Research Paper

Biotechnological Carotenoid Production by *Rhodotorula mucilaginosa* and Study of Its Effect on Lipid Profile in Male Mice

Fatemeh Karimiyan[1], Mahboobeh Madani[2*], Nooshin Naghsh[3]

1. Master student of Biotechnology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
2. Associate Professor, Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
3. Associate Professor, Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Received: 2020/02/03 **Accepted:** 2020/06/20

Abstract

Introduction: Today, carotenoids draw attention because of their antioxidant and antitumor properties and also usage as natural food colors. In this study, the biotechnological production of carotenoid by the yeast *Rhodoturola musilaginosa* and its effect on the lipid profile of male mouse were investigated.

Materials and Methods: In this semi-experimental study, carotenoids were extracted from *R. mucilaginosa* using the Davis method. Twenty four male mice were randomly divided into four groups of six each. Two treatment groups received 16 and 32 mg/kg carotenoid peritoneally. One group received 400 mg/kg *R. mucilaginosa* powder by gavage. Control group received 0.5 ml physiological serum intraperitoneally. Blood samples were then collected and lipid profile was studied for triglyceride, cholesterol, LDL and HDL. The results were analyzed by SPSS 21 and comparisons were conducted using one-way ANOVA and Kruskal-Wallis test.

Results: The lowest serum concentrations of triglyceride and VLDL were observed in the group given 32 mg/kg carotenoid compared to the gavage and control groups. Mean serum cholesterol and HDL concentrations in the groups were not significantly different. The highest mean LDL concentration was observed in the gavage group.

Conclusion: According to the results of this study, *R. muscilaginosa* carotenoid decreased serum concentrations of triglyceride, VLDL and cholesterol. Therefore, it seems that the possibility of using it as a dietary supplement be helpful.

***Corresponding Author:** Mahboobeh Madani
Address: Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
Tel: (+98) 9111758234
E-mail: mmadani66@gmail.com

Keywords: *Rhodotorula mucilaginosa*, Carotenoid, Mouse, Lipoproteins

How to cite this article: Karimiyan F., Madani M., Naghsh N. Biotechnological Carotenoid Production by Rhodotorula mucilaginosa and Study of Its Effect on Lipid Profile in Male Mice, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2021; 28(4):545-555.

Copyright © 2021 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

Introduction

The genus *Rhodoturola* belongs to the fungus genus, the basidiomycota branch, the genus Ordinomycetes, the order Sporidiols, and the family Sporidiobulaceae. *Rhododorola* is a pigmented yeast that produces red-orange mucoid colonies on Saburo dextrose agar medium. Yeast inhibits the wavelengths of light that cause cell death by forming pigments. Carotenoids are a group of hydrocarbons consisting of 8 isopronoid units and are interconnected in such a way that the arrangement of these units is reversed at the center of the molecule. Carotenoids are derived from the structure of a non-cyclic carotenoid called lycopene with the chemical formula C40H56, which have been formed by hydrogenation, oxidation, cycling, or a combination of these processes to form various forms of these compounds. Carotenoids are terpenoid pigments with 40 carbon atoms and are biosynthetically derived from two units of granil-granyl transferase pyrophosphate, which are mainly soluble in non-polar solvents. These natural pigments are fat-soluble and are found in many fruits, vegetables and microorganisms. Eating a carotenoid-rich diet reduces the incidence of various epidemiological diseases. The antioxidant activity of carotenoids as well as biochemical properties affecting their signaling pathways has been proven. Cholesterol and triglycerides are the major fats in plasma that are bound to circulating proteins called lipoproteins. The main lipoproteins of chylomicrons are VLDL, LDL, and HDL. VLDL carries in-body triglycerides from the liver to peripheral areas such as muscles. VLDL is converted to IDL after a while and to LDL after 2 to 6 hours, with a half-life in the blood of about 2 to 3 days. Therefore, the main source is VLDL LDL. About 70% of LDL is removed by the liver. A small amount of it, which is very important, is removed by macrophages and migrates to the walls of the arteries, causing the formation of atherogenic plaques. Elevated blood cholesterol can be due to increased production or defective clearance of VLDL or increased conversion of VLDL by the liver can be due to obesity, diabetes, alcohol consumption, nephrotic syndrome, or genetic factors. Blood triglyceride levels also rise as blood LDL and cholesterol levels rise. Defects in LDL uptake can be genetic. Sometimes nutritional issues also play a role in this increase in fat. An increase of 25 to 40 mg of cholesterol above normal can increase the risk of cardiovascular disease. The aim of the present study was to investigate the production of carotenoids by the yeast Rhodoturola musilaginosa and its effect on lipid profile in male mice.

Methodology

1-2. Preparation and extraction of pigments from the yeast of *Rhododorula musilaginosa* the yeast Rhodoturola mucilaginosa used in this study was isolated and identified from the soil of Isfahan by Mohammadi et al.

2-2. Cultivation of the yeast of Rhododorula musilaginosa *Rhododorola mucilaginosa* was cultured on Saburo dextrose agar and kept in an incubator at 28-30 ° C for 48 hours. Then pure culture was prepared from single yeast colonies.

2-3. Cultures of Rhododorula musilaginosa in Yeast Malt Broth By sterile loop, *Rhododorola mucilaginosa* single yeast colonies formed on Saburo dextrose agar medium were removed, and gently transferred to the Erlenmeyer wall containing broth malt medium; And was placed in a shaker incubator (shin-saeng, made in Iran) with a temperature of 28-30 ° C and 130 rpm for 3-4 days. After this time, due to pigment production, the color of broth malt culture medium changed from yellow to orange.

2-4. Washing and separation of pigment produced by the yeast of *Rhododorula musilaginosa*

2 ml of a normal HCL was added to each of the falcons containing the yeast and placed in a snake pan at 70 ° C. Samples were vertexed every 15 minutes. Washing with physiological saline was performed 3 times to remove excess acid. To this falcon, acetone and methanol (ratio 1: 1) were added and the falcons were placed on a rotator overnight; then light petroleum ether was added dropwise to the falcon containing methanol acetone, centrifuged at 1459 rcf for 10 minutes. The top solution contains carotenoids extracted in the orange petroleum phase, the bottom solution contains acetone, methanol, and the bottom phase contains fungi. The supernatant containing the carotenoid was transferred to another vial, washing with physiological saline was repeated 3 times, and the extracted carotenoid was placed inside the spectrophotometer (SHIMADZU-UV-2600) to read the adsorption.

2-5. Sampling

For the experiment, the animals were randomly divided into 4 groups of 6: Control group: This group was injected 0.5 ml of physiological serum intraperitoneally. Treatment group 1: In this group,

carotenoids at a rate of 16 mg / kg body weight were injected intraperitoneally. Treatment group 2: In this group, carotenoids at the rate of 32 mg / kg body weight were injected intraperitoneally. Treatment group 3: This group received 400 mg / kg of Rhododorola mucilaginosa yeast by gavage. After anesthesia, blood samples were taken from the mice and poured into gelled vials and centrifuged at 1459 rcf for 10 minutes. The isolated serum was stored in a freezer at -20 ° C for 48 hours. Then lipid profile test (triglyceride, cholesterol, VLDL, HDL and LDL) was performed on serum. To determine the amount of lipid profile, BA400 auto-analysis biochemistry device (Aria-Made in Iran) was used by end point analysis method. In addition, the ethical principles of working with laboratory animals were fully considered.

2-6. Investigation of physical and chemical properties of extracted carotenoids The pigment produced in liquid form (before evaporation of petroleum ether) was transferred to Pars Khorasgan standard knowledge laboratory and six tests were performed on moisture content, pH, volatiles, active ash and purity percentage.

Result

1- Results of carotenoids extracted from the yeast Rhodoturola musilaginosa

Results Carotenoid purity extracted from Rhododorola musilaginosa yeast equal to 15.26 mg percent, moisture content 23 mg percent, total ash 7.2 mg percent, volatiles 10.4 mg percent, number Acid was 2.5 mg / g and pH was 6.1. (Figure 1).

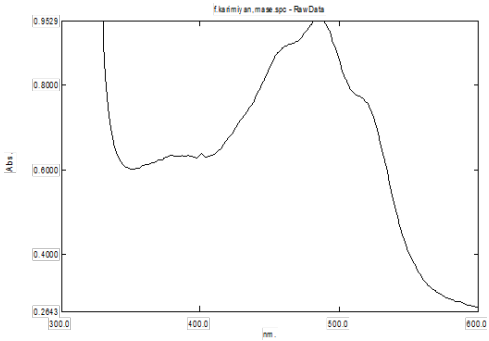


Figure 1. Extraction of extracted carotenoids at 600-300 wavelength by spectrophotometer (nm)

2- Results of determination of triglyceride level from rat serum

Comparison of the mean triglyceride activity in different groups showed that in the group receiving 32 mg / kg carotenoids by injection, the amount of triglyceride was equal (66.4 9 9.7 d / L) in the control group was equal (d / L 2/12. 118.8) and the gavage group is equal (d / L 29 ± 9/910). Based on the results, the amount of triglyceride in the group receiving 32 mg / kg of carotenoids was significantly lower than the control group and gavage group (P <0.05) (Figure 2).

3- Determination of cholesterol in rat serum

Mean cholesterol in the injection group was 16 times (dg / L 49 49.8 d 6.3), in the injection group was 32 times (d / L 51.7 d 3.2) in the gavage group was equal to (d / L) 65 30 30.7) and equal (61.2 11 11 / d / L) in the control group. Cross-Wallis test was used to compare cholesterol levels between the four groups, but there was no significant difference between the groups. (Figure 2).

4- HDL levels in rat serum

HDL level was 16 times (36.1 5 5.17 d / L) in the injection group and equal to 53.4 ± 16.1 d / L in the control group. Kruskal-Wallis test was used to compare TG values between the four groups, but there was no significant difference between the groups. (Figure 2).

5- LDL levels in rat serum

The mean LDL level in gavage group was equal (11.68. 4.44 d / L) and 16 mg / kg in injection group (6.76 /0 0.42 d / L). Kruskal-Wallis test was used to compare LDL values between the four groups, but there was no significant difference between the groups (P = 0.121). (Figure 2).

6- The level of VLDL in rat serum

The mean VLDL activity in the injection group was 32 times (13.28 95 1.95 d / L), in the control group was 23.56 44 2.44 d / L, in the gavage group was equal (8 d / L). / 5 ± 18/22). Based on the above results, VLDL level significantly decreased in the group receiving 32 mg / kg of carotenoids (P <0.05) (Figure 2).

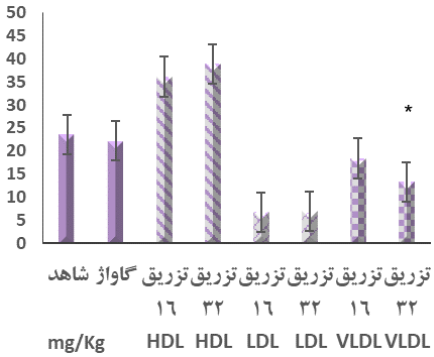


Figure 2. Comparison of mean serum concentrations of VLDL, LDL, HDL, TG and cholesterol in different groups of male mice
* = Significant difference compared to the control at the level of 0.05

Discussion

Based on the studies of this study, the amount of VLDL in the 32 mg / kg group compared to the control group showed a significant decrease (P <0.05). Cholesterol, HDL and LDL (low density lipoprotein) were also the factors studied in this project, the amount of which was not significantly different in the experimental groups compared to the control group (Charts 3, 4 and 5). TG was another profile in the study that showed a significant decrease in the intraperitoneal injection group of 32 mg / kg (P <0.05) (Figure 2). In a study, Bandagi et al. examined the effect of beta-carotene on acetaminophen-induced liver damage in mice. Concentration of beta-carotene (4 mg / kg) by gavage decreased TG and LDL levels. In the present study, the yeast carotenoid rhododorula mucilaginosa reduced triglycerides and VLDL. In another 2017 study, Garcia et al. examined the effect of iron oxide magnetic nanoparticles on liver tissue and related enzymes and the protective effects of beta-carotene supplementation against this damage in female mice. In this study, rats were randomly divided into five groups: control group (I) who received distilled water, nanoparticle injection group at 50 mg / kg (group II), and nanoparticle injection at 100 mg G / kg (Group III), injection of 6 mg / kg of beta-carotene (Group IV) and injection of nanoparticles at a rate of 50 mg / kg with beta-carotene at a rate of 6 mg / kg (Group V) Were. Enzyme levels of LDL, HDL, TG and cholesterol increased significantly in groups II and III but decreased in group V. The results of research by Garcia et al. Show that beta-carotene supplement inhibits oxidative stress caused by silver nanoparticles due to its antioxidant properties. In the present study, the levels of TG and LDL in the experimental groups also decreased in the injection groups of 32 mg / kg and 16 mg / kg, which is due to the decrease in carotenoid antioxidant properties, but in the gavage group, LDL increased due to the action of free radicals and oxidative stress due to the receiving method. Oxidative stress is caused by an imbalance between the production of free radicals and reactive oxygen species on the one hand and the antioxidant defense system on the other. In other words, in aerobic biological systems, antioxidant defense mechanisms are designed to counteract free radicals and reactive oxygen species to neutralize or minimize the harmful effects of these invasive agents. Some components of this defense system, such as superoxide dismutase, glutathione, peroxidase, and catalase, as well as uric acid, bilirubin, and thiol or alpha E molecules, are made in vivo, but some others such as vitamins and beta-carotene, tocopherol, and vitamin C should be provided through the diet. In Lindo and Brandel study, the effect of lycopene supplementation on some liver enzymes in diabetic mice was investigated. In this study, an increase in HDL was observed. Therefore, the results of this study are not consistent with the present study, which is probably due to the type and dose of carotenoids used, because the carotenoids in the present study are beta-carotene (16 mg / kg) but the Lindo and Brendel lycopene study (0.7 mg). - gram / kg), reducing the dose affects its antioxidant effects and can act as a harmful prooxidant instead of the beneficial effects of antioxidants.

Conclusions

According to the results of this study, carotenoids extracted from the yeast of Rhododorula musilaginosa have an effective role in improving the lipid profile of male mice. . Therefore, it is possible to use this carotenoid as a dietary supplement, although more research is needed to investigate the resulting hepatotoxicity. Optimization of production and use of cheap materials for economic justification should also be considered.

Acknowledgment

Finally, we thank all the dear friends and colleagues who helped us in this research.

Conflict Of Interest:

There is no conflict of interest in the present study.

تولید بیوتکنولوژی کاروتنوئید توسط مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* و بررسی تأثیر آن بر پروفایل لیپیدی در موش سوری نر

فاطمه کریمیان[۱]، محبوبه مدنی*[۲]، نوشین نقش[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
۲. دانشیار گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
۳. دانشیار گروه زیست شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۳۱

* نویسندهٔ مسئول: محبوبه مدنی
نشانی: اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی فلاورجان، دانشکده علوم زیستی، گروه میکروب‌شناسی
رایانامه: mmadani66@gmail.com
شناسه ORCID: 0000-0003-3961-8409
شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0002-5700-1392

چکیده

زمینه و هدف: امروزه کاروتنوئیدها به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدتوموری، هم‌چنین کاربرد آنها به‌عنوان رنگ‌های غذایی طبیعی موردتوجه هستند. در این تحقیق تولید بیوتکنولوژی کاروتنوئید توسط مخمر رودوتورولا موسیلاژینوزا و تأثیر آن بر پروفایل لیپیدی موش سوری نر بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه نیمه‌تجربی، کاروتنوئید با استفاده از روش دیویس از مخمر رودوتورولا موسیلاژینوزا، استخراج شد. ۲۴ موش سوری نر به‌طور تصادفی در ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. دو گروه تیمار، mg/kg ۳۲ و ۱۶ کاروتنوئید را به‌صورت صفاقی دریافت کردند. یک گروه mg/kg ۴۰۰ پودر مخمر رودوتورولا موسیلاژینوزا را به‌صورت گاواژ دریافت کرد. گروه شاهد ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به‌صورت درون صفاقی دریافت کرد. سپس خون‌گیری انجام و پروفایل لیپیدی از نظر تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL و HDL بررسی شد. نتایج با استفاده از نسخه ۲۱ نرم‌افزار SPSS آنالیز شدند و مقایسه‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه و کراسکال والیس انجام شد.

یافته‌ها: در گروه تیمار با mg/kg ۳۲ کاروتنوئید در مقایسه با گروه گاواژ و شاهد، کم‌ترین غلظت سرمی تری‌گلیسرید و VLDL مشاهده شد. میانگین غلظت سرمی کلسترول و HDL تفاوت معناداری در گروه‌ها نشان نداد. بیشترین میانگین غلظت سرمی LDL در گروه گاواژ بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این تحقیق، کاروتنوئید رودوتورولا موسیلاژینوزا موجب کاهش غلظت سرمی تری‌گلیسرید و VLDL شده است. لذا به نظر می‌رسد امکان استفاده از آن به‌عنوان مکمل در جیره غذایی مفید باشد.

کلیدواژه‌ها:
رودوتورولاموسلاژینوزا، کاروتنوئید،موش، لیپوپروتئین‌ها.

۱. مقدمه

مخمرها موجودات یوکاریوت تک سلولی‌اند و در دو شاخه آسکومیکوتا و بازیدیومیکوتا قرار می‌گیرند. بیشتر آنها به‌صورت غیرجنسی و از طریق تقسیم میتوز و جوانه‌زنی تکثیر می‌شوند [۱]. *رودوتورولا* یک مخمر پیگمانته است و کلونی‌های موکوئیدی به رنگ قرمز- نارنجی روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار ایجاد می‌کند. مخمر با ایجاد پیگمان، طول موج‌های نور که باعث از بین رفتن سلول می‌شوند را مهار می‌کند [۲]. رنگ کلونی‌ها متغیر است و از کلونی‌های کرم رنگ تا نارنجی، صورتی، قرمز یا زرد تغییر می‌کند. یکی از گونه‌های این جنس *رودوتورولا موسیلاژینوزا* است که اسم رایج و متداول *رودوتورولا روبرا* می‌باشد [۳]. این گونه دارای بلاستوکنیدی‌های تک‌سلولی است و هیف کاذب ایجاد نمی‌کند [۴].

کاروتنوئیدها گروهی از هیدروکربن‌های متشکل از ۸ واحد ایزوپرونوئید هستند و به طریقی به هم اتصال یافته‌اند که آرایش این واحدها در مرکز مولکول معکوس شده است [۵]. کاروتنوئیدها رنگ‌دانه‌های ترپنوئیدی با ۴۰ اتم کربن هستند و از لحاظ بیوسنتزی،

Copyright © 2021 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

از دو واحد گرانیل- گرانیل ترانسفراز پیروفسفات مشتق گردیده‌اند که عمدتاً در حلال‌های غیرقطبی، محلول می‌باشند [۶]. این رنگ‌دانه‌های طبیعی، محلول در چربی هستند و در میوه‌های متعدد، سبزیجات و میکروارگانیسم‌ها یافت می‌شوند. مصرف یک رژیم غذایی غنی از کاروتنوئید، بروز بیماری‌های مختلف از لحاظ اپیدمیولوژیکی را کاهش می‌دهد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها و همچنین خواص بیوشیمیایی مؤثر بر مسیرهای سیگنال‌دهی آن‌ها ثابت شده‌است [۷]. جذب نور در موجودات فتوسنتزکننده و حفاظت در برابر نور در تمامی موجودات زنده وابسته به عملکرد حیاتی کاروتنوئیدها است [۸].

کلسترول و تری‌گلیسیرید، چربی‌های اصلی موجود در پلاسما هستند که به‌صورت متصل به پروتئین تحت عنوان لیپوپروتئین‌ها در گردش خون می‌باشند. لیپوپروتئین‌های اصلی شیلومیکرون، VLDL , LDL , HDL می‌باشند. تری‌گلیسیرید بیشترین نوع چربی خون است که در شبانه‌روز در حدود ۷۰ تا ۱۵۰ گرم از آن وارد پلاسما و خارج می‌شود؛ در صورتی که این میزان برای کلسترول ۱ تا ۲ گرم است. شیلومیکرون بزرگ‌ترین لیپوپروتئین می‌باشد که تری‌گلیسیرید را از روده از طریق مجرای توراسیک به درون سیستم وریدی حمل می‌کند. در مویرگ‌های بافت چربی و بافت عضلانی، حدود ۹۰ درصد این تری‌گلیسیرید موجود در شیلومیکرون برداشته می‌شود. از هیدرولیز شیلومیکرون، اسید چرب و گلیسرول حاصل می‌شود که به درون سلول‌های چربی و عضلات وارد می‌شود و به مصرف انرژی می‌رسد یا ذخیره می‌شود، مابقی را کبد برمی‌دارد [۹]. VLDL، تری‌گلیسیرید تولید شده در داخل بدن را از کبد به مناطق محیطی مانند عضلات حمل می‌کند. VLDL بعد از مدتی به IDL و بعد از ۲ تا ۶ ساعت به LDL تبدیل می‌شود که نیمه عمر آن در خون در حدود ۲ تا ۳ روز خواهد بود. بنابراین عمده‌ترین منبع، LDL VLDL می‌باشد. حدود ۷۰ درصد LDL را کبد برمی‌دارد. مقدار کمی از آن که البته بسیار مهم است را ماکروفاژها برمی‌دارند و به دیواره شریان‌ها مهاجرت می‌کنند و سبب تشکیل پلاک‌های اتروژنیکی می‌شوند. افزایش کلسترول خون ممکن است به‌دلیل افزایش تولید یا نقص در پاک‌سازی VLDL یا افزایش تبدیل VLDL توسط کبد (به دلیل چاقی، دیابت، مصرف الکل، سندروم نفروتیک) یا به‌دلیل عوامل ژنتیکی باشد. به‌دنبال افزایش میزان LDL و کلسترول خون سطح تری‌گلیسیرید خون نیز افزایش می‌یابد. نقص در برداشت LDL می‌تواند ژنتیکی باشد. گاهی مسائل تغذیه‌ای نیز در این افزایش چربی نقش دارند. افزایش ۲۵ تا ۴۰ میلی‌گرم کلسترول از حد نرمال آن می‌تواند ریسک ابتلا به بیماری قلبی- عروقی را بالا ببرد [۱۰].

هدف از تحقیق حاضر، تولید کاروتنوئید توسط مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* و بررسی تأثیر آن بر پروفایل لیپیدی در موش سوری نر است.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه و استخراج رنگ‌دانه از مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا*

مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* مورداستفاده در این تحقیق را محمدی و همکاران از خاک اصفهان جداسازی و شناسایی کردند (۱۱).

۲.۲. کشت مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا*

مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* بر محیط کشت سابورو دکستروز آگارکشت و در انکوباتور با دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. سپس از کلونی‌های تک ایجاد شده مخمر، کشت خالص تهیه شد [۱۱].

۳.۲. کشت مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* در محیط مالت براث (Yeast Malt Broth)

توسط لوپ استریل از تک کلونی‌های مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* ایجاد شده بر محیط کشت سابورو دکستروز آگار برداشته و به آرامی به دیواره ارلن حاوی محیط مالت براث انتقال داده شد و درون انکوباتور شیکردار (shin-saeng، ساخت ایران) با دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد و با ۱۳۰ دور بر دقیقه به مدت ۴-۳ روز قرار داده شد. پس از سپری شدن این زمان به دلیل تولید رنگ‌دانه، رنگ محیط کشت مالت براث از زرد به نارنجی تغییر کرد [۱۲].

۴.۲. تلقیح مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* در محیط کشت پایه

برای تهیه محیط کشت پایه ۱ گرم گلوکز، ۰/۱ گرم عصاره مخمر، ۰/۱ گرم آمونیوم سولفات، ۰/۲ گرم پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات، ۰/۱ گرم منیزیوم‌سولفات هپتاهیدرات با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری مخلوط و روی حرارت قرار داده شد. درب ارلن‌ها را بسته و در اتوکلاو (Iran tolid) با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس ۳ میلی‌لیتر از محیط کشت مالت براث حاوی مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* به درون ارلن حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت پایه ریخته شد و در انکوباتور شیکردار با دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۶-۷۲ ساعت قرار داده شد. پس از سپری شدن این زمان به‌دلیل تولید رنگ‌دانه، رنگ محیط کشت پایه از زرد کم‌رنگ به نارنجی تغییر کرد. محیط کشت پایه و حاوی مخمر در ۴ لوله فالکون ۵۰ میلی‌لیتری

به میزان ۲۵ میلی‌لیتر در هر فالکون تقسیم و به مدت ۱۰ دقیقه با دور rcf ۱۴۵۹ سانتریفیوژ شد. مایع رویی حاوی محیط کشت دور ریخته شد و روی مخمرهای ته‌نشین شده سرم فیزیولوژی اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور rcf ۱۴۵۹ سانتریفیوژ شد. مرحله سانتریفیوژ (۶۰۰۰ دور DOMEL مدل Centric322) ۳ بار تکرار شد [۱۳].

۵.۲. شستشو و جداسازی رنگ‌دانه تولید شده توسط مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا*

۲ میلی‌لیتر HCL یک نرمال به هریک از فالکون‌های حاوی مخمر اضافه شد. فالکون‌ها به مدت ۴ ساعت درون بن‌ماری با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. نمونه‌ها، ۱۵ دقیقه یک‌بار ورتکس شدند. برای حذف اسید اضافی ۳ بار شستشو با سرم فیزیولوژی انجام شد. سپس به این فالکون، استن و متانول (نسبت۱:۱) اضافه و فالکون‌ها روی روتاتور به مدت یک شبانه روز قرار گرفتند و پترولیوم اتر سبک قطره‌قطره به فالکون حاوی استن‌متانول اضافه گردید و سانتریفیوژ با دور rcf ۱۴۵۹ به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. محلول رویی، حاوی کاروتنوئید استخراج‌شده در فاز پترولیوم اتر به رنگ نارنجی، محلول زیرین حاوی استن، متانول و فاز زیرین ته‌نشین شده حاوی قارچ بود. پترولیوم اتر حاوی کاروتنوئید با سمپلر ۵۰۰ ماکرولیتر برداشته شد و به درون ویال منتقل شد و روی آن سرم فیزیولوژی ریخته شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور rcf ۱۶۲۱۱ سانتریفیوژ شد. محلول رویی که حاوی کاروتنوئید بود به ویال دیگری منتقل گردید، شستشو با سرم فیزیولوژی سه بار تکرار شد، کاروتنوئید استخراج‌شده درون کوت‌های دستگاه اسپکتروفوتومتر (SHIMADZU- UV-2600) برای خواندن جذب قرار داده شد[۱۴]. جذب در طول موج ۶۰۰-۳۰۰ نانومتر خوانده شد.

۶.۲. نمونه‌گیری

این تحقیق براساس اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی (کد اخلاقی IR.IAU.NAJAFABAD.REC.1397.079) انجام شد.

دراین تحقیق، تعداد ۲۴ رأس موش سوری نر از نژاد آلبینو در محدوده وزنی (۳۰ ± ۲۵ گرم)، تهیه و در لانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان با شرایط دمایی ۲ ± ۲۱، رطوبت مناسب و چرخه روشنایی- تاریکی ۲۱ ساعته نگه‌داری شدند. حیوانات در این مدت، دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. به‌منظور انجام آزمایش، حیوانات به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند:

گروه کنترل: به این گروه ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد.

گروه تیمار۱: به این گروه، کاروتنوئید به میزان ۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد.

گروه تیمار ۲: به این گروه، کاروتنوئید به میزان ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد.

گروه تیمار ۳: این گروه میزان ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* را به‌صورت گاواژ دریافت کردند.

سرانجام پس از سه بار تزریق به فاصله سه روز در میان، موش‌ها با داروی تزریقی ترکیبی زیلازین ۲ درصد و کتامین ۱۰ درصد، بیهوش شدند. پس از بیهوش شدن، از قلب موش‌ها خون‌گیری انجام و در ویال‌های ژل‌دار ریخته شد و با دور rcf ۱۴۵۹ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سرم جدا شده به مدت ۴۸ ساعت در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. سپس بررسی آزمون پروفایل لیپیدی (تری‌گلیسرید، کلسترول، VLDL، HDL و LDL) روی سرم انجام گرفت. به‌منظور تعیین میزان پروفایل لیپیدی از دستگاه بیوشیمی اتوآنالیز BA400 (شرکت آریا- ساخت ایران) با روش آنالیزی end point استفاده شد.

۷.۲. بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی کاروتنوئید استخراج شده

رنگ‌دانه تولید شده به‌صورت مایع (پیش از تبخیر پترولیوم اتر) به آزمایشگاه معیار دانش پارس خوراسگان انتقال داده شد و شش آزمون بررسی میزان رطوبت، pH، مواد فرار، خاکستر فعال و درصد خلوص روی آن انجام شد.

۱.۷.۲. روش اندازه گیری رطوبت

با تکنیک خشک کردن انجمادی، میزان رطوبت اندازه‌گیری شد. به این صورت که ۲ گرم از کاروتنوئید وزن شد و تحت شرایط خلأ و سرمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد خشک گردید و رطوبت آن گرفته شد. سپس وزن آن اندازه‌گیری و طبق فرمول زیر درصد رطوبت محاسبه شد [۱۵].

$$\frac{M1 \times M2}{M0} \times 100$$

M_1: وزن ظرف و نمونه پیش از خشک کردن.

M_2: وزن ظرف و نمونه پس از خشک کردن.

M_0: وزن نمونه.

۲.۷.۲. روش محاسبه مواد فرار

۲ گرم از نمونه حاوی کاروتنوئید در یک پلیت شیشه‌ای ریخته شد. سپس در آون با دمای ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. به این ترتیب، رطوبت و مواد فرار هر دو، بخار و میزان رطوبت و مواد فرار اندازه‌گیری شد. وزن به‌دست‌آمده از وزن کاروتنوئیدی که رطوبت آن بخار شد کم شد به این ترتیب مقدار مواد فرار به‌دست آمد [۱۵].

$$(\frac{M1 \times M2}{M0} \times 100) - \text{رطوبت}$$

M_1: وزن ظرف و نمونه پیش از بخار شدن
M_2: وزن ظرف و نمونه پس از بخار شدن
M_0: وزن نمونه.

۲.۷.۳. روش محاسبه عدد اسیدی

وزن معینی از نمونه در حجم مشخصی از آب حل شد و سپس با سود ۰/۰۱ مولار تیتر شد. یک شاهد از همان حجم مشخص آب نیز تهیه گردید. سپس میزان اسید چرب آزاد که در نمونه وجود داشت با سود خنثی شد و وزن سود به میلی‌گرم محاسبه شد که برابر با همان عدد اسیدی است [۱۵].

۲.۷.۴. روش اندازه‌گیری خاکستر کل

مقداری از نمونه را آسیاب گردید. سپس بوته چینی به مدت ۳۰ دقیقه در کوره ۵۰۰ تا ۵۵۰ درجه گذاشته شد، سپس در دسیکاتور قرار گرفت تا به دمای محیط برسد. ۲ گرم از نمونه وزن شد و در بوته چینی ریخته شد، سپس بوته چینی حرارت داده شد تا محتویات بوته چینی سیاه رنگ و از آن دود خارج شود. سپس به مدت تقریباً ۳ تا ۵ ساعت در کوره ۵۵۰ درجه قرار داده شد تا محتویات بوته چینی سفید (خاکستری) شد. سپس نمونه در دسیکاتور قرار گرفت تا نمونه به دمای محیط برسد [۱۵].
نمونه سرد شده وزن شد و طبق فرمول زیر مقدار خاکستر به‌دست آمد.

$$\frac{M1 \times M2}{M0} \times 100$$

M_1: وزن نمونه و بوته چینی قبل از خاکستر شدن
M_2: وزن نمونه و وزن بوته چینی بعد خاکستر شدن
M_0: وزن نمونه.

۲.۷.۵. روش محاسبه pH

برای تست pH محلول ۰/۱ درصد از نمونه درست شد. ۰/۱ گرم از کاروتنوئید با ۱۰۰ سی‌سی آب مخلوط و ۲۰ دقیقه استریل شد و سپس pH اندازه‌گیری شد [۱۵].

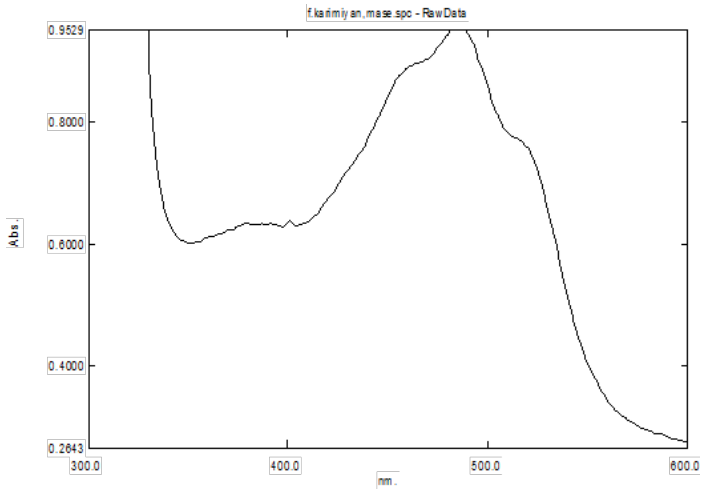
۲.۸. مطالعات آماری

تجزیه‌وتحلیل در دو سطح توصیفی و استنباطی انجام شد. در سطح توصیفی از شاخص‌های میانگین، انحراف معیار و نمودارهای آماری استفاده شد. در سطح استنباطی با توجه به نرمال نبودن توزیع داده‌های مطالعه، برای مقایسه شاخص‌های پروفایل لیپیدی بین چهار گروه آزمون کراسکال والیس (Kruskal-Wallis) استفاده شد. آزمون‌ها در سطح خطای ۵ درصد و با استفاده از نسخه ۲۲ نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

۳. یافته‌ها

۳.۱. نتایج مربوط به کاروتنوئید استخراج شده از مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا*

در پژوهش حاضر، میزان کاروتنوئید استخراج شده از مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* UIMC35 ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر بود. جذب کاروتنوئید استخراج شده، در طول موج ۶۰۰-۳۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. بهترین محدوده جذب در ۴۸۵ نانومتر بود (نمودار ۱) که نشان‌دهنده کاروتنوئید است [۱۵].



نمودار ۱. جذب کاروتنوئید استخراج شده، در طول موج ۶۰۰-۳۰۰ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (نانومتر)

نتایج میزان خلوص کاروتنوئید استخراج شده از مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* برابر ۱۵/۲۶ میلی‌گرم در صد، میزان

رطوبت ۲۳ میلی‌گرم در صد، خاکستر کل ۷/۲ میلی‌گرم در صد، مواد فرار ۱۰/۴ میلی گرم در صد، عدد اسیدی ۵/۲ میلی‌گرم در گرم و pH ۶/۱ بود.

۲.۳. نتایج تعیین میزان تری‌گلیسیرید از سرم موش

مقایسه میانگین میزان فعالیت تری‌گلیسرید در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروه دریافت‌کننده ۳۲ mg/kg کاروتنوئید به‌صورت تزریقی، مقدار تری‌گلیسرید برابر (۶۶/۴ ± ۹/۷ d/L) گروه شاهد برابر (۱۲/۲ d/L ± ۱۱۷/۸) و گروه گاواژ برابر (۱۱۰/۹ ± ۲۹ d/L) است. براساس نتایج به‌دست‌آمده مقدار تری‌گلیسرید در گروه دریافت‌کننده ۳۲ mg/kg کاروتنوئید به‌طور معناداری کم‌تر از گروه شاهد و گروه گاواژ بود (P <۰/۰۵)، (نمودار ۲).

۳.۳. تعیین میزان کلسترول در سرم موش

میانگین میزان کلسترول در گروه تزریق ۱۶ mg/kg برابر (۴۹/۸ ± ۶/۳ d/L) ، در گروه تزریق ۳۲ mg/kg برابر (۳/۲ d/L ± ۵۱/۷) در گروه گاواژ برابر (۳۰/۷ ± ۶۵ d/L) و در گروه شاهد برابر (۶۱/۲ ± ۱۱ d/L) بود. برای مقایسه مقادیر کلسترول بین چهار گروه از آزمون کراسکال والیس استفاده شد که تفاوت معناداری بین گروه‌ها وجود نداشت (نمودار ۲).

۴.۳. میزان HDL در سرم موش

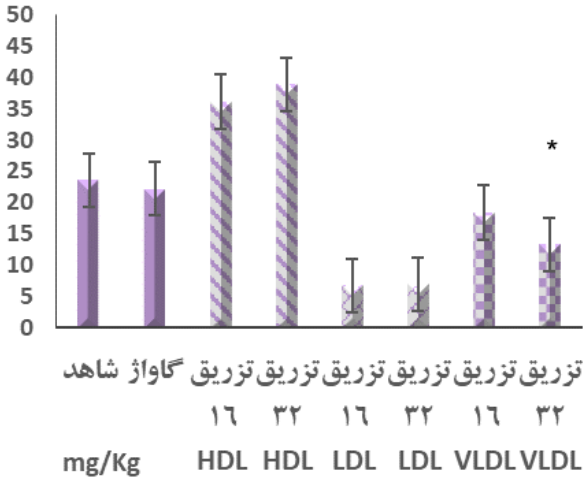
میزان HDL در گروه تزریق ۱۶ mg/kg برابر(۳۶/۱ ± ۵/۱۷ d/L) و در گروه شاهد برابر (۵۳/۴ ± ۱۶/۱ d/L) بود. برای مقایسه مقادیر TG بین چهار گروه از آزمون کراسکال والیس استفاده شد که تفاوت معناداری بین گروه‌ها وجود نداشت (نمودار ۲).

۵.۳. میزان LDL در سرم موش

میانگین میزان LDL در گروه گاواژ برابر (۱۱/۶۸ ± ۴/۴۴ d/L) و در گروه تزریق ۱۶ mg/kg برابر(۶/۷۶ ± ۰/۴۲ d/L) بود. برای مقایسه مقادیر LDL بین چهار گروه از آزمون کراسکال والیس استفاده شد که تفاوت معناداری بین گروه ها وجود نداشت (P =۰/۱۲۱) (نمودار ۲).

۶.۳. میزان VLDL در سرم موش

میانگین میزان فعالیت VLDL در گروه تزریق ۳۲ mg/kg برابر (۱۳/۲۸ ±۱/۹۵ d/L)، گروه شاهد برابر (۲۳/۵۶ ± ۲/۴۴ d/L)، در گروه گاواژ برابر (۲۲/۱۸ ± ۵/۸ d/L) بود. براساس نتایج فوق در گروه دریافت‌کننده ۳۲ mg/kg از کاروتنوئید میزان VLDL به‌طور معناداری کاهش داشته است (P <۰/۰۵)، (نمودار ۲).



نمودار ۲. مقایسه میانگین میزان غلظت سرمی VLDL، LDL، HDL، TG و کلسترول در گروه‌های مختلف موش‌های سوری نر
***= تفاوت معنی‌دار در مقایسه با شاهد در سطح ۰/۰۵**

٤. بحث و نتیجه‌گیری

براساس مطالعات این تحقیق، میزان VLDLدر گروه mg/kg ۳۲ نسبت به گروه شاهد کاهش معناداری را نشان داد (P<۰/۰۵)، (نمودار ۶). کلسترول، HDL و LDL (لیپوپروتئین با چگالی کم) نیز فاکتورهای موردبررسی این پروژه بودند که میزان آن‌ها در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد، تفاوت معناداری نداشتند (نمودار ۳، ۴ و ۵). TG نیز یکی دیگر از پروفایل‌های موردبررسی در طرح بود که در گروه تزریق داخل صفاقی mg/kg ۳۲ کاهش معناداری نشان داد (P<۰/۰۵)، (نمودار ۲).

بندگی و همکاران در مطالعه‌ای، تأثیر بتاکاروتن را بر آسیب کبدی ناشی از استامینوفن در موش‌های کوچک

بررسی کردند. غلظت بتاکاروتن (۴mg/kg) به‌صورت گاواژ باعث کاهش میزان TG و LDL شد. در مطالعه حاضر، کاروتنوئید مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* باعث کاهش تری-گلیسرید و VLDL شد [۱۶]. موساقی و همکاران[1] (۲۰۱۹) نشان دادند که غلظت بتاکاروتن (۲۰۰ mg/kg) به‌صورت گاواژ باعث کاهش ضایعات آرترواسکلروز می‌شود که احتمالاً به‌دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی و توانایی مهار فعالیت اکسیداتیو آن می‌باشد و به این ترتیب در کاهش میزان TG نقش داشته است. این مطالعه با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد و دلیل آن را می‌توان احتمالاً به خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئید و دوز مصرفی نسبت داد[۱۷]. در مطالعه دیگر گارسیا و همکاران[2] (۲۰۱۷) تأثیر نانوذرات مغناطیسی اکسیدآهن بر بافت کبدی و آنزیم‌های مربوطه و تأثیرات محافظتی مکمل غذایی بتاکاروتن در برابر این آسیب در موش‌های ماده را بررسی کردند. در این مطالعه رت‌ها به‌طور تصادفی به پنج گروه شامل: گروه کنترل (I) که آب مقطر دریافت کردند، گروه تزریق نانوذرات به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (گروه II)، تزریق نانوذرات به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (گروه III)، تزریق ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم بتاکاروتن (گروه IV) و تزریق نانوذرات به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم همراه با تزریق بتاکاروتن به میزان ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم (گروه V)تقسیم شدند. سطوح آنزیم‌ها LDL، HDL، TG و کلسترول در گروه II و III افزایش معنادار ولی در گروه V کاهش یافت. نتایج تحقیق گارسیا و همکاران نشان می‌دهد که مکمل بتاکاروتن به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی، استرس اکسیداتیو ناشی از نانوذرات نقره را مهار می‌کند [۱۸]. در مطالعه حاضر نیز در گروه‌های آزمایشی میزان TG و LDL نیز در گروه‌های تزریق mg/kg ۳۲ و mg/kg ۱۶ کاهش یافته است که دلیل این کاهش، خاصیت آنتی‌اکسیدان کاروتنوئید می‌باشد اما در گروه گاواژ میزان LDL افزایش یافت که دلیل آن‌را می‌توان به عملکرد رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو ناشی از روش دریافت دانست. استرس اکسیداتیو در نتیجه نبود تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن از یک‌سو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می‌شود. به‌عبارت دیگر در سیستم‌های بیولوژیک هوازی به‌منظور مقابله با رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن، مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی طراحی شده است تا اثرات زیان‌بار این عوامل مهاجم را خنثی کند یا به حداقل برساند. برخی از اجزای این سیستم دفاعی نظیر آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و کاتالاز، همچنین اسیداوریک، بیلی‌روبین و مولکول‌های دارای گروه تیول یا آلفا E در داخل بدن ساخته می‌شوند ولی برخی دیگر نظیر ویتامین و بتاکاروتن، توکوفرول، ویتامین C باید از طریق رژیم غذایی تأمین گردند. در مطالعه لیندو و برندل[3] تأثیر مصرف مکمل لیکوپن بر برخی آنزیم‌های کبدی در موش‌های دیابتی بررسی گردید. در این مطالعه، افزایش میزان HDL مشاهده شد؛ لذا نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد که احتمالاً به‌دلیل نوع و دوز مصرفی کاروتنوئید است؛ زیرا کاروتنوئید مطالعه حاضر بتاکاروتن (۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ولی در مطالعه لیندو و برندل، لیکوپن (۰/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود و کاهش دوز مصرفی اثرات آنتی‌اکسیدانی آن را تحت تأثیر قرار داد که می‌تواند به‌جای تأثیرات مفید آنتی‌اکسیدان به‌صورت یک پرواکسیدان مضر عمل کند[۱۹].

کاردوسو و همکاران[4] در مطالعه‌ای تأثیرات بتاکاروتن (mg/kg ۰/۵۲) بر سمیت کبدی موش‌های آزمایشگاهی را بررسی کردند. درمان با بتاکاروتن، افزایش قابل‌توجهی در سطح گلیکوژن کبد و کاهش معنی‌داری در سطح کلسترول تام سرم و تری‌گلیسیرید را نشان داد. نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. احتمالاً تأثیرات جذب رادیکال‌های آزاد توسط کاروتنوئید باعث کاهش فعالیت سطح کلسترول سرم و تری‌گلیسیرید شده و سمیت کبدی را کاهش داده است [۲۰].

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که فعالیت LDL در گروه گاواژ افزایش یافته است که علت این میزان را می‌توان به استرس اکسیداتیو ناشی از گاواژ نسبت داد [۲۱]. VLDL و TG در گروه تزریق داخل صفاقی mg/kg ۳۲ کاهش معناداری را نشان دادند. علت این کاهش را به خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئید می‌توان نسبت داد [۲۲]؛ زیرا کاروتنوئید در ساختار خود دارای ۸ اتم هیدروژن و ۵ اتم کربن می‌باشد که رادیکال‌های آزاد، اتم‌های فعال و یا گروهی از اتم‌ها با تعداد الکترون‌های فرد هستند. وجود الکترون‌های فرد در ساختار رادیکال‌های آزاد، آن‌ها را ناپایدار و واکنش‌پذیر می‌سازد؛ بنابراین تمایل واکنش با اتم هیدروژن را دارند و طی انجام این واکنش رادیکال‌های آزاد به دام می‌افتند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئید فعال می‌گردد. گاه فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها به‌دلیل

1 Mussagy et al.
2 Garcia et al.
2 Lindow and Brandl
3 Cardoso et al.

استرس، شرایط محیطی ممکن است به سمت فعالیت پیش‌اکسیدانی تغییر یابد. پیش‌اکسیدان[1] به ترکیبی گفته می‌شود که با القای استرس اکسیداتیو، تعادل پیش‌اکسیدان – آنتی‌اکسیدان را به سمت فعالیت اکسیدانی پیش می‌برد و با کاهش سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، منجر به آسیب اکسیداتیو بافت‌ها می‌شود. غلظت‌های بالای کاروتنوئید می‌تواند نفوذپذیری غشا را نسبت به رادیکال‌های آزاد و مواد سمی بالا ببرد. براساس نتایج این تحقیق، کاروتنوئید استخراج شده از مخمر *رودوتورولا موسیلاژینوزا* نقش مؤثری در بهبود وضعیت پروفایل لیپیدی موش سوری نر دارد. نتایج بررسی میزان رطوبت، خاکستر کل، مواد فرار، عدد اسیدی و pH که در آزمایشگاه صنایع غذایی خوراسگان انجام شد نیز مطلوب بود؛ لذا احتمالاً امکان استفاده از این کاروتنوئید به‌عنوان مکمل غذایی وجود دارد، هرچند تحقیقات بیشتر در راستای بررسی سمیت کبدی ناشی از آن ضروری است. همچنین باید بهینه‌سازی تولید و استفاده از مواد ارزان‌قیمت برای توجیه اقتصادی مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

در آخر از همه دوستان و همکاران عزیز که در این تحقیق به ما کمک کردند تشکر می کنیم.

References

[1]. Meléndez-Martínez AJ, Mapelli-Brahm P, Stinco CM. The colourless carotenoids phytoene and phytofluene: From dietary sources to their usefulness for the functional foods and nutricosmetics industries. J. Food Compos. Anal. 2018;67:91–103.

[2]. Kot AM, Błażejak S, Kieliszek M, Gientka I, Bryś J . Simultaneous production of lipids and carotenoids by the red yeast Rhodotorula from waste glycerol fraction and potato wastewater. Appl Biochem Biotechnol.2019; 189 :589–607

[3]. Kot AM, Błażejak S, Kurcz A, Gientka I, Kieliszek M. Rhodotorula glutinis—potential source of lipids, carotenoids, and enzymes for use in industries. Applied microbiology and biotechnology. 2016;100(14):6103-17.

[4]. Zhao Y, Guo L, Xia Y, Zhuang X, Chu W. Isolation, identification of carotenoid-producing Rhodotorula sp. from marine environment and optimization for carotenoid production. Marine drugs. 2019;17(3):161.

[5]. Haouazine Y, Rmiki N, Riyahi J, Givernaud T, Mouradi A, Lemoine Y. Massive Accumulation of Carotene in Green Alga Dunaliella salina Induced by Variation of Nitrate and Salinity Meded. - Fac. Landbouwkd. Toegepaste Biol. 2015; 64: 435-438.

[6]. Rodriguez-Concepcion M, Avalos J, Bonet M.L, Boronat A, Gomez-Gomez L, Hornero-Mendez D,Limon M.C, Meléndez-Martínez A.J, Olmedilla-Alonso B, Palou A, et al. A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. Prog. Lipid Res. 2018;70: 62–93 .

[7]. Dos Santos PP, Paese K, Guterres SS, Pohlmann AR, Jablonski A, Flôres SH, et al. Stability study of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules under temperature and photosensitization. LWT-Food Science and Technology. 2016;71:190-5 .

[8]. Jaeschke DP, Menegol T, Rech R, Mercali GD, Marczak LDF. Carotenoid and lipid extraction from Heterochlorella luteoviridis using moderate electric field and ethanol. Process Biochemistry. 2016;51(10):1636-43.

[9]. Bachen EA, Muldoon MF, Matthews KA, ManuckSB. Effects of Hemoconcentration and Sympathetic Activation on Serum Lipid Responses to Brief Mentalstress. Psychosom Med. 2015; 64(4): 587-94.

[10]. Fredrikson M, Lundberg U, Tuomisto M. Serum Lipid levels and Cardiovascular Reactivity.J Psychophysiol. 2015; 9: 717-736.

[11]. Mohammadi B, Madani M, Ahadi AM. The Effect of Carotenoid Produced by Rhodotorula Mucilaginosa UIMC35 on Aspergillus Fumigatus, Aspergillus Flavus, and Mucor Hiemalis. Qom University Medical Science Journal. 2017; 11: 46-56. (Persian).

[12]. Manimala M, Murugesan R. Characterization of carotenoid pigment production from yeast Sporobolomyces sp. and their application in food products. J Pharm Phytochem. 2018;7:2818-21.

[13]. Lin X, Gao N, Liu S, Zhang S, Song S, Ji C, et al. Characterization the carotenoid productions and profiles of three Rhodosporidium toruloides mutants from Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation. Yeast. 2017;34(8):335-42.

[14]. Issa S, Alhajali A, Alamir L. Improving carotenoid pigments production in Rhodotorula mucilaginosa using UV irradiation. International Food Research Journal. 2016;23.(۲)

[15]. National Iranian Standard No. Authorized Food Additives - Edible Colors - Public Services Regulation and Provision. Iranian Institute of Standards and Public Management. 2013. (Persian)

[16]. Bandegi AR, Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Ghadrdoost B. Protective Effects of Crocus SativusL. Extract and Crocin Against Chronic -Stress Induced oxidative Damage of Brain, Liver and Kidneys Inrats. Advanced Pharmaceutical Bulletin. 2014; 4: 493-499. (Persian)

[17]. Mussagy C.U, Winterburn J, Santos-Ebinuma V.C, Pereira J.F.B. Production and extraction of carotenoids produced by microorganisms. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2019; 103: 1095–1114.

[18]. Garcia MP, Parca RM, Chaves SB, SilvaLP, Santos AD, Marques Lacava ZJ, et al. The Effect of Iron Nanoparticles on Iron and Related Enzymes and the Protective Effects of Food Supplements Against this Damage in Mice. Journal of Magnetism and Magnetic Materials. 2017; 293: 277-82 .

[19]. .Lindow S E, Brandl M T. Effect of Supplementation of lycopene on some liver Enzymes in Diabetic Rats. Applied and Environmental Microbiology. 2015; 69(4): 1875-1883.

[20]. Cardoso Ligia Alves da Costa , Karen Yuri Feitosa Kanno and Susan Grace Karp. Microbial production of carotenoids – A review. African Journal of Biotechnology. 2017 ;16(4): 139-146.

[21]. .Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clin Chim Acta. 2014; 90: 37-43.

[22]. BarakaA A, Abeer E A, Mohamed E. Using whey for Production of Carotenoids by Rhodotorula glutinis. Middle East Journal of Applied Sciences. 2014; 4(2): 385-391.

4 Prooxidant