مجله دنیای میکروب‌ها
سال هشتم شماره دوم (پیاپی ۲۳) تابستان ۱۳۹۴
صفحات ۱۳۸-۱۳۰

Original Article

بهینه سازی شرایط تولید رنگدانه کاروتنویید توسط سویه بومی *هالوآرکیا لیپولیتیکال*

معصومه محمدی[۱]، احمد علی پوربابایی*[۲]، علی جوادی[۳]

[۱]کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، دانشکده علوم پایه، گروه میکروب شناسی، [۲]دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، دانشکده علوم پایه، گروه میکروب شناسی، [۳]مربی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، دانشکده علوم پایه، گروه میکروب شناسی.

چکیده

سابقه و هدف: یکی از منابع تولید کننده رنگدانه های کاروتنوییدی آرکیاهای هالوفیلیک می باشند. ویژگی های آنتی اکسیدانی، ضد توموری و رنگدهی کاروتنوییدها موجب به کارگیری آنها در صنایع داروسازی، غذایی و شیلات شده است. این مطالعه با هدف بهینه سازی شرایط تولید رنگدانه کاروتنویید توسط سویه بومی آرکیای هالوفیل، *هالوآرکیا لیپولیتیکال* انجام شد.

مواد و روش ها: این مطالعه به صورت تجربی بر روی *هالوآرکیا لیپولیتیکال* جداسازی شده در پژوهش های قبلی از آب های بندر بوشهر انجام گرفت. به منظور دست یابی به شرایط بهینه تولید رنگدانه و رشد در *هالوآرکیا لیپولیتیکال*، عواملی مانند: دما، pH، منابع کربن، منابع نیتروژن، غلظت کلرید سدیم ، تاثیر یون ها و فلزات سنگین و مقایسه آن ها با منحنی استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: آنالیزهای آماری نشان داد که شرایط بهینه تولید رنگدانه کاروتنویید: دمای ۳۵ درجه سیلیسیوس در ساعت ۸۸ به وزن ۳۹/۳ میکروگرم، pH ۸ در ساعت ۱۲۰ به وزن ۱۵/۷۷ میکروگرم، منبع نیتروژنی کازیین پپتون همراه با عصاره مخمر در ساعت ۷۲ به وزن ۱۳/۳۸ میکروگرم، غلظت نمک ۱۶ درصد در ساعت ۹۶ به وزن ۱۵/۷۷ میکروگرم، منبع کربن نشاسته در ساعت ۹۶ به وزن ٤٤/٤ میکروگرم و حضور سولفات منگنز در ساعت ۱۲۰ به وزن ٥٦ میکروگرم می باشد.

نتیجه گیری: به دلیل غیر بیماری زا بودن آرکیا، در دسترس بودن منابع رشد و میزان غلظت نمک بالا در محیط کشت، استفاده از این سویه در تولید محصولات کاروتنوییدی در صنایع مختلف پیشنهاد می گردد.

واژگان کلیدی: کاروتنویید، آرکیای هالوفیلیک، بهینه سازی.

دریافت مقاله: اسفند ماه ۹۳ پذیرش برای چاپ: اردیبهشت ماه ۹٤

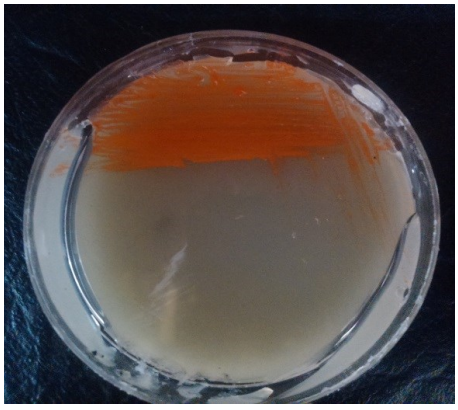
مقدمه

کاروتنوییدها یک گروه مهم از ترکیبات فعال زیستی هستند که به وسیله طیف وسیعی از ارگانیسم ها مانند گیاهان، قارچ ها، مخمرها، جلبک ها و باکتری ها تولید می شوند (۱). برخی از این ترکیبات به دلیل ساختار خاص خود، توانایی جذب نور را به صورت انتخابی دارند که اصطلاحا رنگدانه نامیده می شوند (۲). کاروتنوییدها مولکول های هیدروفوب هستند و در غشای فتوسنتزی و یا غشای سلولی ارگانیسم های فتوتروف و هتروتروف تجمع می یابند و مسئول ایجاد رنگ های زرد، نارنجی و قرمز در طبیعت می باشند (۸-۳).

این ترکیبات علاوه بر نقش فعال در فرآیند فتوسنتز ارگانیسم های فتوتروف، نقش برجسته ای در حفاظت سلول در برابر فشارهای اکسیداتیو و نیز سیالیت غشای سلولی بر عهده دارند. این امر موجب پراکندگی میکروارگانیسم های کاروتنوییدی در شرایط مختلف محیطی می گردد (۹ و ۱۰). کاروتنوییدها توسط حیوانات و انسان ها به شکل های گوناگون مورد استفاده قرار می گیرند. به عنوان نمونه رنگدانه در زرده تخم مرغ پرندگان، برای رنگ آمیزی گوشت ماهیان

*) آدرس برای مکاتبه: قم ، بلوار ۱۵ خرداد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، گروه میکروب شناسی.
تلفن: ۰۹۱۲۷۵۹٤۹۳۲ پست الکترونیک: Ahmadalipb@gmail.com

پرورشی در شرایط آبزی پروری و به عنوان رنگ پوست در سخت پوستان مشاهده می شوند (۱٤-۱۱). همچنین از کاروتنوییدها به طور گسترده ای برای رنگ آمیزی مواد غذایی در مصارف انسانی و نیز به عنوان یکی از اجزای اصلی سازنده ویتامین ها و مکمل های رژیم غذایی استفاده می شود (۱۹-۱۵). به کمک مطالعات اپیدمیولوژیک و بالینی انجام شده می توان در مورد اثر مستقیم کاروتنوییدها به عنوان یک وسیله کاهنده در بیماری های مزمن استفاده نمود (۲۰). تا کنون بیش از ٦۰۰ نوع ترکیب کاروتنوییدی در طبیعت شناسایی شده است که تنها تعداد اندکی از آنها به صورت تجاری استفاده می شوند و اغلب کاروتنوییدهای صنعتی از طریق سنتز شیمیایی تولید می گردند (۵). با افزایش اهمیت جهانی برای اجتناب از تاثیرات نامطلوب رنگ های غذایی سنتزی به عنوان عوامل آلرژی زا، حساسیت های شدید، ضعف و بیش فعالی در کودکان، این عوامل باعث افزایش علاقه مندی در استفاده از محصولات بیولوژیکی کاروتنوییدها می شود (٦). باکتری های نمک دوست یکی از گزینه های مناسب تولید میکروبی کاروتنوییدها محسوب می شوند (۷). هالوآرکیای لیپولیتیکال (*Haloarchaea lipolitical*) جزء آرکیاهای بسیار نمک دوست است و از نظر ویژگی های مورفولوژیکی، کلنی های نارنجی رنگ با کناره صاف، نرم، محدب و با قطر ۳ میلی متر، از نظر آرایش میکروسکوپی کوکسی زنجیره ای، گرم مثبت، کاتالاز و اکسیداز مثبت، سیمون سیترات منفی، احیای نیترات مثبت می باشد. محدوده



شکل ۱: محیط کشت *آرکیا هالولیپولیتیکال* تولید کننده کارتنویید.

رشد این سویه در نمک NaCl، ۸ تا ۳۰ درصد و دارای بهینه رشد در نمک ۱۲ درصد می باشد. همچنین از نظر حساسیت آنتی بیوتیکی مقاوم به ریفامپسین است (۱۲-۹).

در سال ۱۹۸۱ برووِیتزا (Browitza) و همکاران دو جنس *هالوباکتریوم* (*Halobacterium*) و *هالوکوکوس* (*Halococcus*) را به عنوان آرکیاهای غالب در محیط های پر شور معرفی کردند. آشا (Asha) و همکاران در سال ۲۰۰۵ از ساحل نمکی کشور هند نمونه هایی از آرکیاهای هالوفیل جداسازی کردند که قادر به تولید رنگدانه بودند (۱۳). در سال ۲۰۰۹ یاشائی (Yachai) و همکاران آرکیای هالوفیل تولید کننده رنگدانه را از دریاچه نمک در کشور تایلند جداسازی نمودند (۱٤).

در سال ۲۰۱۰ خنافری (Khanafari) نمونه ای از هالوآرکیا را از بندر امام خمینی به دست آورد (۱۵). در سال ۲۰۰۱۳ نظری (Nazari) و همکاران سویه *هالوروبریوم* که نمونه ای از هالو آرکی باکتر می باشد را از دریاچه ارومیه جداسازی نمودند (۱۹). هدف از این مطالعه بهینه سازی شرایط تولید رنگدانه کاروتنویید توسط سویه بومی آرکیای هالوفیل به نام *هالوآرکیا لیپولیتیکال* بود.

مواد و روش ها

الف) آرکی باکتر و محیط کشت: سویه مورد بررسی در پژوهش قبلی از آب های بندر بوشهر جداسازی گردید و با آزمون های بیوشیمیایی و تعیین توالی ژن *16S rRNA* مورد شناسایی قرار گرفت. این توالی در بانک جهانی ژن با شماره KJ 499812 به ثبت رسید و ساختار ۵۰ کربنه باکتریوروبرین در رنگدانه کارتنویید این سویه تایید گردید (۱۷).

در این مطالعه از محیط کشت ساختگی(شکل ۱) شامل ترکیبات پیچیده (گرم در میلی لیتر): کازئین پپتون (۰/۵)، عصاره مخمر (۰/۲)، گلوکز (۰/۱)، آگار (۲)، NaCl (۱٦)، کلرید پتاسیم (٤/۰)، $MgSO_4.7H_2O$ (۱/۹)، $MgCl_2.2H_2O$ (۱/٤)، $CaCl_2.2H_2O$ (۰/۷)، $NaHCO_3$ (۰/۰۱)، NaBr (۰/۰۰۵) و آب مقطر استریل (۱۰۰ میلی لیتر)استفاده گردید (۱٤). pH محیط قبل از اتوکلاو توسط بافر تریس بیس ۱ مولار حدود

۷/٤-۷/۲ تنظیم گردید. مواد مورد استفاده در این پژوهش از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

ب) بهینه سازی شرایط محیط کشت: به منظور دست یابی به میزان بالای رشد و تولید بیشتر رنگدانه کاروتنویید، عوامل موثر در تولید با استفاده از روش یک عامل در یک زمان و بر اساس برتری در تولید بهینه سازی شدند. برای آماده سازی نمونه ها از محیط کشت مایع مغذی حاوی ١٦ درصد نمک طعام استفاده شد. در فلاسک های ۱۰۰ میلی لیتری مقدار ۵۰ میلی لیتر محیط کشت منتقل و اتوکلاوگردید. سوسپانسیون سلولی با کدورت معادل نیم مک فارلند در آب نمک ۲۰٪ استریل تهیه شد. ۵ میلی لیتراز سوسپانسیون سلول به فلاسک ها تلقیح گردید و به مدت ۷ روز در دمای ۳۷ درجه سیلسیوس با هوادهی ۱۵۰ دور در دقیقه گرما گذاری شدند.

به منظور بهینه سازی محیط کشت تمامی مراحل آزمایش مطابق با روش یاد شده شامل تغییرات شرایط فیزیکو شیمیایی محیط کشت مانند دما (۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۳۷ درجه سیلیسیوس)، تغییرات میزان pH (٦، ۷، ۷/٤ و ۸) و همچنین منابع غذایی محیط کشت که شامل تغییر میزان درصد نمک NaCl (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ١٦، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درصد)، تغییرات منابع نیتروژنی (کازئین پپتون، عصاره مخمر، عصاره گوشت، کلرید آمونیوم و به صورت توأم عصاره گوشت و کازئین پپتون، عصاره گوشت و کلرید آمونیوم، عصاره گوشت و عصاره مخمر و کازئین پپتون و عصاره مخمر)، تغییرات منابع کربنی (گلوکز، فروکتوز، لاکتوز، رافینوز، نشاسته و ساکاروز) و حضور یون ها و فلزات سنگین در محیط کشت (سولفات روی، سولفات منگنز، سولفات مس، کلرید آهن، کلرید کادمیوم و کلرید کبالت) مورد ارزیابی قرار گرفت (١٤).

ج) منحنی رشد: طیف جذبی (OD) میزان رشد آرکیا در دماهای مختلف هر ۸ ساعت و در سایر منابع هر ۱۲ ساعت در محدوده طول موج ٦٢٠ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway) با ۳ بار تکرار ثبت شد. منحنی های رشد در شرایط مختلف بر اساس طیف های جذبی به دست آمده ترسیم گردیدند (۸).

د) استخراج رنگدانه و آنالیز: به منظور استخراج رنگدانه ۵۰ میلی لیتر محیط کشت مایع در دور ۸۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس روماند دور ریخته شد و استخراج رنگدانه ها از رسوب سلولی صورت گرفت. برای این منظور، حلال های متانول و استن سرد (به نسبت ۱:۱) به رسوب سلولی اضافه شدند. پس از مخلوط کردن کامل رسوب با حلال، ۱ ساعت در دمای یخچال نگهداری شدند تا استخراج رنگدانه ها کامل گردد. سپس مخلوط سانتریفیوژ شد و پس از جمع آوری عصاره رویی، طیف جذبی نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در محدوده ٤٢٠ نانومتر ثبت گردید (۱۰).

ه) محاسبه میزان کل کاروتنویید: میزان کل کاروتنویید در هر مرحله مطابق با فرمول زیر محاسبه گردید (۱۱):

$$\frac{A \times \text{Volume(ml)} \times 10^4}{A_{1CM}^{1\%} \times sample\ weight(g)}$$

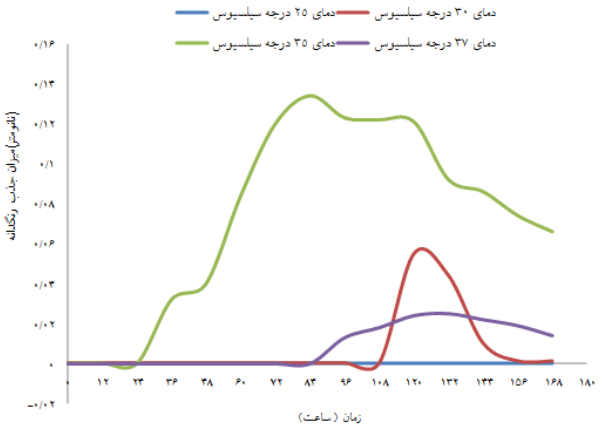
در این فرمول A : جذب در طول موج ٤٩٣ نانومتر، volume: حجم کل حلال مصرفی، $A_{1CM}^{1\%}$: ضریب جذب کارتنویید در حلال مصرفی (میزان برابر با ۲۵۹۲) می باشد.

یافته ها

الف) بهینه سازی دما: بالاترین میزان تولید رنگدانه در دمای ۳۵ درجه سیلیسیوس مشاهده گردید. تولید رنگدانه در ساعت ۸۸ با میزان جذب نوری ۰/۱۳۵ نانومتر به بالاترین میزان خود رسید. میزان وزن کاروتنویید ۳۹/۳ میکروگرم تخمین زده شد (نمودار ۱) . همان طور که در منحنی مشاهده می شود، کمترین میران تولید رنگدانه در دمای ۳۰ درجه سیلیسیوس مشاهده شد و در دمای بالاتر از ۳۵ درجه سیلیسیوس میزان تولید رنگدانه با کاهش همراه بود (شکل ۲).

ب) بهینه سازی pH بالاترین میزان تولید محصولات کاروتنوییدی در pH ۸ در ساعت ۱۲۰ مشاهده گردید. میزان جذب نوری کاروتنویید ۰/۱۸۳ نانومتر با وزن ۱۵/۷۷ میکروگرم به دست آمد (نمودار ۲).

بر اساس منحنی، کمترین میزان تولید رنگدانه در pH ٦ مشاهده



نمودار ۱: تغییرات تولید رنگدانه کاروتنویید توسط سویه *هالوآرکیا لیپولیتیکال* در دماهای متفاوت در مدت ۱٦۸ ساعت.

شکل ۲: تولید رنگدانه کاروتنویید در دماهای مختلف توسط سویه *هالوآرکیا لیپولیتیکال*.

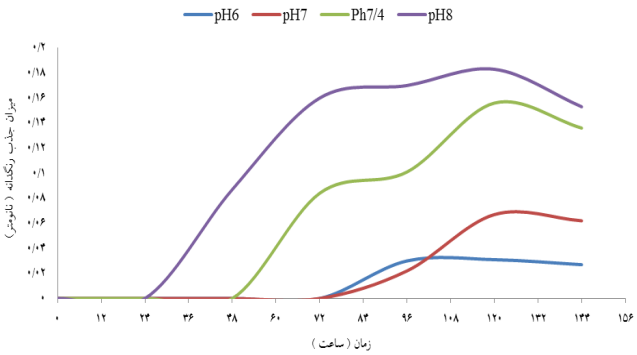
شد و با بالا رفتن میزان pH تولید رنگدانه نیز افزایش یافت.

ج) بهینه سازی نمک(NaCl) : پس از بهینه سازی محیط کشت در غلظت های مختلف NaCl، بالاترین میزان تولید رنگدانه در غلظت نمک ۱٦ درصد در ساعت ۹٦ با میزان جذب ۰/۱۸۳ نانومتر و وزن ۱۵/۷۷ میکروگرم به دست آمد (نمودار ۳). همان گونه که در منحنی مشاهده می گردد، تولید رنگدانه در میزان نمک ۱۵ درصد آغاز و در غلظت نمک ۳۰ درصد به کمترین میزان خود رسید.

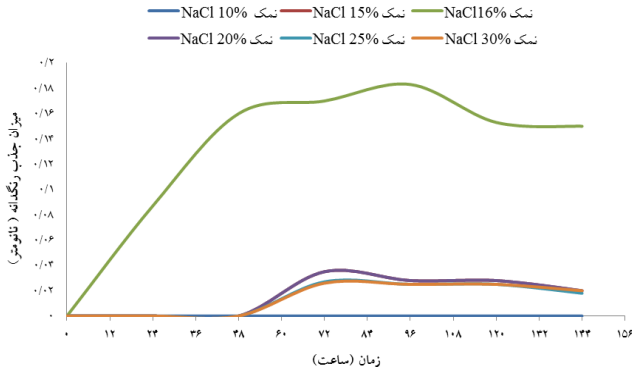
د) بهینه سازی منبع نیتروژن: به منظور بهینه سازی محیط کشت از نظر منابع نیتروژنی به دو شکل این کار انجام گرفت. در روش اول ابتدا یک منبع نیتروژنی وارد محیط کشت شد که در منبع نیتروژنی عصاره گوشت ساعت ۷۲ با میزان جذب نوری ۰/۷۵۱ بالاترین میزان تولید رنگدانه در ساعت ۹٦ با میزان جذب نوری ۰/۰۸۷ نانومتر و وزن ۳۰/۵۱ میکروگرم مشاهده گردید (نمودار ٤). در سایر منابع نیتروژنی تولید رنگدانه مشاهده نشد.

در روش دوم منابع نیتروژنی به صورت توام به کار برده شدند. بالاترین میزان تولید رنگدانه در منبع نیتروژنی عصاره مخمر و کازئین پپتون در ساعت ۷۲ مشاهده گردید. با جذب نوری ۰/۱۸۳ نانومتر با وزن ۱۳/۳۸ میکروگرم گزارش شد (نمودار ۵).

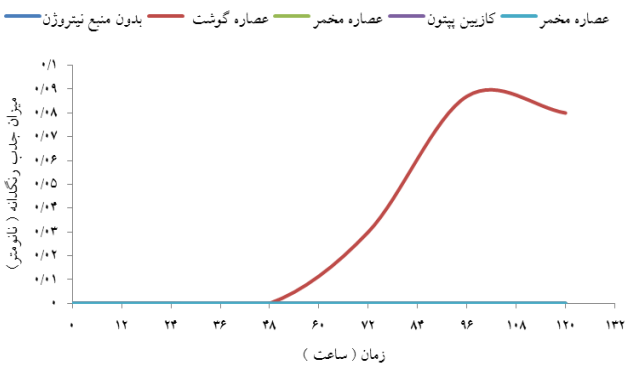
و) بهینه سازی منابع کربن: بالاترین میزان تولید رنگدانه در منبع کربن نشاسته در ساعت ۹٦ با میزان جذب ۰/۰۱۹ به وزن ٤/٤٤ میکروگرم مشاهده شد (نمودار ٦). همان طور که در



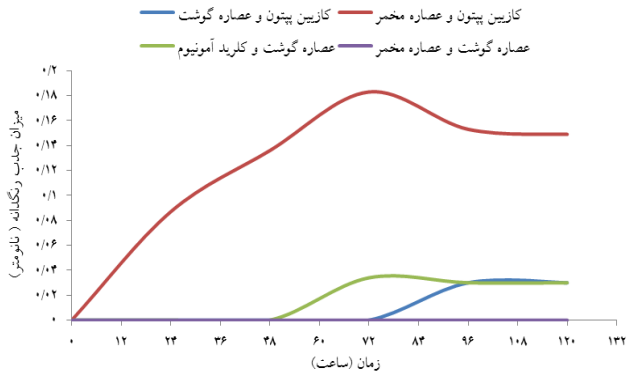
نمودار ۲: تغییرات تولید رنگدانه کاروتنویید توسط سویه *هالوآرکیا لیپولیتیکال* در pH های مختلف در دمای ۳۵ درجه سلسیوس در طول ۱٤٤ ساعت.



نمودار ۳: تغییرات تولید رنگدانه کاروتنویید *هالوآرکیا لیپولیتیکال* در درصد متفاوت نمک NaCl در دمای ۳۵ درجه سلسیوس در مدت ۱٤٤ ساعت.



نمودار ٤: تغییرات تولید رنگدانه کاروتنویید توسط سویه *هالوآرکیا لیپولیتیکال* در منابع نیتروژنی در دمای ۳۵ درجه سیلیسیوس در مدت ۱۳۲ ساعت.



نمودار ٥: تغییرات تولید رنگدانه کاروتنویید توسط سویه *هالوآرکیا لیپولیتیکال* در منابع نیتروژنی در دمای ۳۵ درجه سیلیسیوس در مدت ۱۲۰ ساعت.

نمودار مشاهده می شود، کمترین میزان تولید رنگدانه در منبع کربنی لاکتوز مشاهده گردید.

ز) تاثیر یون ها و فلزات سنگین: به منظور مشاهده تاثیر برخی از یون ها و فلزات سنگین یاد شده ، پس از بهینه سازی محیط کشت با عوامل یاد شده یون ها و فلزات به صورت مجزا وارد محیط کشت شدند و تاثیر آنها به صورت زیر مشاهده گردید:

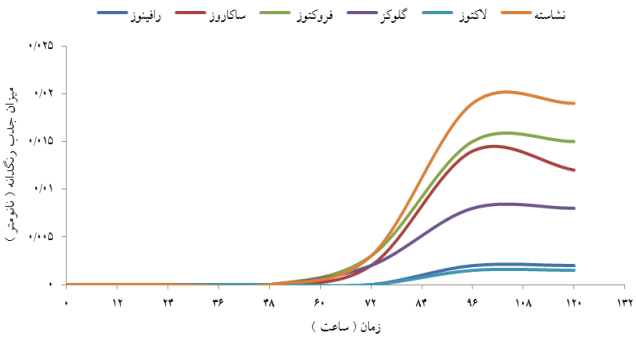
بالاترین میزان تولید رنگدانه کاروتنویید در حضور سولفات منگنز در ساعت ۱۲۰ با میزان جذب ۰/۰٦٥ نانومتر با وزن ۵۹/۰۰۵ میکروگرم گزارش شد (نمودار ۷). همان گونه که ملاحظه می شود، در حضور کلرید کادمیوم رنگدانه تولید نشد.

بحث

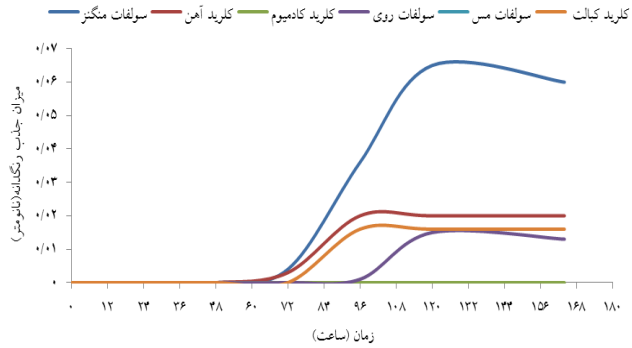
مطالعات اخیر نشان داده است که برخی از رنگدانه ها دارای عملکردهای بیولوژیک مهمی مانند آنتی بیوتیکی، ضد قارچی و ضد توموری هستند. از این رو بسیاری از آنها اثرات شیمی درمانی بالقوه ای دارند (۱۲).

تولید این رنگدانه ها از میکروارگانیسم ها با توجه به رشد سریع و آسان، محیط کشت ارزان، استخراج آسان، عدم وابستگی به شرایط جوی و گستردگی تنوع رنگ بیشتر، نسبت به سایر منابع زیستی دارای مزایای بیشتری هستند.

در این مطالعه سویه *هالوآرکیا لیپولیتیکال* جداشده در پژوهش قبلی، نشان داد که پتانسیل مناسبی در تولید محصولات کاروتنوییدی دارد. وجود کاروتنویید ۵۰ کربنه باکتریوروبرین در



نمودار ٦: تغییرات تولید رنگدانه کاروتنویید توسط سویه *هالوآرکیا لیپولیتیکال* در منابع کربنی مختلف در دمای ۳۵ درجه سیلیسیوس در طول ۱۳۲ ساعت.



نمودار ۷: تغییرات تولید رنگدانه کاروتنویید توسط سویه *هالوآرکیا لیپولیتیکال* در حضور یون ها و فلزات سنگین در دمای ۳۵ درجه سیلیسیوس در طول ۱٦۸ ساعت.

این *هالوآرکیا* به اثبات رسیده است (۱۷). سویه مورد نظر که در طول موج حدود ٤۹۲ نانومتر حداکثر جذب را نشان داد به احتمال بسیار حاوی کاروتنوییدهایی با ۱۳ پیوند دوگانه به عنوان کاروتنویید اصلی می باشد (۲).

اولین بار کیلی (Kelly) و همکاران در سال ۱۹۷۰ وجود کاروتنویید ۵۰ کربنه باکترویوروبرین را در باکتری *هالوباکتریوم سالیناروم* (*Halobacterium salinarum*) گزارش کردند.

در سال ۱۹۷۲ تولید کاروتنویید ٤۰ کربنه دهیدرواسکوالن در باکتری *هالوباکتریوم کوریم* (*Halobacterium curim*) گزارش گردید. در این پژوهش نیز رنگدانه باکتریوروبرین طبق بررسی های کروماتوگرافی و بیوشیمیایی به اثبات رسید (۱۷).

در مطالعه حاضر، دمای بهینه برای تولید رنگدانه کاروتنویید در دمای ۳۵ درجه سیلیسیوس گزارش گردید.

انوپاما (Anopama) و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ با جداسازی آرکیای جدا شده از سواحل نمکی هندوستان، بالاترین دمای بهینه برای رشد و تولید رنگدانه را ۳۵ درجه سیلسیوس معرفی نمودند (۱٦) که با نتیجه به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی دارد.

آشا (Asha) و همکاران در سال ۲۰۰۵ از ساحل نمکی کشور هند آرکیاهای هالوفیل جداسازی کردند که توانایی تولید رنگدانه در دمای بهینه ٤۲ درجه سیلیسیوس را داشت (۱۳). در سال ۲۰۰۹ یاشایی (Yachai) و همکاران آرکیای هالوفیل تولید کننده رنگدانه را از دریاچه نمک در کشور تایلند جداسازی نمودند که در دمای بهینه ۳۷ درجه سیلیسیوس قادر به تولید رنگدانه بود (۱٤).

در سال ۲۰۱۰ خنافری (Khanafari) نمونه ای از هالوآرکیا را از دریاچه نمک بندر امام خمینی به دست آورد که دمای بهینه رشد و تولید رنگدانه در دمای ۲۵ درجه سیلیسیوس گزارش گردید (۱۵).

آسکر (Asker) و همکاران در سال ۱۹۹۹ در کشور مصر توانستند تولید رنگدانه یک باکتری را در دمای ۳۷ درجه سیلیسیوس بهینه سازی نمایند (۸). با توجه به نتایج مطالعات یاد شده، ماهیت گرما دوست آرکیا و بهینه سازی رشد و تولید رنگدانه در دمای ۳۰ تا ٤۰ درجه سیلیسیوس به اثبات می رسد. از طرفی در دماهای بالاتر کاهش رشد و تولید رنگدانه نیز مشاهده می شود. در این مطالعه در بررسی اثر pH مشخص گردید که pH ۸ به عنوان pH بهینه رشد و تولید رنگدانه مطرح می باشد. این یافته با نتایج به دست آمده در سایر مناطق جهان که تولید رنگدانه توسط سویه های هالو آرکیا در محیط قلیایی را نشان می دهد، هم خوانی دارد (۸، ۱٦-۱٤).

در مطالعه حاضر، بهینه سازی محیط کشت از نظر در صد نمک NaCl نشان داد که بهینه رشد و تولید رنگدانه در شرایط نمک ۱٦ درصد می باشد. آشا (Asha) و همکاران (۱۳) غلظت بهینه نمک در محیط کشت سویه های *هالوآرکیا* را بین ۲۵-۳۲ درصد، یاشایی(Yachai) (۱٤) و آسکر(Asker) (۸) غلظت نمک را ۲۵ درصد، خنافری (Khanafari) و همکاران (۱۵) غلظت نمک را بین ۱۵-۳۰ درصد گزارش کردند.

دلیل تفاوت نتایج مطالعات یاد شده را می توان به شرایط متفاوت اکولوژیکی نسبت داد که می تواند در متابولیسم و فیزیولوژیک هالو باکتری های مناطق مختلف تاثیر گذار باشد. با تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده بهینه سازی محیط کشت از نظر عوامل فیزیکوشیمیایی و بررسی سایر پژوهش های انجام گرفته می توان نتیجه گرفت که تغییرات دما، pH و درصد نمک NaCl از عوامل مهم رشد و تولید رنگدانه کاروتنویید در آرکیاهای هالوفیلیک می باشد.

نتیجه گیری

رنگدانه کاروتنویید هالوآرکیا یکی از متابولیت های مهم کاربردی در صنعت و داروسازی می باشد. با توجه به وجود منابع زیستی بسیار گسترده این نوع میکروارگانیسم ها در ایران، پیشنهاد می گردد که علاوه بر بهینه سازی محیط کشت از نظر سایر منابع فیزیکوشیمیایی، ژن های مولد رنگدانه نیز شناسایی گردند. همچنین تخلیص کاروتنویید و شناسایی ساختار مولکولی آن با هدف استخراج و تولید بهینه محصول مورد نظر و نیز کاربرد آن در صنعت پیشنهاد می گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مسئولین آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Kumar PA, Aravind R, Francis K, Bhumika V, Ritika C, Priyashanth P. Shivajiella indica gen. nov., sp. nov., a marine bacterium of the family *Cyclobacteriaceae* with nitrate reducing activity. Sys Appl Microbiol. 2012; 35: 320-325.

2. Esteban R. Fernando M. Becrril J. Versatility of carotenoids: A integrated view on diversity b, evolution , functional roles and enviromental interactions. Elsevier. 2015.

3. Asker D, Beppu T, Ueda K. Unique diversity of carotenoid-producing bacteria isolated from Misasa, a radioactive site in Japan. Appl Microbiol Biotechnol. 2007; 77: 383-392.

4. Sikorski ZE. The role of nitrogenous compounds in food quality. Chemical Functional Properties Food Protein. 2001; 1: 1-8.

5. Duggan JM, Duggan AE. Malignant colorectal neoplasm-carcinoma. Epidemiol Alimentary Dis. 2006; 4: 105-118.

6. Spence C. On the psychological impact of food colour. Spence Flavour. 2015; 4: 21.

7. Alcaino A, Baeza M, Cifuentes V. Astaxanthin and related Xanthophylls . Fungal Biol. 2014; 3: 187-208.

8. Asker D, Ohta Y. Production of canthaxanthin by extremely halophilic bacteria. J Bioscience Bioengineering. 1999; 88: 617-621.

9. Chen D, Han Y, Gu Z. Application of statistical methodology to the optimization of fermentative medium for carotenoids production by Rhodobacter sphaeroides. Process Biochem. 2006; 41: 1773-1778.

10. Oren A, Heldal M, Norland S, Galinski EA. Intracellular ion and organic solute concentrations of the extremely halophilic bacterium *Salinibacter* ruber. Extremophiles. 2002; 6: 491-498.

11. Rodriguez-Amaya DB, Kimura M. Harvest Plus handbook for carotenoid analysis: International Food Policy Research Institute (IFPRI) Washington, DC, USA; 2004.

12. Khanim M, Danilenko M, Zango G. The anti-cancer effects of carotenoids and other phytonutrients resides in their combined activity. Elsevier. 2015; 2: 28-35.

13. Asha K, Vinitha D, Kiran SG, Manjusha W, Sukumaran N, Selvin J. Isolation and cultivation of Halophilic Archaea from solar salterns located in peninsular coast of India. Int J Microbiol. 2005; 1:1.

14. Yachai M. Carotenoid production by halophilic Archaea and its applications: Prince of Songkla University; 2009.

15. Khanafari A, Khavarinejad D, Mashinchian A. Solar salt lake as natural environmental source for extraction halophilic pigments. Iranian J Microbiol. 2010; 2: 103.

16. Pathak AP, Sardar AG. Isolation and characterization of carotenoid producing Haloarchaea from solar saltern of Mulund, Mumbai, India. Indian J Natural Products Resources. 2012; 3: 483-488.

17. Porbabai A, Tavakoly S. 2009. The study of carotenoied pigment production capabilities halophilic bacteria isolated from saline enviroments. M.Sc., thesis. Islamic Azad University, Qom branch. [In Persian]

18. Carlos L,Cesar montanes J, Mndez AL. Biotechnological production of carotenoids by yeasts. Microbial Cell Factories. 2014, 13: 12.

19. Naziri D, Hamidi M, Hassanzadeh S, Tarhriz V. Analysis of carotenoid production by Halorubrum SP.TBZ126; an extremely halophilic archeon from Urmia lake. Adv Pharm Bull. 2014; 4: 61-67.

20. Linnewiel K, khanin M, Danilenko M. The anti cancer effects of carotenoids and other phytonutrients resides in their combined activity. Elsivier . 2015; 28-35.

Journal of Microbial World
Volume 8, No. 2, June 2015

Original Article

Optimization of carotenoid pigment production by native strains *Haloarchaea lipolitical*

Masomeh Mohammadi[1], Ahmad Ali Pourbabai[2], Ali Javadi[3]

[1]M.Sc., Department of Microbiology, Qom branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.
[2]Associate Professor, Department of Microbiology, Qom branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.
[3]Instructor , Department of Microbiology, Qom branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

Abstract

Background & Objectives: The halophilic Archaea are strong sources of carotenoid pigments. These compounds are used in the pharmaceutical industries and fisheries due to their antioxidant, anti-tumor and pigmentation properties. This study was aimed to increase the production of pigment Carotenoids by the strains *Haloarchaea lipolitical*.

Materials & Methods: This experimental study was performed on *H. lipolitical*, isolated previously from water sources located at Bushehr. Effects of several factors, temperature, pH, carbon sources, nitrogen sources, different percentages of sodium chloride ions and the impact of heavy metals were compared with the standard curve to optimize the pigment production in *H. lipolitical.*

Results: Statistical analyzes showed the optimal amount of carotenoid pigment production conditions at a temperature 35℃ for 88 hours (39.3 µg), pH 8 for 120 hours (15.77 µg), casein peptone nitrogen source and yeast extract for 72 hours (13.28 µg), NaCl 16% for 96 hours (15.77 µg), starch carbon source for 96 hours (4.44µg) and the presence of manganese sulfate for 120 hours (59 µg).

Conclusion: Due to non-pathogenicity of *Archaea*, the availability of suitable sources for their growth and high levels of salt in the culture, this strain can be used for the production of carotenoids in various industries.

Keywords: Carotenoied, Halophilic archaea, Optimization.

Correspondence to: Ahmad Ali Pourbabai

Tel: +989127594932

E-mail: Ahmadali pb@gmail.com

Journal of Microbial World 2015, 8(2): 130-138.