Optimization of the culture of *Phaffia rhodozyma* yeast to obtain maximum biomass

Maryam ameri[1], **Reza karazhyan[*1]**, Najem Gord- Noshahri[1], Pari rokh Lavaee[1], Omid Safari[2], Mohsen Seyedabadi[1]

1) Department of Industrial Microbial Biotechnology, Research Institute for Industrial Biotechnology, ACECR, Mashhad, Iran
2) Faculty of Natural Resources and Environment, Department of Fishery, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received Date:2025.05.28 Accepted Date:2025.10.22

Abstract

Astaxanthin is a powerful pigment and antioxidant used in the food, aquaculture, cosmetics, and pharmaceutical industries. Its market is expected to reach $4.8 billion by 2028. *Phaffia rhodozyma*, with its astaxanthin synthesis and weak cell wall, is a suitable candidate for commercial pigment production. Considering the direct relationship between biomass and astaxanthin amount, it is important to optimize the growth conditions to achieve the maximum amount of biomass. *Phaffia rhodozyma* yeast was used in this research. After activation of the strain, yeast cells were grown in different broth cultures with different amounts of carbon and nitrogen sources, and each culture medium was placed at three different pHs (5.5, 6, and 6.5) and at two different temperatures (15°C and 21°C) with a stirring speed of 100 rpm. The growth in each of the environments in different conditions was measured with a spectrophotometer in consecutive days up to 14 days. Considering the growth curve of yeast over time and using the Gompertz model to calculate factor A, the equivalent of the maximum growth of optimal cultivation conditions was determined. First, the identification of effective factors was carried out using the one-factor-at-time method. Then, the effect of the desired maximum growth factor was examined to calculate the optimal initial conditions using RSM software. The optimal cultivation conditions for *Phaffia rhodozyma* yeast for the main culture medium 3 are between 17°C and 19°C, which is the appropriate and optimal temperature for cultivation, and increasing the pH from 5.5 to 6.5 has reduced the suitability of the conditions.

Keywords: *Phaffia rhodozyma*, biomass, optimization

.

* reza_karazhyan2002@yahoo.com

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: Astaxanthin is a powerful antioxidant and pigment widely utilized in food, aquaculture, cosmetics, and pharmaceuticals. The yeast *Phaffia rhodozyma*, also known as *Xanthophyllomyces dendrorhous*, is a prominent microbial source for natural astaxanthin production. However, challenges such as low productivity and high fermentation costs have hindered large-scale industrial applications. Astaxanthin, a powerful antioxidant and coloring agent, is primarily produced by the yeast *Phaffia rhodozyma*. Astaxanthin, a potent carotenoid with various health benefits, can be extracted from the yeast *Phaffia rhodozyma* using several methods. The following outlines the prominent extraction techniques based on recent research. This yeast is notable for its ability to synthesize high levels of carotenoids, particularly astaxanthin, under specific growth conditions. The production process has been optimized through various methods, including strain improvement and fermentation techniques. The astaxanthin market is experiencing significant growth, with various forecasts indicating a robust increase in market size over the coming years. The global astaxanthin market was valued at approximately $0.8 billion in 2023.
Utilizing a fed-batch culture system has shown significant promise in enhancing astaxanthin yields. For example, a mutant strain of *P. rhodozyma* cultivated in a Yucca medium achieved a maximum astaxanthin production of 23,810 µg/L under controlled feeding conditions that responded to pH changes during fermentation .This method allows for continuous nutrient supply, which optimizes both biomass and pigment production. This method allows for continuous nutrient supply, which can significantly enhance astaxanthin production. In one study utilizing a fed-batch culture with a low-cost Yucca medium, the maximum astaxanthin production reached 23,810 µg/L.
The feeding control was based on pH changes in the culture medium, optimizing nutrient availability and oxygen levels. The optimization of nitrogen sources has also been critical. Research indicates that specific combinations of nitrogen sources (e.g., ammonium sulfate and beef extract) can significantly impact both yeast growth and astaxanthin accumulation.

Material and methods: the yeast strain *Phaffia rhodozyma* was purchased from the Iranian Genetic and Biological Resources Center with the scientific name (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) and the code IBRC-M 30167. According to the instructions, the mentioned strain was re-cultured on YM agar medium on a plate. Ingredients of this culture medium: Yeast extract (0/3%), Malt extract (0/3%), Peptone (from soy) (0/5%), Glucose (1%) and Agar (1/5%). Different broth cultures with different amounts of carbon and nitrogen sources were used, and each culture medium was placed at three different pH (5.5, 6, and 6.5) and at two different temperatures (15 and 21°C) at the same stirring speed (100 rpm). Each culture medium was inoculated with an equal amount of yeast suspension prepared from the stock. To optimize and obtain the most suitable culture medium from the point of view of medium composition and culture conditions (pH and temperature), the factors A, maximum growth rate was calculated. The results showed that the Gumpertz given the smaller number of parameters of the Gumpertz model, this model was selected. The results of the modeling in the analysis of variance tables were examined separately for each factor and finally, using the Design Expert software with the RSM method, the optimal conditions for each variable were examined and the interaction between the various variables was also evaluated. As a result, the relationship between the tested variables was evaluated and the resulting response was measured. Finally, using the data obtained from this section, the most appropriate treatment was determined in terms of culture medium composition, culture conditions (pH and temperature), and the optimal incubation time of the culture medium. Cells were centrifuged, washed, and treated to break cell walls using wet, dried, and lyophilized methods after culturing and centrifugation.

Results and Discussion: Incubation temperature significantly affects maximum yeast growth, with 15°C yielding the highest and 21°C the lowest growth. pH of the culture medium significantly affects maximum yeast growth, peaking at pH 5.5 and lowest at pH 6.5. Culture medium type significantly affects maximum yeast growth, with original culture mediums 2 and 3 exhibiting the highest growth levels. Variance analysis indicates that yeast growth peaks at 21°C and pH 5.5, with extremes at pH 6.5. Analysis reveals that the original three culture mediums at 21°C yield the highest yeast growth, while the modified YM culture medium at the same temperature results in the lowest growth, indicating slower cell production. The analysis indicates that maximum specific growth for yeast is highest in culture media 2 and 3 at pH 5.5 and 21°C, while the lowest occurs in modified YM and YPD1 at pH 5.6. Optimal yeast culture conditions: 17-19°C temperature, pH increased from 5.5 to 6.5. *Phaffia rhodozyma*'s biomass production is affected by medium components and environmental conditions. The carbon source and its concentration play a crucial role in *Phaffia rhodozyma*'s growth and biomass production. High sugar levels, especially glucose, can hinder yields due to the Crabtree effect. D-cellobiose is optimal for growth and pigment production. Sucrose and glucose concentrations of 40-45 g/L and 80-140 g/L, respectively, are effective,

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

while sugarcane juice at 20 g/L is recommended to prevent substrate inhibition. Optimal biomass production for *Phaffia rhodozyma* occurs around 20°C, with 18°C also promoting carotenoids, suggesting varied conditions and substrates necessitate tailored fermentation strategies. Optimal pH for *Phaffia rhodozyma* is around 5.0, while ideal temperatures for growth and carotenoid production are between 18°C and 22°C.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

بهینه سازی کشت مخمر *فافیا رودوزیما* جهت بدست آوردن حداکثر بیومس

مریم عامری[۱]، **رضا کاراژیان** *[۱]، ، نجمه گردنوشهری[۱]، پری رخ لوائی[۱]، امید صفری[۲]، محسن سیدآبادی[۱]

۱- گروه پژوهشی بیوتکنولوژی صنعتی میکروارگانیسم ها، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، جهاد دانشگاهی مشهد، ایران

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت:۱۴۰۴/۰۵/۲۸ تاریخ پذیرش:۱۴۰۴/۰۷/۳۰

چکیده

آستاگزانتین یک رنگدانه و آنتی اکسیدان قوی است که در صنایع غذایی، آبزی‌پروری، لوازم آرایشی و دارویی کاربرد دارد. بازار آن تا سال ۲۰۲۸ به ۴/۸ میلیارد دلار می‌رسد. *Phaffia rhodozyma* با سنتز آستاگزانتین و دیواره ضعیف، گزینه‌ای مناسب برای تولید تجاری رنگدانه است. با توجه به ارتباط مستقیم بیومس و میزان آستاگزانتین، بهینه یابی شرایط رشد برای دستیابی به حداکثر مقدار بیومس حائز اهمیت است. در این تحقیق از مخمر *Phaffia rhodozyma* استفاده شد. پس از فعال‌سازی سوش، رشد سلول‌های مخمر در محیط کشت های مختلف براث با مقادیر مختلف منابع کربن و نیتروژن استفاده شد و هر محیط کشت در سه pH مختلف (۵/۵، ۶، و ۶/۵) و در دو دمای مختلف (۱۵°c و ۲۱°c) با سرعت همزدن ۱۰۰rpm قرار گرفتند. رشد در هر کدام از محیط ها در شرایط مختلف در روزهای متوالی تا ۱۴ روز با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. با در نظر گرفتن منحنی رشد مخمر در طول زمان و با استفاده از مدل گامپرتز محاسبه فاکتور A، معادل حداکثر رشد شرایط بهینه کشت نیز مشخص گردید. نتایج در قالب طرح آماری فاکتوریل مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج با نرم افزار spss با سطح معنی داری ۰/۰۱ مورد آنالیز قرار گرفتند و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. ابتدا شناسایی فاکتورهای موثر با استفاده از روش یک فاکتور در زمان انجام شد. و سپس اثر فاکتور حداکثر رشد مورد نظر جهت محاسبه شرایط اولیه بهینه با نرم افزار RSM بررسی شد. بهینه شرایط کشت مخمر *Phaffia rhodozyma* برای محیط کشت اصلی ۳ در دمای بین ۱۷°c تا ۱۹°c دمای مناسب و بهینه برای کشت می باشد و با افزایش pH از ۵/۵ به ۶/۵ باعث کاهش مطلوبیت شرایط شده است.

کلمات کلیدی: *فافیا رودیزیما*، بیومس، بهینه سازی

* reza_karazhyan2002@yahoo.com

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

مقدمه

آستاگزانتین یک رنگدانه و آنتی اکسیدان قوی است که در صنایع غذایی، آبزی‌پروری، لوازم آرایشی و دارویی کاربرد دارد. مخمر *Phaffia rhodozyma*، منبع طبیعی آستاگزانتین است، اما چالش‌هایی مانند بهره‌وری پایین و هزینه‌های بالا مانع از کاربرد صنعتی آن شده است. این ترکیب به دلیل ظرفیت جذب بالای رادیکال اکسیژن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی فوق‌العاده‌ای دارد و می‌تواند به حفظ عملکرد شناختی مغز، کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو و بهبود شرایطی نظیر آلزایمر و بیماری پارکینسون کمک کند. همچنین از پوست در برابر آسیب‌های UV محافظت می‌کند و به بهبود وضعیت پوست کمک می‌نماید (۱ و ۲). بازار این ماده در سال ۲۰۲۳ به ارزش ۰/۸ میلیارد دلار رسیده و با خلوص ۹۵-۹۷٪، ۶۰٪ سهم بازار را به خود اختصاص خواهد داد (۳ و ۴).

بهینه‌سازی منابع نیتروژن و ترکیبات مغذی تأثیر مثبتی بر عملکرد تولید بیومس سلولی و آستاگزانتین دارد. محیط‌های کشت مختلف، از جمله YM و Yucca، برای رشد این مخمر استفاده می‌شوند. شرایط بهینه شامل دمای ۲۰ درجه و PH ۶ است (۵، ۶، ۷ و ۸). است. همچنین، افزودن فیتوهورمون‌ها مانند اسید سالیسیلیک به طور قابل‌توجهی حجم زیست‌توده و عملکرد آستاگزانتین را افزایش می‌دهد. دستکاری ترکیبات گیاهی بهره وری میکروبی را افزایش می‌دهد (۶).

از روش‌های کلیدی برای افزایش تولید آستاگزانتین شامل بهینه سازی تکنیک‌های تخمیر است که موجب افزایش قابل توجهی در تولید بیومس و کاروتنوئیدها شده اند (۶). روش‌های تخمیر، مخصوصاً کشت‌های fed-batch، با تأمین مداوم مواد مغذی، تولید بیومس را به میزان زیادی افزایش می‌دهند. کنترل pH و بهینه‌سازی منابع نیتروژن نیز در این فرآیند حائز اهمیت است. همچنین، مطالعه انجام‌شده توسط رامیرز تأثیر استفاده از مواد اولیه ارزان قیمت بر تولید آستاگزانتین و شرایط بهینه کشت را بررسی کرده است (۵). دومینگوئز و همکاران (2007) همچنین تولید آستاگزانتین توسط *Phaffia rhodozyma* و *Haematococcus pluvialis* را در مطالعه ای مورد بررسی و مقایسه قرار دادند. هر دو میکروارگانیسم قادر به تولید آستاگزانتین در شرایط یکسان هستند، اما تولید آستاگزانتین در هماتوکوکوس حدود ۲۰ برابر بیشتر از مخمر است. حداکثر مقادیر گزارش شده ۱۷۰mg/g مخمر در روز با سویه مخمر نوع وحشی و ۳۷۰mg/g در روز با مخمر جهش یافته R1 است. در مورد *Haematococcus pluvialis* ، حداکثر مقادیر بسته به محیط، شدت نور (هوادهی و غیره) از ۲۹۰ تا ۴۲۸mg/g در روز متغیر است (۹).

تحقیقات نشان می‌دهد که شرایط کشت نظیر دما و pH تأثیر کمی بر محتوای آستاگزانتین دارند، اما بر سرعت رشد و عملکرد سلول مؤثرند. *Phaffia rhodozyma* قادر به تخمیر گلوکز و تولید کاروتنوئیدهایی از جمله آستاگزانتین است. کشت fed-batch برای *Phaffia rhodozyma* روش موثری است. با استفاده از تعادل جرم، مدلی برای رژیم تغذیه مناسب و پیش بینی تولید زیست توده و آستاگزانتین پیشنهاد شده است (۸ و ۱۰). هدف از این تحقیق بهینه سازی کشت مخمر *Phaffia rhodozyma* جهت تولید حداکثر بیومس است.

مواد و روش ها

فعال سازی سویه مخمر

در این تحقیق از سویه *Phaffia rhodozyma* خریداری شده از مرکز ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران با نام علمی (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) و کد IBRC-M 30167استفاده شد. سویه مخمر طبق دستورالعمل سازنده به صورت هوازی در محیط YM (حاوی عصاره مخمر (۰/۳٪)، عصاره مالت (۰/۳٪)، پپتون (از سویا) (۰/۵٪)، گلوکز (۱٪)

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

و آگار (۱/۵٪)) در دمای ۲۵°c کشت داده شد. پس از فعال‌سازی و رشد سلول‌های مخمر در پلیت، کلنی‌ها برای واکشت روی پلیت‌های حاوی سایر محیط‌های کشت (جدول ۱) و همچنین برای تلقیح روی محیط‌های کشت مایع مورد استفاده در بخش بهینه‌سازی کشت مخمر مورد استفاده قرار گرفتند.

تلقیح سلول های مخمر *Phaffia rhodozyma*

سلول های مخمر در محیط های کشت مختلف (جدول ۱) تلقیح شدند. از محیط کشت های مختلف براث با مقادیر مختلف منابع کربن و نیتروژن استفاده شد. لازم به ذکر است ترکیبات محیط های کشت طبق بررسی منابع انجام شده انتخاب شده و هر کدام از اجزا توزین و با همدیگر مخلوط شدند. هر محیط کشت در سه pH مختلف (۵/۵، ۶، و ۶/۵) و در دو دمای مختلف (۱۵°c و ۲۱°c) با سرعت همزدن ۱۰۰rpm قرار گرفت. هر محیط کشت با مقدار مساوی سوسپانسیون مخمر تهیه شده از استوک تلقیح شد. رشد مخمر *Phaffia rhodozyma* در طول زمان برای هر یک از محیط های کشت تحت شرایط ذکر شده با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. با در نظر گرفتن منحنی رشد مخمر در طول زمان و با استفاده از مدل گامپرتز محاسبه فاکتور A معادل حداکثر رشد، در طول زمان با استفاده از نتایج تحلیل واریانس تعیین شد. با توجه به پردازش و برازش مدل، شرایط بهینه کشت از نظر دما، زمان رشد، حداکثر رشد تعیین شد.

کشت مخمر *Phaffia rhodozyma* در محیط های کشت مختلف و بهینه سازی شرایط کشت

از محیط کشت های مختلف براث با مقادیر مختلف منابع کربن و نیتروژن استفاده شد. لازم به ذکر است ترکیبات محیط های کشت طبق بررسی منابع انجام شده انتخاب شده و هر کدام از اجزا توزین و با همدیگر مخلوط شدند. هر محیط کشت در سه pH مختلف (۵/۵، ۶، و ۶/۵) و در دو دمای مختلف (۱۵°c و ۲۱°c) با سرعت همزدن ۱۰۰rpm قرار گرفت. هر محیط کشت با مقدار مساوی سوسپانسیون مخمر تهیه شده از استوک تلقیح شد. تعداد کل نمونه ها شامل ۱۰ محیط کشت در دو سطح دما (۱۵°c و ۲۱°c) و سه pH مختلف (۵/۵، ۶، و ۶/۵) در دور ثابت همزدن ۱۰۰rpm با سه تکرار در قالب طرح فاکتوریل مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج با نرم افزار spss با سطح معنی داری ۰/۰۱ مورد آنالیز قرار گرفتند و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

بهینه سازی شرایط کشت و محیط برای دستیابی به حداکثر رشد سلولی

برای بهینه سازی و به دست آوردن مناسب ترین محیط کشت از نظر ترکیب محیط و شرایط کشت (pH و دما)، فاکتور A معادل حداکثر رشد ویژه محاسبه شد. در مرحله بعد، با استفاده از مدل گامپرتز بر اساس دو شاخص SSE (مجموع مربع خطا) و R^2 با استفاده از آماره t انجام شد. با توجه به تعداد کمتر پارامترهای مدل گامپرتز، این مدل انتخاب شد. نتایج مدلسازی در جداول تحلیل واریانس برای هر عامل به صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت با استفاده از نرم افزار Design Expert با روش RSM، شرایط بهینه برای هر متغیرهای مستقل شامل دما، pH و متغیر وابسته جذب کدورت سلولی در زمان های مورد بررسی می باشد. تعامل بین متغیرهای مختلف نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند. در نتیجه، رابطه بین متغیرهای آزمایش شده مورد ارزیابی قرار گرفت و پاسخ حاصل اندازه گیری شد. در نهایت با استفاده از داده های به دست آمده از این بخش، مناسب ترین تیمار از نظر ترکیب محیط کشت، شرایط کشت (pH و دما) و زمان انکوباسیون بهینه محیط کشت تعیین شد.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

جدول ۱: انواع محیط کشت ها و ترکیبات مورد استفاده در آنها در این پژوهش

محیط کشت	عصاره مخمر (gr/l)	عصاره مالت (gr/l)	پپتون (از سویا) (gr/l)	گلوکز (gr/l)	آگار (gr/l)
YM	۰/۳	۰/۳	۰/۵	۱	۱/۵
YM1	۰/۲۵	۰/۳	۰/۲۵	۱	۱/۵
YM2	۰/۱۵	۰/۳	۰/۱۵	۱	۱/۵
YM اصلاح شده	۰/۳	۰/۳	۰/۵	۲	۱/۵
اصلی ۱	۰/۴	۰	۰/۴	۱/۲	۱/۵
اصلی ۲	۰/۳	۰	۰/۳	۱/۲	۱/۵
اصلی ۳	۰/۲	۰	۰/۲	۱/۲	۱/۵
YPD1	۰/۵	۰	۰/۵	۱	۱/۵
YPD2	۰/۲۵	۰	۰/۲۵	۱	۱/۵
YPD3	۰/۱۷۵	۰	۰/۱۷۵	۱	۱/۵

نتایج حاصل از کشت مخمر در این محیط کشت بر اساس محاسبه فاکتور A، معادل حداکثر رشد ویژه میکروارگانیسم بر اساس مدل گامپرتز ارزیابی شد.

نتایج

اثر دمای اینکوباتور گذاری بر فاکتور حداکثر رشد مخمر

طبق نتایج جدول ۲ آنالیز واریانس و مقایسه میانگین داده های اثر کلی دمای گرم خانه گذاری محیط کشت را بر فاکتور حداکثر رشد مخمر نشان می‌دهد.

جدول۲- اثر کلی دمای گرم خانه گذاری بر فاکتور حداکثر رشد مخمر

ردیف	دمای اینکوباتور گذاری	حداکثر رشد
۱	۱۵درجه سانتی گراد	۴/۵۳۴ ^{a}± ۰/۳۰۳
۲	۲۱ درجه سانتی گراد	۴/۲۷۳ ^{b}± ۰/۸۲۹

حروف کوچک مختلف در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ($p \leq ۰/۰۵$) دارد. اعداد جدول میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

نتایج نشان می‌دهد که به طور کلی دمای محیط کشت در حداکثر رشد مخمر تاثیر معنی داری ($p \leq ۰/۰۵$) دارد. بیشترین رشد مخمر در دمای ۱۵°c و کمترین میزان رشد مخمر در دمای ۲۱°c می باشد.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

اثر کلی pH محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر

طبق نتایج جدول ۳ آنالیز واریانس و مقایسه میانگین داده های اثر کلی pH محیط کشت را بر فاکتور حداکثر رشد مخمر نشان می‌دهد.

جدول۳- اثر کلی pH محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر

ردیف	pH محیط کشت	حداکثر رشد
۱	۵/۵	۴/۷۰۸ ^{a}± ۰/۶۸۱
۲	۶	۴/۳۱۵ ^{b}± ۰/۵۳۷
۳	۶/۵	۴/۱۸۶ ^{c}± ۰/۵۷۰

حروف کوچک مختلف در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ($p \leq ۰/۰۵$) دارد. اعداد جدول میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

نتایج نشان می‌دهد که به طور کلی pH محیط کشت در حداکثر رشد مخمر تاثیر معنی داری ($p \leq ۰/۰۵$) دارد. بیشترین میزان رشد مخمر در pH ۵/۵ و کمترین میزان رشد مخمر در pH ۶/۵ می باشد.

اثر کلی انواع محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر

طبق نتایج جدول ۴ آنالیز واریانس و مقایسه میانگین داده های اثر کلی نوع محیط کشت را بر فاکتور حداکثر رشد مخمر نشان می‌دهد.

جدول٤- اثر کلی انواع محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر

ردیف	نوع محیط کشت	حداکثر رشد
۱	اصلی ۱	۴/۵۱۳ ^{bc}± ۰/۳۵۴
۲	اصلی ۲	۴/۶۶۰ ^{ab}± ۰/۹۶۳
۳	اصلی ۳	۴/۸۹۵ ^{ab}± ۰/۷۱۶
۴	YPD1	۴/۳۰۱ ^{cd}± ۰/۸۱۸
۵	YPD2	۴/۴۷۰ ^{bc}± ۰/۵۰۵
۶	YPD3	۴/۴۳۵ ^{bcd}± ۰/۵۲۹
۷	YM اصلی	۴/۱۸۱ ^{de}± ۰/۴۰۲
۸	YM1	۴/۱۷۹ ^{de}± ۰/۴۸۰
۹	YM2	۴/۳۸۰ ^{cd}± ۰/۲۱۴
۱۰	YM اصلاح شده	۴/۰۲۰ ^{e}± ۰/۶۹۶

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

حروف کوچک مختلف در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ($p \leq ۰/۰۵$) دارد. اعداد جدول میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

نتایج نشان می‌دهد که نوع محیط کشت در حداکثر رشد مخمر تاثیر معنی داری ($p \leq ۰/۰۵$) دارد. بیشترین حداکثر رشد مخمر محیط کشت اصلی ۳ و اصلی ۲ و کمترین حداکثر رشد مخمر در محیط کشت YM اصلاح شده می باشد.

جدول ۵- اثر دمای گرم خانه گذاری و pH محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر

دمای گرم خانه گذاری	۱۵			۲۱		
pH	pH=۶/۵	pH=۶	pH=۵/۵	pH=۶/۵	pH=۶	pH=۵/۵
حداکثر رشد	^{b}± ۰/۴۲۸ ۴/۵۰۴	^{b}± ۰/۲۳۶ ۴/۵۲۸	^{b}± ۰/۱۹۹ ۴/۵۷۰	^{d}± ۰/۵۱۹ ۳/۸۶۹	^{c}± ۰/۶۶۲ ۴/۱۰۳	^{a}± ۰/۹۲۹ ۴/۸۴۷

حروف کوچک مختلف در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ($p \leq ۰/۰۵$) دارد. اعداد جدول میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

نتایج نشان می‌دهد که بیشترین رشد مخمر در دمای ۲۱°c و pH=۵/۵ محیط کشت می باشد. همچنین نتایج نشان می‌دهد که کمترین رشد مخمر در دمای ۲۱°c و pH=۶/۵ محیط کشت می باشد ($p \leq ۰/۰۵$). اگرچه جدول ۲ نشان‌دهنده رشد بیشتر در دمای ۱۵°c است، اما تحلیل اثر متقابل دما و pHدر جدول ۵ نشان می‌دهد که ترکیب دمای ۲۱°c و pH=۵/۵ منجر به بیشترین رشد می‌شود. این تفاوت ممکن است ناشی از تأثیر هم‌زمان متغیرها باشد.

اثر دمای گرم خانه گذاری و pH محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر

طبق نتایج جدول ۵ آنالیز واریانس و مقایسه میانگین داده های اثرمتقابل pH محیط کشت و دمای گرم خانه گذاری را بر فاکتور حداکثر رشد مخمر نشان می‌دهد.

اثر دمای گرم خانه گذاری و نوع محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر

طبق نتایج جدول ۶ آنالیز واریانس و مقایسه میانگین داده ها اثر دمای اینکوباتور گذاری محیط کشت و نوع محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر نشان می دهند که محیط کشت های اصلی ۳ در دمای ۲۱°c دارای بیشترین مقادیر حداکثر رشد مخمر هستند.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

جدول ٦- اثر دمای گرم خانه گذاری و نوع محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر

ردیف	نوع محیط کشت	دمای محیط کشت	
		۱۵	۲۱
۱	اصلی ۱	۴/۶۰۵ ^{bcd}± ۰/۱۵۹	۴/۴۲۲ ^{d}± ۰/۴۷۱
۲	اصلی ۲	۴/۴۷۱ ^{cd}± ۰/۲۴۱	۴/۸۴۹ ^{bc}± ۱/۳۱۳
۳	اصلی ۳	۴/۴۰۰ ^{d}± ۰/۲۶۱	۵/۳۸۹ ^{a}± ۰/۶۸۸
۴	YPD1	۴/۹۶۷ ^{b}± ۰/۶۰۹	۳/۶۳۵ ^{ef}± ۰/۲۳۲
۵	YPD2	۴/۴۹۶ ^{cd}± ۰/۱۹۰	۴/۴۵۴ ^{cd}± ۰/۷۱۱
۶	YPD3	۴/۳۵۰ ^{d}± ۰/۱۲۱	۴/۵۱۹ ^{cd}± ۰/۷۵۲
۷	YM اصلی	۴/۵۰۹ ^{cd}± ۰/۱۱۸	۳/۱۸۱ ^{e}± ۰/۲۹۵
۸	YM1	۴/۴۸۷ ^{cd}± ۰/۱۹۶	۳/۸۷۱ ^{e}± ۰/۴۸۸
۹	YM2	۴/۳۷۹ ^{d}± ۰/۱۵۶	۴/۳۸۱ ^{d}± ۰/۲۷۱
۱۰	YM اصلاح شده	۴/۶۷۳ ^{bcd}± ۰/۱۸۸	۳/۳۶۷ ^{f}± ۰/۱۹۲

حروف کوچک مختلف در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ($p \leq ۰/۰۵$) دارد. اعداد جدول میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

طبق نتایج جدول ۶ آنالیز واریانس و مقایسه میانگین داده ها اثر دمای گرم خانه گذاری محیط کشت و نوع محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر نشان می دهند که محیط کشت های اصلی ۳ در دمای ۲۱°c دارای بیشترین مقادیر رشد مخمر هستند. این بدان معناست که در محیط کشت مذکور در دمای ۲۱°c رشد مخمر سریع تر بوده و در واحد زمان تعداد سلول بیشتری تولید می کنند ($p \leq ۰/۰۵$). همچنین نتایج نشان می دهند که محیط کشت‌های YM اصلاح شده در دمای ۲۱°c دارای کمترین مقادیر رشد مخمر می باشد ($p \leq ۰/۰۵$). این بدان معناست که در این محیط کشت در دمای یاد شده رشد مخمر کند تر بوده و سلول کمتری در واحد زمان تولید می کنند.

اثر pH محیط کشت و نوع محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر

طبق نتایج جدول ۷ آنالیز واریانس و مقایسه میانگین داده ها اثر pH محیط کشت و نوع محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر نشان می دهند که محیط کشت اصلی ۲ و اصلی ۳ در pH ۵/۵ دارای بیشترین مقادیر رشد مخمر هستند ($p \leq ۰/۰۵$). این بدان معناست که در این دو محیط کشت در pH یاد شده رشد مخمر سریع تر بوده و سلول بیشتری در واحد زمان تولید می کنند.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

جدول ۷- اثر pH محیط کشت و نوع محیط کشت بر فاکتور حداکثر رشد مخمر

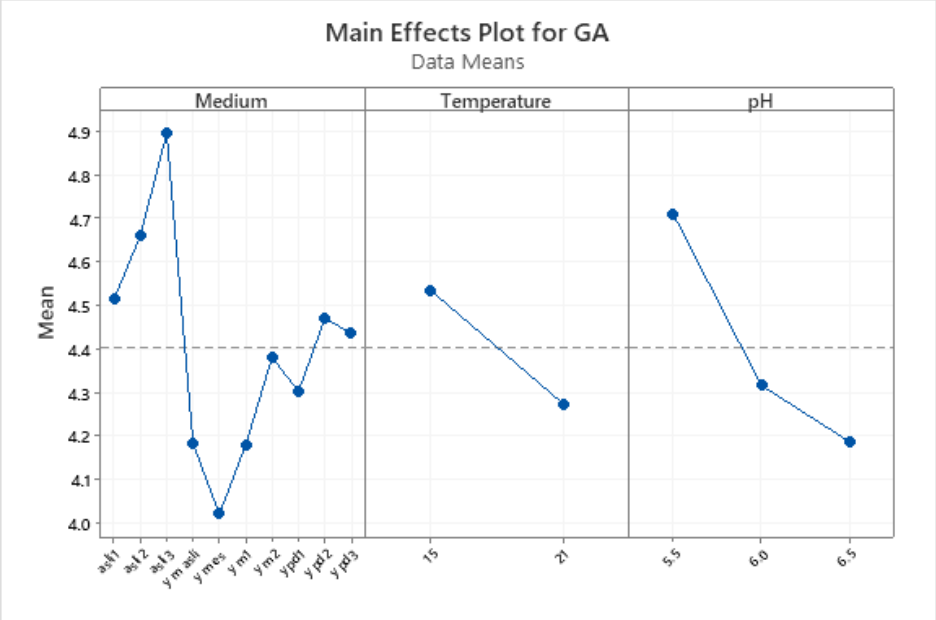
ردیف	نوع محیط کشت	pH محیط کشت		
		pH=۶/۵	pH=۶	pH=۵/۵
۱	اصلی ۱	۴/۱۸۰ ^{efgh}± ۰/۴۱۵	۴/۵۸۶ ^{bcdef}± ۰/۱۳۸	۴/۷۷۴ ^{bcd}± ۰/۱۱۷
۲	اصلی ۲	۴/۴۶۸ ^{cdefg}± ۰/۴۱۵	۴/۰۸۷ ^{efgh}± ۰/۱۳۸	۵/۴۲۶ ^{a}± ۰/۱۱۷
۳	اصلی ۳	۵/۱۱۷ ^{b}± ۰/۴۲۸	۵/۵۵۹ ^{abc}± ۰/۷۱۰	۵/۰۹۴ ^{ab}± ۰/۸۵۸
۴	YPD1	۴/۳۱۷ ^{defgh}± ۱/۲۷۶	۴/۲۹۶ ^{defgh}± ۰/۶۴۶	۴/۲۹۰ ^{defgh}± ۰/۴۸۰
۵	YPD2	۴/۳۰۷ ^{defgh}± ۱/۲۲۲	۴/۱۵۰ ^{efgh}± ۰/۴۲۹	۵/۲۲۴ ^{bcd}± ۰/۴۴۸
۶	YPD3	۴/۲۸۱ ^{defgh}± ۰/۰۶۳	۴/۱۲۲ ^{efgh}± ۰/۳۵۴	۴/۹۰۱ ^{abc}± ۰/۶۴۶
۷	YM اصلی	۳/۹۷۴ ^{gh}± ۰/۵۵۷	۴/۲۳۳ ^{efgh}± ۰/۲۵۴	۴/۳۳۷ ^{defgh}± ۰/۳۰۱
۸	YM1	۳/۸۴۲ ^{h}± ۰/۴۷۵	۴/۰۹۷ ^{efgh}± ۰/۴۳۱	۴/۵۹۸ ^{bcde}± ۰/۱۳۱
۹	YM2	۴/۱۹۴ ^{efgh}± ۰/۱۸۲	۴/۴۱۳ ^{cdefg}± ۰/۱۲۸	۴/۵۳۳ ^{cdef}± ۰/۱۹۱
۱۰	YM اصلاح شده	۳/۸۲۹ ^{h}± ۰/۷۸۸	۴/۰۵۳ ^{fgh}± ۰/۶۷۷	۴/۱۷۷ ^{efgh}± ۰/۷۰۴

حروف کوچک مختلف در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ($p \leq ۰/۰۵$) دارد. اعداد جدول میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

همچنین نتایج نشان می دهند که محیط کشت‌های YM اصلاح شده و YM1در pH ۶/۵ دارای کمترین مقادیر رشد مخمر هستند ($p \leq ۰/۰۵$). این بدان معناست که در این دو محیط کشت در pH یاد شده رشد مخمر کند تر بوده و سلول کمتری در واحد زمان تولید می کنند.

طبق نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میانگین داده ها مشخص می شود که بیشترین مقادیر رشد ویژه مربوط به محیط کشت اصلی ۲ و اصلی ۳ در pH ۵/۵ محیط کشت و دمای $^{\circ}$c ۲۱ می باشد. کمترین مقادیر رشد ویژه مربوط به محیط کشت YM اصلاح شده و YPD1 در pH ۶/۵ محیط کشت و دمای $^{\circ}$c ۲۱ می باشد ($p \leq ۰/۰۵$). این نشان می‌دهد که نوع محیط کشت از نقطه نظر ترکیبات و pH در رشد مخمر و رشد آن موثر می باشد.

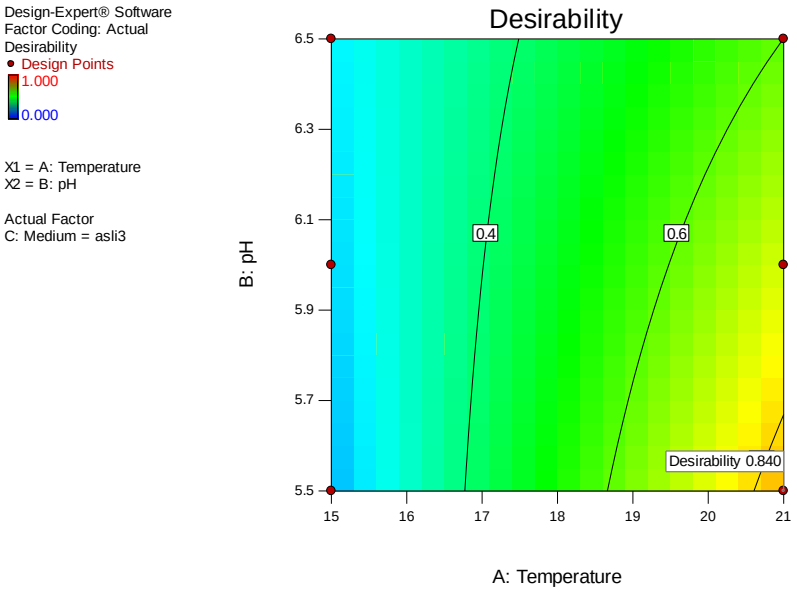
[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]



شکل ۱- مقایسه میانگین حداکثر رشد به روش Tukey

نتایج شکل ۱ نشان می دهند که با افزایش pH از ۵/۵ تا ۶/۵ رشد کاهش پیدا می کند. بیشترین مقدار رشد در pH ۵/۵ می باشد. همچنین دمای ۱۵°c دارای بیشترین رشد است و با افزایش دما رشد کاهش می یابد. بهترین محیط کشت اصلی ۲ می باشد که دارای بیشترین رشد می باشد.

نقطه بهینه رشد مخمر فافیا رودیزیما (*Phaffia rhodozyma*) در محیط کشتهای مختلف از نقطه نظر دما و pH



شکل ۲- شکل نقطه بهینه کشت مخمر در شرایط دما و pH مختلف

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

نتایج شکل ۲ نشان می دهند که نقطه بهینه کشت مخمر در شرایط مختلف دما و pH برای حداکثر فاکتور رشد شکل نشان می دهد که شرایط بهینه کشت مخمر برای محیط کشت YPD3 بین ۱۸°c و pH ۶ است. تناسب شرایط افزایش یافته است.

نقطه رشد بهینه مخمر *Phaffia rhodozyma* در محیط های کشت مختلف از نظر دما و pH: شرایط بهینه کشت مخمر برای محیط کشت اصلی ۳ بین ۱۷°c تا ۱۹°c است که دمای مناسب و بهینه برای کشت است. مناسب بودن شرایط با افزایش pH از ۵/۵ به ۶/۵ افزایش یافته است.

بحث

اثرات عوامل مختلف بر تولید زیست توده *Phaffia rhodozyma*، مخمری که به دلیل توانایی خود در تولید کاروتنوئیدهایی مانند آستاگزانتین شناخته شده است، را می توان در بخش های مختلف مورد بحث قرار داد.

منبع کربن و غلظت آن به طور قابل توجهی بر رشد و تولید زیست توده *Phaffia rhodozyma* تأثیر می گذارد. مطالعات نشان داده اند که غلظت بالای قند، به ویژه گلوکز، می تواند منجر به کاهش عملکرد سلولی و تولید رنگدانه شود. از کشت fed batch اغلب برای حفظ سطوح قند پایین، افزایش بازده زیست توده و رنگدانه استفاده می شود (۱۱ و ۱۲).

ساکارز به عنوان یک منبع کربن موثر با مقادیر حدود ۴۰-۴۵gr/l گرم در لیتر برای تولید زیست توده و آستاگزانتین بهینه شناخته شده است (۱۳ و ۱۴). گلوکز نیز معمولا استفاده می شود، مطالعات نشان می‌دهد غلظت بین ۸۰-۱۴۰gr/l گرم در لیتر برای بازده زیست توده بالا مناسب است (۱۵ و ۱۶). محیط های کشت جایگزین کم هزینه مانند آب نیشکر و نشاسته هیدرولیز شده مقاوم هستند، آب نیشکر با غلظت کل قند ۲۰gr/l گرم در لیتر برای جلوگیری از مهار سوبسترا توصیه می شود (۱۷).

محیط‌هایی با غلظت گلوکز بالا (بالاتر از ۱/۵٪) می‌توانند بازده مخمر و کاروتنوئید را کاهش دهند و نیاز به مدیریت دقیق گلوکز را به طور بیشتری تاکید کنند (۱۸).

منبع نیتروژن در محیط، نقش مهمی در تولید زیست توده ایفا می کند. شربت ذرت به طور موثری به عنوان منبع نیتروژن، بهینه سازی رشد و تولید آستاگزانتین استفاده شده است (۱۹). علاوه بر این، مکمل‌سازی محیط‌ها با مواد مغذی خاص می‌تواند عملکرد زیست توده را افزایش دهد. به عنوان مثال، افزودن اوره و فسفات سدیم در یک محیط کم هزینه نشان داده شده است که عملکرد سلولی را بهبود می بخشد (۲۰).

عصاره مخمر یک منبع نیتروژن ترجیحی است که معمولاً در مقدار ۸-۵ gr/l استفاده می شود و هم رشد و هم تولید آستاگزانتین را افزایش می‌دهد (۱۴ و ۱۶). منابع نیتروژن مخلوط، مانند عصاره مخمر همراه با پپتون، بهتر می تواند شرایط را بهینه کند، در مجموع ۸gr/l پیشنهاد شده است (۱۴).

با افزایش میزان کربن محیط به خصوص گلوکز حداکثر میزان رشد افزایش می یابد. همچنین هرچقدر منبع نیتروژن از پپتون کمتر باشد میزان رشد افزایش پیدا می کند.

pH و دما محیط به طور قابل توجهی بر رشد سلول ها و تولید کاروتنوئید تأثیر می گذارد pH بهینه برای کشت *Phaffia rhodozyma* حدود ۵/۵ است که انحراف از این محدوده منجر به کاهش عملکرد می شود. دما یکی دیگر از عوامل مهم است، مطالعات نشان می‌دهد که دمای بین ۱۸°c تا ۲۲°c برای تولید زیست توده و تشکیل رنگدانه ایده آل است (۱۸ و ۲۱).

در حالی که دمای مطلوب برای *Phaffia rhodozyma* به طور کلی حدود ۲۰°c است، تغییراتی بر اساس شرایط رشد

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

خاص و محیط کشت های مورد استفاده وجود دارد. برخی از مطالعات نشان می‌دهد که دماهای پایین تر، مانند ۱۸°c، نیز می تواند موثر باشد، که نشان دهنده نیاز به رویکردهای مناسب بسته به تنظیم تخمیر است.

استراتژی‌های کشت Fed-Batch با موفقیت برای بهینه‌سازی تولید زیست توده با حفظ غلظت‌های پایین منابع کربوهیدرات، در نتیجه اجتناب از اثر Crabtree اجرا شده است. همچنین نشان داده شده است که کشت مداوم، به ویژه در نرخ های رقت مناسب، بازده زیست توده را افزایش می‌دهد و در عین حال تولید رنگدانه را حفظ می کند (۱۱ و ۱۲).

استفاده از محیط های کشت مقرون به صرفه و پایدار برای افزایش دوام اقتصادی کشت *Phaffia rhodozyma* نشان داده است که محصولات جانبی حاصل از آسیاب ذرت، مانند گلوتن ذرت برای تولید بیومس بالا و کاروتنوئید با هزینه کمتر در مقایسه با محیط کشت های سنتی استفاده شده اند (۲۲). همچنین عصاره سورگوم شیرین به عنوان محیط کشت جایگزین برای رشد و تولید آستاگزانتین با موفقیت مورد استفاده قرار گرفته است (۲۱ و ۲۳). رویکردهای ژنتیکی و جهش زایی و انتخاب سویه نیز برای افزایش تولید زیست توده و آستاگزانتین به کار گرفته شده است. جهش‌هایی با محتوای آستاگزانتین افزایش یافته و نرخ رشد بهبود یافته ایجاد شده‌اند که پتانسیل را برای بازده زیست توده بالاتر ارائه می‌دهند (۲۴).

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

منابع

1Donoso A, González-Durán J, Muñoz AA, González PA, Agurto-Muñoz C. Therapeutic uses of natural astaxanthin: An evidence-based review focused on human clinical trials. Pharmacological Research. 2021 Apr 1; 166:105479.

2- Rachael Link, MS, RD. 2022. Astaxanthin Benefits for the Skin, Brain, Heart & Muscles.

3- (Astaxanthin Market, by Source (Natural, Synthetic), by Form (Dry, Liquid), by Application (Dietary supplements, Cosmetics, Others): Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2024-2033

4- https://www.futuremarketinsights.com/reports/astaxanthin-market)

5- Ramírez J, Obledo N, Arellano M, Herrera E. Astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* in a fed batch culture using a low-cost medium feeding. e-Gnosis. 2006(4):0.

6- Jia J, Li F, Luan Y, Liu S, Chen Z, Bao G. Salicylic acid treatment and overexpression of a novel polyamine transporter gene for astaxanthin production in *Phaffia rhodozyma*. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2023 Oct 19; 11:1282315.

7- NI Hui, CHEN Qi-he, RUAN Hui, YANG Yuan-fan, LI Li-jun, WU Guang-bin, HU Yang, HE Guo-qing. Studies on optimization of nitrogen sources for astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma*. Journal of Zhejiang University SCIENCE B. 2007; 8(5):365-370

8- Meyer PS, Du Preez JC. Effect of culture conditions on astaxanthin production by a mutant of Phaffia rhodozyma in batch and chemostat culture. Applied Microbiology and Biotechnology. 1994 Feb;40(6):780-5.9- Domínguez-Bocanegra, A. R. Ponce-Noyola, T., Torres-Muñoz, J. A. Astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* and Haematococcus pluvialis: a comparative study. Appl Microbiol Biotechnol. 2007; 75:783–791.

10- Yamane Y, Higashida K, Nakashimada Y, Kakizono T, Nishio N. Influence of oxygen and glucose on primary metabolism and astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* in batch and fed-batch cultures: kinetic and stoichiometric analysis. Applied and Environmental Microbiology. 1997 Nov;63(11):4471-8.

11- Reynders MB, Rawlings DE, Harrison ST. Studies on the growth, modelling and pigment production by the yeast *Phaffia rhodozyma* during fed-batch cultivation. Biotechnology letters. 1996 Jun;18(6):649-54.

12- Reynders MB, Rawlings DE, Harrison ST. Demonstration of the Crabtree effect in *Phaffia rhodozyma* during continuous and fed-batch cultivation. Biotechnology Letters. 1997 Jun;19(6):549-52.

13- Peng F, Li A. Optimization of carotenoid fermentation medium of *Phaffia rhodozyma* by BP neural network and genetic algorithm. Ying Yong Yu Huan Jing Sheng Wu Xue Bao. 2008;14(6):834-7.

14- Guo X, Li X, Xiao D. Optimization of culture conditions for production of astaxanthin by *Phaffia rhodozyma*. In 2010 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering 2010 Jun 18 (pp. 1-4). IEEE.

15- Qi Bin. Optimization of Culture Conditions for Producing Astaxanthin *by Phaffia rhodozyma*. 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering. 2008.

16- Li Jifeng, Shi Yingjie, Sun Changming, Chen Jinzhao, Zhao Jia, Jiang Haiyan, Zu Lisheng. 2018. Fermentation culture medium and method for producing astaxanthin through fermentation of *Phaffia rhodozyma*. Patent.

17- Chociai MB, Machado IM, Fontana JD, Chociai JG, Busato SB, Bonfim TM. Cultivation of *Phaffia rhodozyma* (Xanthophyllomyces dendrorhous) yeast in discontinuous system to obtain astaxanthin. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 2002; 38:457-62.

18- Johnson EA, Lewis MJ. Astaxanthin formation by the yeast *Phaffia rhodozyma*. Microbiology. 1979 Nov;115(1):173-83.

19- Guan X, Zhang J, Xu N, Cai C, Lu Y, Liu Y, Dai W, Wang X, Nan B, Li X, Wang Y. Optimization of culture medium and scale-up production of astaxanthin using corn steep liquor as substrate by

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]

response surface methodology. Preparative Biochemistry & Biotechnology. 2023 Apr 3;53(4):443-53.

20- Fomtana JD, Guimarães MF, Martins NT, Fontana CA, Baron M. Culture of the astaxanthinogenic yeast *Phaffia rhodozyma* in low-cost media. Applied biochemistry and biotechnology. 1996 Mar;57(1):413-22.

21- Martin AM, Acheampong E, Patel TR, Chornet E. Study of growth parameters for *Phaffia rhodozyma* cultivated in peat hydrolysates. Applied biochemistry and biotechnology. 1992 Dec;37(3):235-41.

22- Hayman GT, Mannarelli BM, Leathers TD. Production of carotenoids by Phaffia rhodozyma grown on media composed of corn wet-milling co-products. Journal of industrial microbiology and biotechnology. 1995 May 1;14(5):389-95.

23- Stoklosa RJ, Johnston DB, Nghiem NP. Utilization of sweet sorghum juice for the production of astaxanthin as a biorefinery co-product by Phaffia rhodozyma. ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 2018 Jan 17;6(3):3124-34.

24- Meyer PS, Du Preez JC, Kilian SG. Selection and evaluation of astaxanthin-overproducing mutants of Phaffia rhodozyma. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 1993 Sep;9(5):514-20.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-07]