mini-reviews in Medicinal Chemistry*, 13: 201-210.
- Tchakouteu, S.S., Kalantzi, O., Gardeli, C., Koutinas, A.A., Aggelis, G. and Papanikolaou, S. (2015) Lipid production by yeasts growing on biodiesel-derived crude glycerol: strain selection and impact of substrate concentration on the fermentation efficiency. *Journal of Applied Microbiology*, 118: 911-927.
- Tsigie, Y.A., Wang, C.Y., Truong, C.T. and Ju, Y.H. (2011) Lipid production from *Yarrowia lipolytica* Po1g grown in sugarcane bagasse hydrolysate. *Bioresource Technology*, 102:9216-9222.

The production of fatty acids with biofuel potential by *Yarrowia lipolytica* from glucose

F. Darvishi ^{1*}, N. Salmani ²

Received: 2018.02.14

Accepted: 2019.01.27

Abstract

Microbial lipids have a capacity to use in biofuels, pharmaceutical and nutrition industries. The production and application of these lipids are increasing in compare with vegetable oils. The production of microbial lipid by *Yarrowia lipolytica* CBS6303 from glucose and investigation of its fatty acids profile to determine its biofuel potential were the aims of this study. Maximum lipid production and dry weight were obtained 1.42 and 7 g/L after three days, respectively. The produced lipid by *Y. lipolytica* from glucose contains fatty acids that can be used as biofuel like oleic acid (34.71%), linoleic acid (19.45%), palmitic acid (17.05%), stearic acid (6.12%) and myristic acid (0.82%).

Keywords: Fat, oil, Microbial, Profile.

1-Professor of Microbiology, University of Maragheh, Maragheh, Iran.

* (Corresponding author: f.darvishi@maragheh.ac.ir)

2- MSc of Microbial Biotechnology, University of Maragheh, Maragheh, Iran.