KJPS Al-Kitab Journal for Pure Science
Vol.2 (2), ISSN: 2617-1260 (print), 2617-8141(online)
www.kjps.isnra.org

DOI: https://doi.org/10.32441/kjps.02.02.p20

دراسة تأثير أنواع مختلفة من الزيوت وعوامل الشد السطحي على قابلية إنتاج الكاروتينويدات من خميرة *Rhodotorula glutinis*

احمد إبراهيم صالح
كلية الزراعة / الحويجة، جامعة كركوك، كركوك، العراق.
ahmed_abc111@yahoo.com

الملخص

هدفت الدراسة لمعرفة تأثير أنواع مختلفة من الزيوت وعوامل الشد السطحي على قابلية إنتاج الكاروتينويدات من خميرة *Rhodotorula glutinis*. بينت النتائج أن أعلى نسبة كاروتينويدات كانت مع عامل الشد السطحي Tween 80 اذ بلغت ٢٠٥٦.٥٣ مايكروغرام/ لتر ثم تبعها كل من زيت الزيتون وزيت جوز الهند اذ بلغت الكمية ١٩٥٦.٥١ و ١٩٤٧.٤٥ مايكروغرام/ لتر على التوالي أما اقل القيم فكانت مع زيت الحبة السوداء اذا بلغت ١٠٥٧.٧٥ مايكروغرام/ لتر.

أما فيما يخص كمية السكر المستهلك فكانت أعلى القيم مع زيت الزيتون إذ بلغت ٢٤.٤٧٥ غم/لتر واقلها مع زيت الخروع اذ بلغت ٢٣.٩٦٧٢ غم / لتر. أما من ناحية كفاءة الإنتاج فكانت اعلى كفاءة إنتاج باستخدام زيت جوز الهند اذ بلغت القيمة ٨٩.٢٨٥ مايكروغرام /غرام والتي تبعتها المعاملة المحتوية على Tween 80 والبالغة ٨٦.٧٢٥ مايكروغرام /غرام. أما اقل نسبة كاروتينويدات إلى السكر المستهلك فكانت مع استخدام زيت الحبة السوداء اذ بلغت ٤٤.٣٢٢ مايكروغرام/غرام، أما فيما يخص الكتلة الحيوية فسجلت اعلى القيم لزيوت جوز الهند وزهرة الشمس واللوز الحلو اذ بلغت ١٠.٦٠ غم / لتر، واقلها كانت مع استخدام زيت الحبة السوداء اذ بلغت ٨.٦٠ غم / لتر، أما قيم الأس الهيدروجيني فقد شهدت انخفاضاً حاداً لجميع المعاملات فكانت بأعلى مستوى لها مع زيت الحبة السوداء اذ بلغت ٢.٦٢ واقلها مع زيت الزيتون اذ بلغت ٢.٥٥ وتراوحت قيمة الأس الهيدروجيني لبقية المعاملات ما بين تلك القيم.

الكلمات الدالة: تأثير الزيوت، عوامل الشد السطحي، الكاروتينويدات، *Rhodotorula glutinis*

KJPS Al-Kitab Journal for Pure Science
Vol.2 (2), ISSN: 2617-1260 (print), 2617-8141(online)
www.kjps.isnra.org

Effect of some types of oils and Surfactant factors on the production of carotenoids from the yeast of *Rhodotorula glutinis*.

Ahmed Ibrahim salih
College of Agriculture, hawija, Kirkuk University , Kirkuk, IRAQ.

ABSTRACT

The study aimed to investigate the effect of some types of oils and Surfactant factors on the production of carotenoids from the yeast of *Rhodotorula glutinis*. The results showed that the highest carotenoids were with Tween 80 with 2056. 53 micrograms / l followed by olive oil and coconut oil with a quantity of 1956.51 and 1947.45 µg / L respectively. The lowest values were with black seed oil at 1057.75 µg / L. As for sugar consumed was the highest values with olive oil as it was 24.475 g / l and the least with castor oil at 23.9672 g / l. In terms of efficiency of production was the highest production efficiency using coconut oil with a value of 89.285 µg / g followed by the treatment containing Tween 80, amounting to 86.725 microgram / g. The lowest percentage of carotenoids to the sugar consumed was with the use of black seed oil as it was 44.322 micrograms / gram. As for biomass, the highest values of coconut oil, sunflower and sweet almond were recorded at 10.60 g / l and the lowest was with the use of black seed oil as it reached 8.60 g / l. The pH values showed a sharp decrease in all treatments. The highest level was with black seed oil 2.62 and the lowest with olive oil 2.55. The pH value of the other treatments ranged between these values.

Key words: Effect of oils, Surfactant factors, carotenoids, *Rhodotorula glutinis*.

١. المقدمة:

في السنوات الأخيرة اصبح التوجه نحو استخدام الصبغات المنتجة من مصادر طبيعية في الغذاء ذو أهمية متزايدة كبديل عن تلك الأصباغ الصناعية الغير مرغوب فيها إذ يزداد الطلب في الأسواق وبشكل كبير على المركبات ذات

KJPS Al-Kitab Journal for Pure Science
Vol.2 (2), ISSN: 2617-1260 (print), 2617-8141(online)
www.kjps.isnra.org

الأصل الطبيعي يوم بعد يوم بسبب الوعي بالفوائد الصحية الإيجابية للمركبات الطبيعية، وتلعب المكونات الميكروبية دوراً أساسياً كعامل تلوين للعديد من الأغذية [1] .

تعد الكاروتينويدات ذات أهمية كبيرة للإنسان والحيوانات على حد سواء وذلك لقابليتها على تعزيز الاستجابة المناعية والتحول إلى فيتامين A وتنظيف الجسم من الجذور الحرة للأوكسجين [2]. لقد جذب الإنتاج الميكروبي للكاروتينويدات اهتماما واسعا، فعلى الرغم من توفر مختلف الكاروتينويدات الصناعية والطبيعية إلى ان هناك اهتماما متزايدا بالإنتاج من المصادر الميكروبية بالمقارنة مع الاستخلاص من الخضراوات أو الصناعات الكيميائية [3]. والسبب الرئيسي للتوجه نحو الإنتاج الميكروبي للكاروتينويدات هو المشاكل الفصلية والجغرافية المتنوعة المؤثرة في إنتاج الملونات العديدة ذات الأصل النباتي فضلا عن الجدوى الاقتصادية للتصنيع الميكروبي خصوصا عند استعمال مواد طبيعية منخفضة الكلفة كمصادر للكربون[4] . ومن بين الأحياء المجهرية المهمة المنتجة للكاروتينويدات فان سلالة الخمائر *Rhodotorula spp.* هي السلالة الأكثر إنتاجية للكميات الكبيرة من البيتا كاروتين[5] . أن معدلات تكوين الكاروتينويدات للخميرة قد ازداد بشكل كبير مع إضافة Tween 80 ١٪ حجم/حجم وكذلك مع إضافة زيت بذرة القطن [6] . وتشير البحوث الأولية على الإنتاج الميكروبي للكاروتين بان إضافة عامل منشط سطحي غير أيوني كـ Tritone x – 100 كان فعالاً بصورة إيجابية في التأثير على إنتاج البيتا الكاروتين بفعل الزرع المدمج للعفن *Blakeslea trispora* ، وذكر الباحثون بان إضافة زيت فول الصويا إلى الوسط الصناعي قد حسن من قابلية الإنتاج [7] . ان أضافة بعض العوامل لوسط التنمية كإضافة المنظفات والزيوت تزيد من القابلية التنافذيه للخلية مما يزيد من إنتاج الكاروتينويدات[8] . وقد درس تأثير العوامل السطحية المختلفة مثل (tritone x100,tween85,tween80,tween60,span40,span20) وبتركيز ٠.١ % على إنتاج البيتا كاروتين باستخدام المزارع المتزاوجة للعفن *B. Trispora* NRRL ٢٨٩٥ (+) و NRRL2896 (-)، فقد تبين أن Span 20 هو الأكثر أهمية من بقية العوامل التي تم اختبارها، وقد زاد من حاصل الكاروتين من ١.٥ ملغم/لتر إلى ٢ ملغم / لتر. أما العوامل السطحية الأخرى فلم تزيد الحاصل بشكل كبير، ان تركيز span 20 كان بحده الأمثل عند تركيز 0.2% والذي أدى إلى إنتاج ٢ملغم / لتر من البيتا كاروتين و ١٢.٣٦ غم/ لتر من وزن الخلية الجاف. أما التراكيز اعلى من ٠.٢٪ لهذا العامل قد خفضت الاستفادة من سكر الكلوكوز المتواجد في الوسط وبالتالي التخفيض في

KJPS Al-Kitab Journal for Pure Science
Vol.2 (2), ISSN: 2617-1260 (print), 2617-8141(online)
www.kjps.isnra.org

إنتاج البيتا كاروتين ويمكن التكهن بأن الزيادة في إنتاج البيتا كاروتين يمكن ان ينتج عن تصنيع حوامض trisporic. كما وأوضحوا بان الزيوت الطبيعية كزيت فول الصويا وزيت زهرة الشمس وزيت الزيتون وزيت الذرة وزيت النخيل قد تم اختبارها في وسط الإنتاج عند تركيز ٣٪ حجم/حجم لتحديد تأثيرها على إنتاج البيتا كاروتين بواسطة مزارع متزاوجة من *B. trispora* فتبين بأن زيت فول الصويا قد زاد من إنتاجية البيتا كاروتين بينما زيت الزيتون وزيت زهرة الشمس دعم النمو ولكنه خفض من إنتاج البيتا كاروتين. أما زيت النخيل وزيت الزيتون وزيت الذرة فقد أعطت نموا جيدا ولكنه حصل انخفاض في كمية البيتا كاروتين المنتج[9] .

٢. المواد وطرائق العمل:

جمع العينات:

تم الحصول على الزيوت المستخدمة في الدراسة من الأسواق المحلية وهي من إنتاج معمل عماد لصناعة الزيوت النباتية. أما مادة Tween 80 فكانت مجهزة من شركة SCRC الصينية.

مصدر الخميرة:

تم الحصول على خميرة *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis* من البنك الوطني لجمع الخمائر (إنكلترا) National collection yeast Culture (NCYC) ، نشطت العزلة بوسط yeast extract-malt extract agar (YMA) ثم جددت شهريا وحفظت على موائل من الوسط المذكور لحين الاستعمال.

وسط التخمر:

استخدم في التجربة وسط التخمر (٢٥ غم / لتر سكروز، ٢.٢ غم / لتر كبريتات الأمونيوم (NH4) 2SO4، ٢غم فوسفات البوتاسيوم أحادية الهيدروجين K2HPO4، ٢ غم / لتر فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين KH2PO4 و ٠.١ غم / لتر كبريتات المغنيسيوم MgSO4.7H2O مع قيمة اس هيدروجيني أولي PH=7 وحرارة ٣٠م باستخدام الحاضنة الهزازة على سرعة دوران ١٥٠ دورة / دقيقة وحددت نسبة الزيت المضاف بنسبة ٢٪ من حجم التخمر المستخدم.

KJPS Al-Kitab Journal for Pure Science
Vol.2 (2), ISSN: 2617-1260 (print), 2617-8141(online)
www.kjps.isnra.org

تحضير اللقاح:

تم إعداد اللقاح في الوسط yeast extract-malt extract Broth (YMB) بالنسب التالية محسوبة على أساس غم / لتر من وسط التخمر (خلاصة الخميرة ٣، خلاصة المالت٣، الببتون٥، وسكر الكلوكوز١٠)، وقيمة اس هيدروجيني ٥-٥.٥ والتلقيح لهذا الوسط من الوسط المائل الصلب بواسطة إبرة التلقيح بعشر مرات لـ ٥٠ مل من الوسط السابق ثم التحضين على حرارة ٢٨م واستخدام الحاضنة الهزازة على ١٠٠ دورة بالدقيقة لمدة ٢٤ ساعة لحين وصول قيمة الامتصاصية إلى ٥٧٠ نانوميتر [10] ليستخدم بعدها كلقاح لوسط التخمر في عملية الإنتاج.

تقدير وزن الخلايا الجاف (الكتلة الحيوية):

استخدم ٥٠ مل من مزرعة التخمر لتقدير وزن الخلايا الجاف اذ اجري عليها عملية النبذ المركزي بسرعة ٣٥٠٠ دورة / دقيقة لفترة زمنية مقدارها ١٥ دقيقة بعد ذلك غسل الراسب بالماء المقطر وعلى دفعتين وتم التخلص من ماء الغسل بعد كل غسلة وتعاد عملية النبذ المركزي ثم بعد ذلك أجريت عملية تجفيف العينات على حرارة ٨٥ م لحين ثبات الوزن. قدر الوزن الجاف للخلايا بصيغة غرام / لتر من حجم الوسط الزرعي [11] .

استخلاص وتقدير صبغة الكاروتينويد:

أجريت عملية النبذ المركزي لـ (٥٠) مل من مزرعة التخمر على ٣٥٠٠ دورة / دقيقة وبزمن مقداره ١٥ دقيقة. فصل الراشح عن الراسب لغرض تقدير الكربوهيدرات المتبقية في الراشح. أجريت عملية غسل الراسب ولمرتين مع إجراء النبذ المركزي مع كل مرة غسل والتخلص من ماء الغسل بعد كل عملية نبذ مركزي. أضيف بعدها ١٠ مل حامض الهيدروكلوريك (٠.٥ عياري) للخلايا المترسبة في أنبوبة الفصل وأجريت له عملية تسخين على ١٠٠م ولمدة ١٠ دقائق. ثم التبريد بالماء البارد لمدة ١٠ دقائق أضيف بعد ذلك كمية من الأسيتون إلى عالق الخلايا التحريك واستخدام الهاون والمدقة في عملية الاستخلاص لضمان التحطيم الكامل للخلايا والهدف هو استخلاص الصبغة من الخلايا المحطمة مع الاستمرار بإضافة الأسيتون في كل مرة وتحويل المستخلص إلى دورق سعة ٢٥٠ مل ثم تكرار العملية مع الخلايا المتبقية مع إضافة كمية أخرى من الأسيتون لحين الحصول على خلايا عديمة اللون وبذلك نكون قد اتممنا عملية الحصول على

KJPS Al-Kitab Journal for Pure Science
Vol.2 (2), ISSN: 2617-1260 (print), 2617-8141(online)
www.kjps.isnra.org

الصبغة. ينقل الأسيتون والصبغة بعد ذلك إلى قمع الفصل بعد ان يقدر حجم الأسيتون المستخدم في عملية الاستخلاص وذلك لاستخدام نفس الكمية من الهكسان في قمع الفصل مع التحريك بهدوء بوجود ١٥٪من محلول كلوريد الصوديوم البارد لزيادة قابلية استخلاص الصبغة، تمزج المكونات مع بعضها بهدوء وتثبيت القمع عموديا لحين استخلاص كامل الصبغة من الأسيتون وانتقالها إلى الطبقة العلوية وهي طبقة الهكسان مع الصبغة. قدرت الامتصاصية باستخدام جهاز المطياف الضوئي على طول موجي ٤٥٠ نانوميتر [12] . ثم قدرت كمية الكاروتينويدات باستخدام المنحنى القياسي للبيتا كاروتين القياسي المجهز من شركة (sigma Aldrid).

تقدير كمية الكربوهيدرات المتبقية:

قدرت الكربوهيدرات الكلية المتبقية في راشح وسط التخمر بطريقة (الفينول– حامض الكبريتيك) وذلك بأخذ ١ مل من راشح المزرعة الخالي من خلايا الخميرة وأجريت له التخافيف المطلوبة بالماء المقطر. ثم اخذ من التخفيف الأخير ١ مل من المحلول واضيف اليه ١ مل من محلول الفينول (٥٪) ثم رج الأنابيب جيدا لإتمام عملية الامتزاج واضيف بعدها ٥ مل من حامض الكبريتيك المركز لكل أنبوبة مزجت الأنابيب بصورة جيدة ثم وضعت بعدها في حمام مائي على حرارة ٣٠ م لمدة نصف ساعة استخدم الطول الموجي ٤٩٠ نانوميتر لقياس الكثافة الضوئية باستعمال جهاز المطياف الضوئي وفقا لطريقة [13] . اعتمد المنحني القياسي لسكر الكلوكوز النقي لحساب تراكيز السكر المتبقي. حظر المحلول القياسي لسكر الكلوكوز بتراكيز تراوحت بين (٣٢–١٩٢ مايكروغرام / مل) واستعملت نفس الطريقة المذكورة أعلاه لقياس الكثافة الضوئية لسكر الكلوكوز القياسي.

التحليل الاحصائي:

حللت النتائج باستخدام برنامج التحليل الإحصائي الجاهز [14] لدراسة تأثير العوامل وفقا للتصميم العشوائي الكامل CRD. وحددت معنوية الفروقات ما بين متوسطات العوامل المدروسة بأجراء اختبار دنكن [15] عند مستوى احتمالية ٠.٠٠٥.

KJPS Al-Kitab Journal for Pure Science
Vol.2 (2), ISSN: 2617-1260 (print), 2617-8141(online)
www.kjps.isnra.org

٣. النتائج والمناقشة:

بينت نتائج التحليل الإحصائي الموضحة في الجدول (١) اثر بعض الزيوت وعوامل الشد السطحي على إنتاج الكاروتينويدات وكمية السكر المستهلك وكفاءة الإنتاج لخميرة *R. glutinis*.

جدول (١): تأثير إضافة بعض انواع الزيوت وعوامل الشد السطحي على إنتاج الكاروتينويدات والكتلة الحيوية من خميرة *Rhodotorula glutinis* .

الصفات المدروسة / المعاملة	الكاروتينويدات (مايكرو غرام/لتر)	السكر المستهلك (غم / لتر)	الكاروتينويدات/ السكر المستهلك (مايكرو غرام /غم)
عينة المقارنة	1764.10 d	24.441 a	٧٢,١٧٧ cd
زيت الخروع	1771.10 d	23.967 ab	73.893 cd
زيت جوز الهند	1947.45 b	24.257 ab	89.285 a
زيت السمسم	1757.18 d	24.287 ab	72.353 cd
زيت زهرة الشمس	1902.24 c	24.432 a	77.854 c
زيت الزيتون	1956.51 b	24.475 a	79.994 bc
Tween 80	2056.53 a	24.059 ab	86.725 ab
زيت الحية السوداء	1057.75 g	23.865 b	44.322 e
زيت الكتان	1572.98 f	24.109 ab	65.245 d
زيت الذرة الصفراء	1912.33	24.432	78.270

KJPS Al-Kitab Journal for Pure Science
Vol.2 (2), ISSN: 2617-1260 (print), 2617-8141(online)
www.kjps.isnra.org

	c	a	bc
زيت اللوز الحلو	1647.35 e	24.346 ab	67.717 d

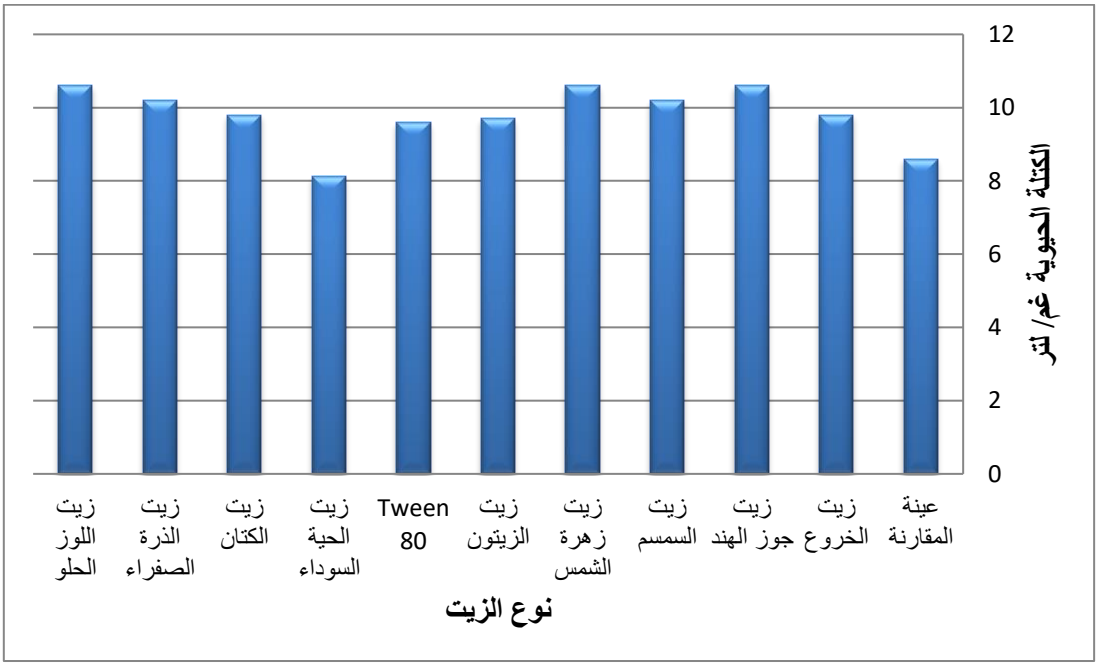
f-a: الأحرف المتشابهة في العمود الواحد تشير إلى عدم وجود اختلافات معنوية عند مستوى احتمالية 0.05.

إذ أشارت النتائج إلى ان إضافة عامل الشد السطحي Tween 80 قد عزز من إنتاج الكاروتينويدات من ١٧٦٤.١٠ مايكروغرام / لتر لعينة المقارنة غير المحتوية على المنشطات (المحفزات) كالزيوت وعوامل الشد السطحي إلى ٢٠٥٦.٥٣ مايكروغرام / لتر كما ازداد إنتاج الكاروتينويدات باستعمال زيت الزيتون وزيت جوز الهند وزيت الذرة الصفراء وزيت زهرة الشمس بصورة ملحوظة اذ بلغت الكميات ١٩٥٦.٥١ و ١٩٤٧.٤٥ و ١٩١٢.٣٣ و ١٩٠٢.٢٤ مايكروغرام / لتر على التوالي. واتفقت النتيجة مع ما توصل اليه [6] الذين أشاروا إلى أن معدلات تكوين الكاروتينويدات للخميرة قد ازداد بشكل ملحوظ مع إضافة Tween 80 ١٪ حجم/حجم وكذلك مع إضافة زيت بذرة القطن قد ازداد إنتاج الكاروتينويدات بشكل كبير بالمقارنة مع الوسط الزرعي الغير حاوي على منشط لتنمية خميرة *R. glutinis* اذ أنتجت ٥٢ ملغم / لتر من الكاروتين الكلي مع زيت بذرة القطن ١٪ حجم/حجم بينما كانت الكمية ٣٥ ملغم /لتر كاروتينويدات قد تكونت بفعل الخميرة بدون استخدام منشط. وقد انخفض إنتاج الكاروتينويدات بشكل كبير عند إضافة زيت الحبة السوداء. اتفقت النتيجة مع ما توصل اليه [16] اذ أشاروا إلى التأثير المثبط للمستخلص الزيتي للحبة السوداء لنمو العديد من الأحياء المجهرية بضمنها الخمائر قيد الدراسة، .أما كمية السكر المستهلك فقد ارتبطت بشكل وثيق مع ارتفاع أو انخفاض إنتاج الكاروتينويدات والكتلة الحيوية إذ سجلت انخفاضا كبيرا ولجميع المعاملات وذلك لحاجة خلايا الخميرة لمصدر الطاقة والكربون بشكل كبير للفعاليات الحيوية والبناء الخلوي فكانت اكبر كمية سكر مستهلك بوجود زيت الزيتون اذ بلغت ٢٤.٤٧٥ غم /لتر والتي لم تختلف معنويا عن عينة المقارنة وزيت زهرة الشمس وزيت الذرة الصفراء. أما اقل نسبة سكر مستهلكة فقد كانت مع زيت الحبة السوداء اذ بلغت ٢٣.٨٦٥ غم/لتر وذلك لتثبيط العديد من الفعاليات الأيضية لخلايا الخميرة لوجود المواد الفعالة في هذا الزيت والمثبطة للنمو الميكروبي [17] . أما كفاءة الإنتاج والمحسوبة على أساس نسبة الكاروتينويدات الكلية مقسومة على نسبة السكر المستهلك والمقدرة (مايكروغرام / غرام) فكانت اعلى كفاءة إنتاج باستخدام زيت جوز الهند اذ بلغت القيمة ٨٩.٢٨٥ مايكروغرام /غرام والتي لم تختلف معنويا مع المعاملة المحتوية على

KJPS Al-Kitab Journal for Pure Science
Vol.2 (2), ISSN: 2617-1260 (print), 2617-8141(online)
www.kjps.isnra.org

Tween 80 والبالغة ٨٦.٧٢٥ مايكروغرام /غرام. واتفقت هذه النتيجة مع ما توصل اليه [8] . الذين أشاروا إلى ان أضافة بعض العوامل لوسط التنمية كإضافة المنظفات والزيوت تزيد من القابلية التنافذيه للخلية مما يزيد من إنتاج الكاروتينويدات. أما اقل نسبة كاروتينويدات إلى السكر المستهلك كانت مع زيت الحبة السوداء اذ بلغت ٤٤.٣٢٢ مايكروغرام/غرام والذي يعود إلى قلة كمية الكاروتينويدات المنتجة وقلة السكر المستهلك بالمقارنة مع بقية المعاملات. واتفقت النتيجة مع ما توصل اليه [17] الذين أشاروا إلى احتواء زيت الحبة السوداء على مواد قلويدية وكلايكوسيدية مثبطة للنمو الميكروبي.

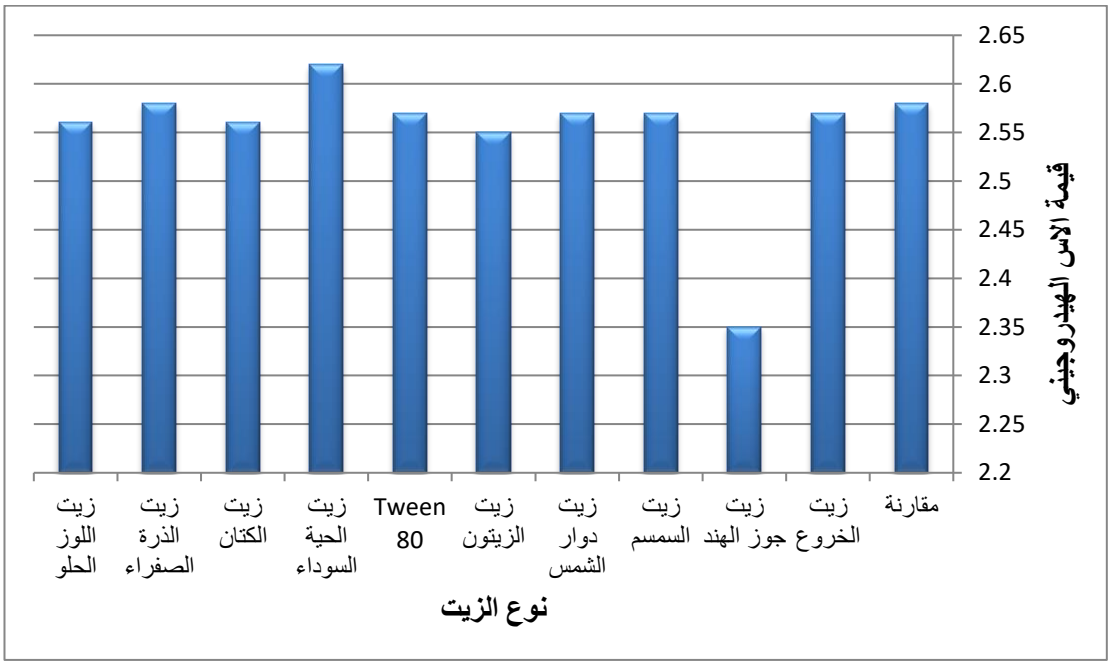
يتضح من الشكل رقم (١) بأن الوزن الجاف للخلية قد ارتفع بشكل واضح مع استخدام زيت جوز الهند وزيت زهرة الشمس وزيت اللوز الحلو اذ بلغت الكتلة الحيوية ١٠.٦٠ غم /لتر واقل قيمة للكتلة الحيوية سجلت مع زيت الحبة السوداء اذ بلغت ٨.٦٠ غم/لتر وقد يعود السبب في ذلك إلى ان بذور الحبة السوداء تحتوي على قلويدات وكلوسيدات خاصة بها والتي لا توجد في غيرها من النباتات الطبية ومنها Nigellicine و Nigllidine فضلا عن القلويدات الأخرى ذات التأثير المثبط للعديد الأحياء المجهرية ومنها الفطريات[17].



شكل (١): تأثير إضافة بعض أنواع الزيوت وعوامل الشد السطحي على إنتاج الكتلة الحيوية لخميرة *R. glutinis*

KJPS Al-Kitab Journal for Pure Science
Vol.2 (2), ISSN: 2617-1260 (print), 2617-8141(online)
www.kjps.isnra.org

أما قيمة الأس الهيدروجيني والموضحة في الشكل (٢) فقد سجلت انخفاضا شديدا لجميع المعاملات بالمقارنة مع قيمة الأس الهيدروجيني لوسط التخمر الأصلي والذي ضبط على اس هيدروجيني ٧ .



شكل (٢): تأثير إضافة بعض أنواع الزيوت وعوامل الشد السطحي على قيمة الأس الهيدروجيني النهائي لوسط التنمية لخميرة *R. glutinis*

اذ انخفضت القيمة من ٧ إلى أدنى مستوى لها مع جميع المعاملات اذ وصلت إلى ٢.٣٥ عند استخدام زيت جوز الهند، أما اقل القيم تأثرا هي مع استخدام زيت الحبة السوداء والتي سجلت اعلى اس هيدروجيني فقد بلغ ٢.٦٢ وقد يعود السبب في انخفاض قيم الأس الهيدروجيني لجميع المعاملات إلى النشاط الحيوي للخميرة اذ ان إنتاج الأحماض العضوية مثل حامض الخليك وحامض البايروفيك وحامض اللاكتيك تعمل على خفض قيمة الأس الهيدروجيني نتيجة لزيادة تركيز أيونات الهيدروجين في الوسط. واتفقت النتيجة مع ما توصل اليه [18] الذي أشار إلى ان العديد من الخمائر تثبط نتيجة انخفاض الأس الهيدروجيني بفعل الأحماض العضوية وخصوصا حامض البايروفيك الناتج من العمليات التمثيلية لهذه الخمائر وقد يعزى السبب إلى تحرر أيونات الكبريتات اذ ان الخميرة عند استخدامها لكبريتات الأمونيوم كمصدر للنتروجين ستستهلك أيونات الأمونيوم لغرض البناء الحيوي للبروتينات والأحماض الأمينية مما يؤدي بالنتيجة إلى تحرر أيون

الكبريتات في الوسط وتكوين حامض الكبريتوز الذي يعمل على انخفاض قيم الأس الهيدروجيني لجميع المعاملات وفقا لما أشار اليه [19] . النتائج المتحققة من الدراسة تشير إلى الدور الإيجابي لإضافة بعض المنشطات وعوامل الشد السطحي في زيادة إنتاج الكاروتينويدات من خميرة *R. glutinis* والتي تطابقت مع ما حصل عليه [6] .الذين وجدا ان زيت بذور القطن قد زاد من إنتاج الكاروتينويدات الكلي بواسطة خميرة *R. glutinis* مقارنة بالوسط الغير محتوي على المنشطات.

٤. المصادر:

[1] Tibor, C. ,"**Liquid Chromatography of Natural pigments and synthetic dyes**", J. Chromatography Library, 71, 11-19 (2007).

[2] Kiokias, S. and Gordon, M. H.,**"Antioxidant properties of carotenoids *in vitro* and *in vivo*",** Food Rev. Int., 20, 99 – 121(2004).

[3] Ausich, R. L. **"Commercial opportunities for carotenoid production by biotechnology**", Pure and App. Chem., 69(10), 2169-2173 (1997).

[4] Frengova, G. I. and Beshkova, D. M., "**Carotenoids from *Rhodotorula* and *Phaffia*: yeasts of biotechnological importance**", J. Ind. Microbiol.Biotechnol., 36 ,163–180 (2009**).**

[5] Buzzini, P. and Martini, A. , **"Production of carotenoids by strains of *Rhodotorula glutinis* cultured in raw materials of agro-industrial origin**". Bioresour. Technol., 71 , 41–44 (2000).

[6] Aksu, Z. and Tugba Eren, A., **"Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis***", Biochem. Eng. J., 35 , 107–113, (2007).

[7] Ciegler, A.; Arnold, M. and Anderson, R. F., " **Microbiological production of carotenoids. IV. Effect of various grains on production of carotene by mated strains of *Blakeslea trispora***" , Appl. Microbiol., 7, 94–98 (1959).

[8] Kim, S.; Seo, W. and Park, Y., **"Enhanced synthesis of trisporic acid and β- carotene production in *Blakeslea trispora* by addition of a non-ionic surfactant Span 20"**, J. Ferment. Bioeng., 4 ,330–332(1997).

[9] Choudhari, S. M.; Ananthanarayan, L. and Singhal, R.S. , **"Use of metabolic stimulators and inhibitors for enhanced production of β-carotene and lycopene by *Blakeslea trispora* NRRL 2895 and 2896**", BioresourceTechnol., 99 , 3166–3173 (2008).

[10] El-Banna, A. A.; Abd El-Razek, Amal M. and El-Mahdy, A. R.**,"Some factors affecting the production of carotenoids by *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis*"** .Food and Nutr. Sci., 3, 64-71(2012).

[11] Ali, D. F., **Studies on carotenoids production from some yeasts**. Ph.D. Thesis, Faculty of Agriculture, Mansoura University, (2013).

[12] Park, P. K.; Cho, D. H.; Kim, E. Y. and Chu, K. H.," **Optimization of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* using statistical experimental design**" , World Journal of Microbiology and Biotechnology, 21(4), 429-434 (2005**).**

[13] Dubois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. and Smith, F., **"Colorimetric method for determination of sugars and related substances**. Analytical chemistry, 28(3), 350-356(1956).

[14] SAS , **"SAS Users-Guide. SAS Institute Inc"**, Cary NC. USA, (2001)

[15] Duncan, D. B. ,"**Multiple range and F. test**", Biometric, 11, 42 (1955**).**

[16] Mashhadian N. V. and Rakhshandeh H. **"Antibacterial and antifungal effects of Nigella sativa extracts against *S. aureus, P.aeroginosa and C. albicans***", J Med Sci . 21(1), 47-52(2005**).**

[17] Atta, U. R. and Malik, S.O. , "**Nigellidine, a new indazole alkaloid from seeds of *Nigella sativa***" , J. Res Iinst; 36 , 1993-1996 , (1995**).**

[18] Walt, J.P. Vander, "**Criteria and methods used in classification in "The yeast, ataxonomic study"** Chap. II (Lodder, J. ed) North-Holland publishing company.Amsterdam-London, (1970).

[19] Abd El-Razek, A. M. , "**Isolation, classification and mutagenesis of yeast carotenoids and optimizing factors affecting its production**", Ph.D. Thesis, Faculty of Agriculture, Alexandria University, (2004).