مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۶، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۴۰۰(شماره پی در پی ۱۴۵)

بررسی تأثیر کاروتنوئید *رودوتورولا گلوتینیس* بر عملکرد کبدی موش های سوری نر

سیده محبوبه موسوی[۱]، نوشین نقش[۲*]، محبوبه مدنی[۳]

[۱]گروه بیوتکنولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران، [۲]گروه زیست شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران،
[۳]گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۹/۰۹/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۰۴

چکیده

زمینه و هدف: کاروتنوئیدها به دلیل تبدیل شدن به ویتامین A در بدن، کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های تخریبی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، بهبود عملکرد سیستم ایمنی و کاربرد آنها به عنوان رنگ‌های خوراکی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. هدف از این مطالعه تعیین و تولید بیوتکنولوژی کاروتنوئیدها به وسیله مخمر *رودوتورولا گلوتینیس* و بررسی عملکرد کبدی آن در موش‌های سوری نر بود.

روش بررسی: در این مطالعه نیمه تجربی که در سال ۱۳۹۷. انجام شد، ۲۴ موش سوری نر نژاد آلبینو وارد مطالعه شدند و به طور تصادفی در ۳ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. دو گروه تیمار ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید را به صورت صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر به صورت درون صفاقی دریافت نمود، سپس خون‌گیری از طریق بریدن سر انجام و سلامت کبد در موش‌ها از طریق سنجش میزان فاکتورهای GGT، ALP، SGOT و SGPT بررسی شد. نتایج به دست آمده با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس و آنوا تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه، میزان کاروتنوئید جدا شده از مخمر *رودوتورولا گلوتنیس* برابر با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر و نتایج صنایع غذایی مربوط به آن با درصد خلوص: ۱۲/۲۱ میلی‌گرم در صد، رطوبت ۱۸ میلی‌گرم در صد، خاکستر کل: ۹/۶ میلی‌گرم در صد، مواد فرار: ۹/۸ میلی‌گرم در صد، عدد اسیدی ۷/۳ میلی‌گرم در صد و pH: ۵/۵ بیان شد. هم‌چنین، کاروتنوئید *رودوتورولا گلوتینیس* موجب تغییرات معنی‌دار غلظت سرمی ALP، SGOT و SGPT در گروه تیمار ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه شاهد نشده است. فقط فعالیت آنزیم GGT در گروه تزریق شده ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری از گروه تزریق ۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم کمتر بود.

بحث: با توجه به نتایج این تحقیق، میانگین فعالیت آنزیم‌های کبدی در دو گروه تیمار نسبت به گروه شاهد، تغییرات معنی‌داری نداشت، ولی میزان فعالیت آنزیم GGT در گروه تزریق شده ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری از گروه دیگر کمتر بود. از طرفی گاماگلوتامیل ترانسفراز به عنوان یکی از مارکرهای استرس اکسیداتیو می‌باشد. با توجه به معکوس بودن میزان فعالیت آنزیم GGT و خاصیت آنتی‌اکسیدانی، احتمالاً علت کاهش فعالیت این آنزیم در گروه تزریق شده با دوز ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید، تأثیرات آنتی‌اکسیدانی بیشترکارتنوئید به صورت وابسته به دوز می باشد. با توجه به ایمن بودن این کاروتنوئید برای کبد، لذا امکان استفاده از آن به عنوان مکمل در صنایع غذایی، پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: مخمر *رودوتورولا گلوتینیس*، کاروتنوئید، سمیت کبدی، موش سوری

***نویسنده مسئول: نوشین نقش،** اصفهان، دانشگاه آزاداسلامی، واحد فلاورجان، گروه زیست شناسی

E-mail:n_naghsh@yahoo.com

مقدمه

کاروتنوئیدها متعلق به گروهی از رنگدانه های طبیعی موجود در میوه‌ها، سبزیجات، ماهی، تخم مرغ و روغن هستند و با رنگ زرد، نارنجی و یا قرمز مشخص می‌شوند(۱). هم‌چنین عنصر ساختاری هسته کاروتنوئیدها یک ستون پلی‌ان شامل یک سری از حلقه‌های متصل کربن ـ کربن(باند دوگانه) می‌باشد. از طرفی وجود چنین زنجیره مزدوجی برای عملکرد مناسب کاروتنوئیدها حیاتی بوده، زیرا در تمامی موجودات زنده، محافظت در برابر نور را انجام می-دهد. این ویژگی خاص در درجه اول مسئول خواص رنگدانه و توانایی آن‌ها برای تعامل با رادیکال‌های آزاد دی‌اکسیژن است، بنابراین رنگدانه‌ها به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل می‌کند. هرگونه تغییر در ساختار پلی‌ان و تعداد پیوندهای دو گانه، با اضافه کردن گروه‌های فعال اکسیژن، باعث تغییر در واکنش کاروتنوئیدها می‌شود(۲). از حدود ۷۰۰ کاروتنوئید شناخته شده، ۵۰ مورد آن پیش ساز ویتامین A هستند و به همین دلیل باعث تقویت سیستم ایمنی و در صورت مصرف مداوم باعث پیشگیری از بیماری‌های چشمی نیز می‌شوند. کاروتنوئیدها باید از طریق رژیم غذایی به بدن انسان برسند، زیرا بدن انسان توانایی ساخت آن را ندارد، اما می‌تواند آن را جذب و متابولیزه کند(۳).

کاروتنوئیدها عمدتاً در کبد تجمع می‌یابند و با لیپو پروتئین‌ها برای آزاد شدن در گردش خون تخریب می‌شوند. کاروتنوئیدها با سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان در کبد همکاری می‌کنند تا کبد، از رادیکال‌های آزاد پاک شود. کاروتنوئیدها، آنتی‌اکسیدان‌های قوی هستند و از غشاهای سلولی محافظت می‌کنند و این نشان می‌دهد که آن‌ها می‌توانند از آسیب‌های اکسیداتیو کبدی ناشی از عوارض حاد و مزمن داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی نیز محافظت کنند. به نظر می‌رسد رنگدانه‌های میکروبی در غلظت‌های بسیار کم، فعالیت بیولوژیکی دارند و اثرات آن‌ها فراتر از آنتی اکسیدان‌های ساده است(٤). جنس *رودوتورولا* از شاخه بازیدیومیکوتا، کلاس یوریدینومایست، رده اسپوریدیال و خانواده اسپوریدیوبولاسه است(۵). مخمر *رودوتورولا گلوتینیس* به روش غیرجنسی به وسیله جوانه زنی چندجانبه یا قطبی، تکثیر می‌شوند و برخی میسلیوم کاذب ایجاد می کنند. اکثرا کروی یا بیضوی و به ندرت دراز و کشیده‌اند. این مخمرها هوازی بوده و دارای ویژگی‌های متابولیکی خاص مانند؛ تولید گلیکوژن در فاز رشد، تولید مقدار زیادی چربی و رنگدانه کاروتنوئید در مرحله ثابت رشد می‌باشند(٦).

رنگدانه کاروتنوئید شامل بتاکاروتن، تورولن و تورولارودین با رنگ‌های زرد تا صورتی، نارنجی و قرمز می‌باشد و درصد تولید آن‌ها به وسیله مخمر رودوتورولا بستگی به شرایط محیط کشت دارد. انواع رودوتورولا از هوا، خاک، چمن، دریاچه‌ها، پوست انسان، مدفوع، اقیانوس‌ها، مواد

غذایی(شیر، آب میوه‌ها)، جدا می شوند(۷). به دلیل تک سلولی بودن این مخمرها، میزان رشد نسبتاً بالا و همچنین رشد بر روی محیط‌های کشت تخمیری ارزان قیمت، استفاده از آن‌ها جهت تولید کاروتنوئید نسبت به جلبک‌ها، کپک‌ها و باکتری‌ها مزیت دارد(۸). استفاده از کاروتنوئیدهای مخمر *رودوتورولا گلوتینیس* به عنوان مکمل غذایی ارزشمند است و بررسی اثر این رنگدانه بر آسیب احتمالی کبد حایز اهمیت است. از طرفی آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات ترانس آمیناز درون سلول‌های کبدی وجود دارند و زمانی که هپاتوسیت‌ها آسیب می‌بیند این آنزیم ها وارد جریان خون می شوند و میزان آن‌ها در پلاسما افزایش می یابد. این آنزیم‌ها حساس ترین آنزیم تشخیصی کبد هستند. آنزیم آلکالین فسفاتاز یکی دیگر از آنزیم‌های مورد سنجش برای پی بردن به آسیب مجاری صفراوی است. از طرفی گاما گلوتامیل ترانس پپتیداز در سلول‌های کبدی، سلول‌های اپیتلیال مجاری صفراوی، سلول‌های خارج کبدی مثل؛ کلیه، طحال، پانکراس، قلب، ریه و مغز وجود دارند. عواملی که باعث افزایش این آنزیم‌ها می-شوند به طور عمده شامل بیماری‌های کلستاتیک کبدی و مصرف داروهایی مانند داروهای ضد تشنج، وارفارین و الکل می‌باشد(۹). هدف از این مطالعه تعیین و تولید بیوتکنولوژی کاروتنوئیدها به وسیله مخمر *رودوتورولا گلوتینیس* و بررسی عملکرد کبدی آن در موش‌های سوری نر بود.

روش بررسی

در این مطالعه نیمه تجربی که در سال ۱۳۹۷ انجام شد، ۲٤ رأس موش سوری نر از نژاد آلبینو از موسسه رویان خریداری شد. این موش‌ها در محدود وزنی(۵ ± 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، نیز کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

حیوانات به طور تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی طبقه‌بندی شدند؛ گروه کنترل: به این گروه ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر به صورت داخل صفاقی تزریق شد، گروه تیمار۱: به این گروه، کاروتنوئید، به میزان ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش به صورت داخل صفاقی تزریق شد و گروه تیمار ۲ : به این گروه، کاروتنوئید، به میزان ۱٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

سرانجام بعد از سه دور تزریق به فاصله سه روز در میان، موش‌ها به وسیله داروی بیهوشی که ترکیبی از زایلازین ۲ درصد و کتامین ۱۰ درصد به میزان ۰/۰۱۷۵ سی‌سی بود، بیهوش شدند. پس از بیهوش شدن، خون‌گیری از موش‌ها از طریق بریدن سر انجام و در ویال‌های ژل دار ریخته شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ آر پی ام سانتریفیوژ شد. سرم جدا شده به مدت ٤۸ ساعت در فریزر با دمای ۲۰ــ درجه سانتی‌گراد جهت بررسی سمیت کبدی(GGT، ALP، SGOT و SGPT) قرار گرفت. جهت تعیین میزان

سمیت کبدی از دستگاه بیوشیمی اتو آنالیز BA400(شرکت آریا- ساخت ایران) با روش آنالیزی end point استفاده شد.

مخمر مورد استفاده در این تحقیق، مخمر *رودوتورولا گلوتینیس* سویه *RY14* است که به وسیله محمدی و همکاران، از خاک اصفهان جداسازی و شناسایی شده بود(۱۰).

مخمر *رودوتورولا گلوتینیس* جهت رشد روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار به صورت چمنی کشت داده شد و محیط کشت‌های حاوی مخمر در انکوباتور با دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت قرار داده شدند. از کلنی‌های مخمر، کشت خطی و خالص تهیه شد(۱۱).

کلنی‌های تک و خالص مخمر *رودوتورولا گلوتینیس* ایجاد شده روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار، به وسیله لوپ استریل به دیواره ارلن حاوی محیط مالت براث انتقال داده شدند. سپس این ارلن‌ها درون انکوباتور شیکردار(shin-saeng، ساخت ایران)، با دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۳۰rpm به مدت ۹٦ ساعت قرار گرفتند. پس از گذشت این زمان به دلیل تولید رنگدانه، رنگ محیط کشت از زرد به نارنجی تغییر کرد(۱۱).

برای تهیه این محیط کشت سنتتیک ۱ گرم گلوکز، ۰/۱ گرم عصاره مخمر، ۰/۱ گرم آمونیوم سولفات، ۰/۲ گرم پتاسیم دی هیدروژن فسفات و ۰/۱ گرم منیزیوم سولفات هپتا هیدرات به ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و حرارت داده شد. سپس درب ارلن‌ها پنبه‌گذاری و در اتوکلاو(Iran tolid) با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پوند به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد(۱۲).

برای تلقیح مخمر پیپت‌های ۱۰ میلی‌لیتری شیشه‌ای درون فور با دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت استریل شد. به وسیله پیپت استریل ۳ میلی‌لیتر از محیط کشت مالت براث حاوی مخمر *رودوتورولا گلوتینیس*، به درون ارلن حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت پایه ریخته شد و در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹٦-۷۲ ساعت قرار داده شد. پس از سپری شدن این زمان به دلیل تولید رنگدانه، رنگ محیط کشت پایه از زرد به نارنجی تغییر کرد. محیط کشت پایه و حاوی مخمر، در ٤ لوله فالکون ۵۰ میلی‌لیتری به میزان ۲۵ میلی‌لیتر در هر فالکون تقسیم و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ آر پی ام سانتریفیوژ شد. مایع رویی حاوی محیط کشت دور ریخته شد و بر روی مخمرهای ته‌نشین شده، آب مقطر ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ آر پی ام سانتریفیوژ شد. مرحله سانتریفوژ (٦۰۰۰ دور DOMEL مدل Centric۳۲۲) ۳ بار تکرار شد(۱۲).

مخمرها از فالکون خارج و در پلیت‌های شیشه‌ای استریل ۱۰ سانتی‌متری ریخته و در فور با دمای ٤۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت خشک شدند. پس از آن مخمرها را از پلیت جدا کرده، در هاون کوبیده و در فالکون در دمای منهای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شبانه روز قرار داده شد(۱۳).

پس از ٢٤ ساعت فالکون‌ها از فریزر خارج و ٢ میلی لیتر HCL یک نرمال به هر یک از فالکون‌های حاوی مخمراضافه شد. فالکون‌ها به مدت ٤ ساعت درون بن ماری با دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. نمونه‌ها، ١٥ دقیقه یک‌بار ورتکس شدند. برای حذف اسید اضافی ٣ بار شستشو با آب مقطر انجام شد و سپس به آن‌ها استون و متانول به نسبت(١:١) اضافه شد و به مدت ٢٤ ساعت بر روی روتاتور قرار گرفت و سپس به مدت ١٠ دقیقه و با دور ١٠٠٠٠ آر پی ام سانتریفیوژ شد. محلول رویی به وسیله سمپلر جدا و به ته نشست، قطره قطره پترولیوم اتر اضافه شد تا محلول دو فازی تشکیل شود. در مرحله بعد کاروتنوئید جدا شده در فاز پترولیوم به درون ویال منتقل شد. شستشو با آب مقطر به وسیله سانتریفیوژ با دور ١٠٠٠٠ آر پی ام انجام شد. کاروتنوئید، به یک ویال استریل منتقل و عملیات شستشو با آب مقطر ٣ بار تکرار شد. کاروتنوئید استخراج شده درون کوت‌های دستگاه اسپکتروفوتومتر (SHIMADZU- UV-2600) برای خواندن جذب قرار داده شد(١٠). جذب در طول موج ٦٠٠-٤٠٠ نانومتر خوانده شد.

کاروتنوئید تولید شده قبل از تبخیر پترولیوم اتر و به صورت مایع، به آزمایشگاه معیار دانش پارس خوراسگان انتقال داده و شش آزمون رطوبت، pH، مواد فرار، خاکستر فعال، اسیدیته و درصد خلوص بر روی آن انجام شد.

با تکنیک خشک کردن انجمادی میزان رطوبت اندازه‌گیری شد. به این صورت که ٢ گرم از کاروتنوئید را وزن کرده و تحت شرایط خلاء و سرمای ٤٠- درجه سانتی‌گراد خشک و رطوبت آن گرفته شد. سپس وزن آن اندازه‌گیری و طبق فرمول زیر درصد رطوبت محاسبه شد(١٤).

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

M_1: وزن ظرف و نمونه قبل از خشک کردن،

M_2: وزن ظرف و نمونه بعد از خشک کردن و

M_0: وزن نمونه.

٢ گرم از نمونه حاوی کاروتنوئید در یک پلیت شیشه‌ای ریخته شد، سپس در آون با دمای ١٠٣ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت به این ترتیب رطوبت و مواد فرار هر دو بخار و میزان رطوبت و مواد فرار اندازه‌گیری شد. وزن به دست آمده از وزن کاروتنوئیدی که رطوبت آن بخار گردید کم شد و به این ترتیب مقدار مواد فرار به دست آمد(١٤).

$$\text{رطوبت} - \frac{M_1 \times M_2}{M_0} \times 100$$

M_1: وزن ظرف و نمونه قبل از بخار شدن،

M_2: وزن ظرف و نمونه بعد از بخار شدن و

M_0: وزن نمونه.

وزن معینی از نمونه در حجم مشخصی از آب حل شد و سپس با سود ٠/٠١ مولار تیتر گردید و یک شاهد از همان حجم مشخص آب نیز تهیه شد. سپس میزان اسید چرب آزاد که در نمونه وجود داشت با سود خنثی و وزن سود به

میلی‌گرم محاسبه شد که برابر با همان عدد اسیدی است(۱٤).

مقداری از نمونه را آسیاب کرده سپس بوته چینی را به مدت ۳۰ دقیقه در کوره ۵۰۰ تا ۵۵۰ درجه گذاشته، سپس در دسیکاتور قرار گرفت تا به دمای محیط برسد. ۲ گرم از نمونه را وزن کرده و در بوته چینی ریخته، 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(۱٤).

نمونه سرد شده را وزن کرده و طبق فرمول 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 و M_0: وزن نمونه.

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 اندازه گیری شد(۱٤).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آزمون کراسکال والیس وآنوا تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در پژوهش حاضر میزان کاروتنوئید استخراج شده از مخمر *رودوتورولا گلوتینیس RY14* بومی اصفهان، ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بود. جذب کاروتنوئید استخراج شده، در طول موج ٦۰۰ـ۳۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. بهترین محدوده جذب، جذب در ٤۸۳ نانومتر بود(نمودار ۱) که نشان دهنده کاروتنوئید است.

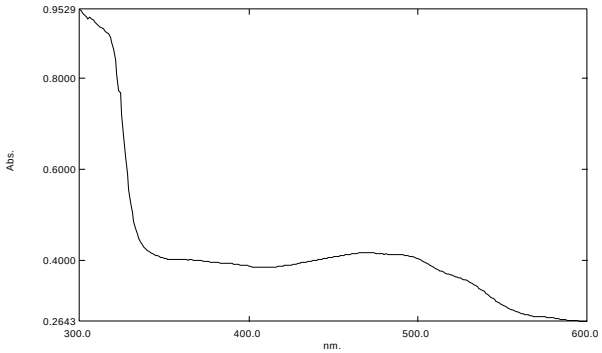
نتایج صنایع غذایی مربوط به کارتنویید استخراج شده از مخمر *رودوتورولا گلوتینیس* به شرح زیر است؛ درصد خلوص ۱۲/۲۱ میلی‌گرم در صد، میزان رطوبت ۱۸ میلی‌گرم درصد، خاکستر کل ۹/٦ میلی‌گرم در صد، مواد فرار ۹/۸ میلی‌گرم در صد، اسیدیته ۷/۳ میلی‌گرم بر گرم و pH ۵/۵ مشاهده گردید.

مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم SGOT در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروهی که ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید به صورت تزریقی دریافت کرده‌اند، مقدار SGOT برابر با (۵/٤± ۷۷/۵ دسی‌لیتر)، گروهی که ۱٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید به صورت تزریقی دریافت کرده‌اند، مقدار SGOT برابر با(۲/۱± ۸۱/۳ دسی‌لیتر) و گروه شاهد برابر (۱۰/۲± ۷۹ دسی‌لیتر) است. بر اساس نتایج به دست آمده، مقدار SGOT در گروه دریافت کننده ۳۲ و ۱٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ندارد($p<0/05$ آزمون کروسکال‌ـ والیس)(نمودار ۲).

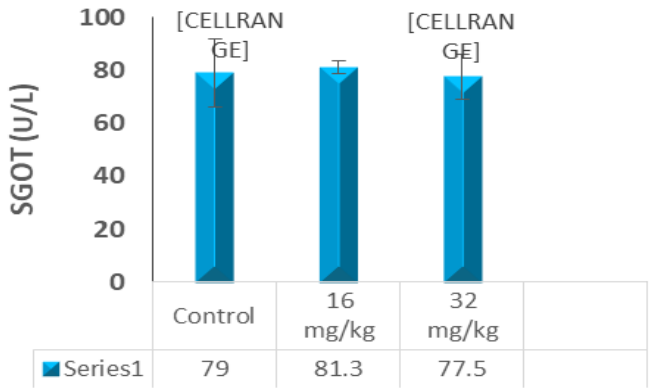
مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم SGPT در گروههای مختلف نشان داد که در گروهی که ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید به صورت تزریقی دریافت کرده‌اند، مقدار SGPT برابر با (۳۶/۸ ±٤/٤ دسی لیتر)، گروهی که ١٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید به صورت تزریقی دریافت کرده‌اند، مقدار SGPT برابر با (٤٣/٤±٢/٧ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه شاهد برابر(٤١/٨ ±٢/٧ دسی‌لیتر)است. بر اساس نتایج به دست آمده، مقدار SGPT در گروه دریافت کننده ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ١٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ندارد(p<٠/٠٥ آزمون کروسکال‌والیس)(نمودار۳).

مقایسه میانگین میزان فعالیت ALP در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروهی که ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید به صورت تزریقی دریافت کرده‌اند، مقدار ALP برابر با (٤٢١/٥ ±١٠٤/٥ دسی‌لیتر)، گروهی که ١٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید به صورت تزریقی دریافت کرده‌اند، مقدار ALP برابر با (٤٩٩/٨±٢٦/٣ دسی‌لیتر)، گروه شاهد برابر(٥٢٨/٤ ±٦١/١ دسی‌لیتر) است. بر اساس نتایج به دست آمده، مقدار ALP در گروه دریافت کننده ۳۲ و ١٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ندارد(p<٠/٠٥ آزمون کروسکال‌والیس)(نمودار٤).

مقایسه میانگین میزان فعالیت GGT در گروه‌های مختلف نشان داد که در گروهی که ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید را به صورت تزریقی دریافت کرده اند، مقدار GGT برابر با (٤/١٩ ±/٨٦ دسی‌لیتر)، گروهی که ١٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید دریافت کرده‌اند، مقدار GGT برابر با (٥/٧٣±/٨) گروه شاهد برابر(٤/٣٦±/٦٣ دسی‌لیتر) است. بر اساس نتایج بدست آمده، مقدار GGT در گروه دریافت کننده ١٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش داشته است، گروه دریافت کننده ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ندارد(p<٠/٠٥ آزمون کروسکال- والیس)(نمودار٥).

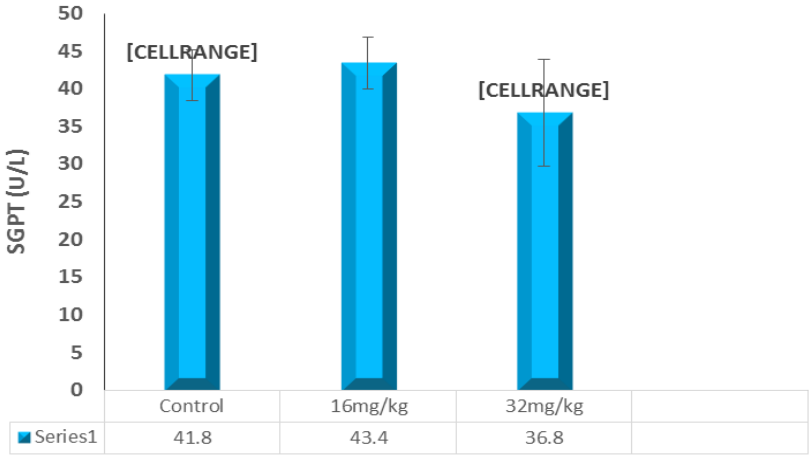


نمودار۱: جذب کاروتنوئید استخراج شده، در طول موج ٦٠٠-٣٠٠ به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر(نانومتر)



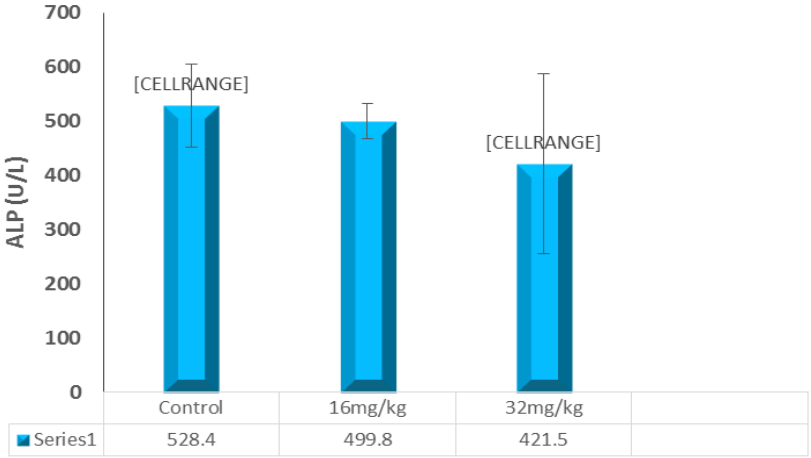
نمودار۲: مقایسه میانگین میزان غلظت سرمی SGOT در گروه های مختلف موش های سوری نر

* تفاوت معنی دار در مقایسه با شاهد در سطح ۰/۰۵



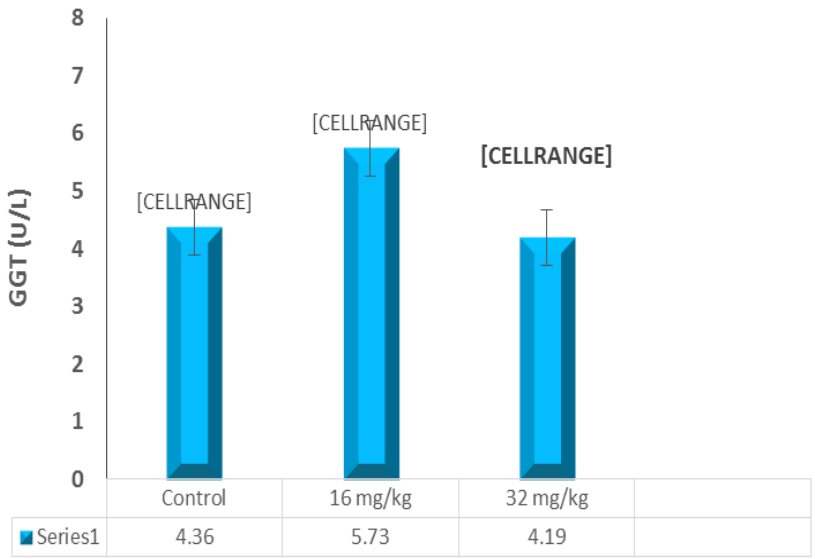
نمودار۳: مقایسه میانگین میزان غلظت سرمی SGPT در گروه‌های مختلف موش‌های سوری نر

* تفاوت معنی‌دار در مقایسه با شاهد در سطح ۰/۰۵



نمودار ٤: مقایسه میانگین میزان غلظت سرمی ALP در گروه‌های مختلف موش‌های سوری نر

* تفاوت معنی‌دار در مقایسه با شاهد در سطح ۰/۰۵



نموداره: مقایسه میانگین میزان غلظت سرمی GGT در گروه‌های مختلف موش‌های سوری نر

* تفاوت معنی دار در مقایسه با شاهد در سطح ۰/۰۵

بحث

کاروتنوئیدها رنگدانه‌های ارگانیک و آنتی‌اکسیدانی هستند که در گیاهان، جلبک‌ها، قارچ‌ها و باکتری‌ها یافت می‌شوند. باور بر این است که آن‌ها با پایین آوردن خطر بیماری‌های مزمن و بیماری‌های قلبی ـ عروقی ارتباط دارند و حتی می‌توانند به پیشگیری یا مبارزه با برخی از سرطان‌ها کمک کنند. از طرفی مخمرها از رده بازیدیومیست و آسکومیست بوده و روش تکثیر غیر جنسی آن‌ها، جوانه زدن است. مخمرها یکی از گزینه‌های مورد توجه در جهت ایجاد منابع تجاری برای تولید کاروتنوئید می‌باشند. در بین مخمرهای رنگیزه دار، تنها گروه تاکسونومیکی کوچکی به منظور محتوای کاروتنوئیدی خود، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در کنار شناخته شده ترین تولید کننده‌های کاروتنوئید تجاری، رنگدانه آستاگزانتین در صنعت پرورش ماکیان و آبزیان مورد توجه قرار دارد، مدارکی مبتنی بر توانایی تولید کاروتنوئید به وسیله جنس شناخته شده ردوسپورویوم نیز وجود دارد، لذا هدف از این مطالعه تولید بیوتکنولوژی کاروتنوئیدها به وسیله مخمر *رودوتورولا گلوتینیس* و بررسی عملکرد کبدی آن در موش‌های سوری نر بود.

بر اساس پژوهش‌ها، این تحقیق میزان آنزیم‌های ALP،GGT, SGOT, SGPT در گروه تزریق ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تغییر معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان نداد(p<۰/۰۵). میزان سه فاکتور SGOT, SGPT ALP در گروه تزریق ۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییرات معنی‌داری نسبت به شاهد نشان نداد

و فقط فاکتور GGT افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد($p<۰/۰۵$).

تزریق درون صفاقی با تولید رادیکال‌های آزاد و غلبه بر سیستم‌های آنتی‌اکسیدان، باعث اکسیداسیون بیومولکول‌ها مانند؛ لیپید، پروتئین، کربوهیدارات و DNA و در نهایت منجر به استرس اکسیداتیو می‌شوند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل؛ سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز از مهم‌ترین سیستم‌های دفاعی در شرایط استرس اکسیداتیو می‌باشد. گاماگلوتامیل ترانسفراز به عنوان یکی از مارکرهای استرس اکسیداتیو مطرح شده است. این آنزیم یک میکروزومال است و به عنوان یک مارکر برای سرطان، تشخیص سمیت با الکل، پیشرفت بیماری‌های قلبی ـ عروقی و دیابت کاربرد دارد و GGT نقش محوری در متابولیسم گلوتاتیون دارد. گلوتاتیون در همه پستانداران به عنوان فراوان ترین ترکیب تیول دار در دفاع علیه استرس اکسیداتیو می‌باشد. نقش اصلی گاما گلوتامیل ترانسفراز تخریب گلوتاتیون خارج سلولی است تا اجازه دهد پیش‌سازهای اسیدآمینه برای سنتز مجدد گلوتاتیون در داخل سلول جذب شوند(۱۵). از طرفی میزان فعالیت گاماگلوتامیل ترانسفراز به عنوان یکی از مارکرهای مهم ایجاد استرس اکسیداتیو می‌باشد. با توجه به معکوس بودن میزان فعالیت آنزیم GGT و خاصیت آنتی‌اکسیدانی، در این تحقیق، علت کاهش فعالیت این آنزیم در گروه تزریق شده با دوز۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تاثیرات آنتی‌اکسیدانی وابسته به دوز کارتنوئید در گروه دریافت کننده این ماده با غلظت بیشتر می باشد. بدین مفهوم که درگروه دریافت کننده کاروتنوئید با دوز۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی جلوی فعالیت آنزیم اکسیدان GGTرا گرفته است.

در یک تحقیق، مقدار کاروتنوئید تولید شده به وسیله مخمر *رودوتورولا گلوتینیس* سویه۳۸۵۳ DBVPG با HPLC و pH آن به وسیله pH متر سنجش شد و نتایج آن به شرح زیر است: pH آن بین ٤ تا ٦/٧٥ میلی‌گرم بر گرم است که با pH کاروتنوئید استخراج شده در طرح حاضر، در یک محدوده اسیدی قرار دارند. مقدار تولید کاروتنوئید آن در محیط براث ٥/٥٢±٠/٠٦ میلی‌گرم بر لیتر است(درجه تغییرات< ۲ درصد)(١٦)، و مقدار تولید کاروتنوئید در طرح حاضر ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر است که مقدار آن کمتر از مقدار کاروتنوئید تولید شده در طرح بوزینی می‌باشد که احتمالاً می‌تواند به دلیل متفاوت بودن سویه‌های مخمر و یا متفاوت بودن روش استخراج باشد. در پژوهشی درصد بتا کاروتن، زئاگزانتین و لوتئین ریز جلبک *دونالیلا* را در شرایط استرس شوری به ترتیب؛ ٦٠/٤، ١٣/٤ و ٤/٦ درصد از کل کاروتنوئید به دست آوردند(١٧). دلیل تولید زیاد رنگدانه در این طرح را می‌توان به استرس ناشی از شوری در محیط نسبت داد، زیرا استرس محیط، موجب تولید بیشتر کاروتنوئید می‌شود و در طرح حاضر، درصد خلوص بتاکاروتن به دست آمده از مخمر *رودوتورولا گلوتینیس* در شرایط نرمال ١٢/٢١ درصد از کل

کاروتنوئید است که مقدار آن کمتر از طرح آراناکوما می‌باشد و دلیل این تفاوت را احتمالا می‌توان به تفاوت شرایط استرس شوری و شرایط نرمال کشت و منابع استخراج متفاوت نسبت داد. در مطالعه‌ای دیگر میزان رطوبت کاروتنوئید استخراج شده از سبزیجات را با روش خشک کردن با آون اندازه‌گیری و مقدار رطوبت تقریباً ۷۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم محاسبه شد و میزان رطوبت کاروتنوئید استخراج شده در طرح حاضر ۱۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم است که دلیل این تفاوت، استخراج کاروتنوئید از منابع مختلف است. خاکستر استاندارد با استفاده از روش وزن سنجی اندازه گیری شد و مقدار خاکستر ۱۲ــ۰/٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم محاسبه شد و میزان خاکستر در طرح حاضر ۹/٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری شد که با طرح اول تقریباً هم‌خوانی دارد(۱۸). در مطالعه‌ای دیگر برای سنجش کاروتنوئیدها از روش HPLC استفاده نمودند و میزان بتاکاروتن، آستاگزانتین، زیگزانتین و لوتئین *فوزاریوم فوجیکوری* را به ترتیب؛ ۳۹/۱۲، ٥/٦۱، ۱/٥٦ و ۰/۳۰۱ میکروگرم بر گرم محاسبه نمودند، مواد فرار اندازه‌گیری شده برای هر کدام برابر ۸/۱ ، ۸، ۹ و ۸/۸ گزارش شد. در حالی که از هیدروژن پروکساید به عنوان عامل استرس در محیط کشت تیمارها استفاده شد میزان کاروتنوئیدها به طور معنی‌دار افزایش پیدا کردند. در تحقیق حاضر میزان کاروتنوئید و مواد فرار آن به ترتیب ۱۲/۲۱ میکروگرم بر گرم و ۹/۸ به دست آمده که عدم وجود عوامل استرس‌زا در محیط را نشان می‌دهد زیرا در شرایط استرس‌زای محیطی میزان تولید کاروتنوئید افزایش می‌یابد. پس در کل دلیل تفاوت در میزان تولید کاروتنوئید در این دو پژوهش را می‌توان به محیط کشت و نحوه انجام آزمایش نسبت داد(۱۹). در مطالعه‌ای بررسی اثر محافظت کبدی دوزهای افزاینده عصاره آبی گلسرخ نشان داده شد(۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). آنزیم‌های SGOT، SGPT و ALP در دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ از نظر آماری تغییر معنی‌داری نشان ندادند. عصاره آبی گلسرخ می‌تواند به صورت وابسته به دوز موجب جلوگیری از آسیب کبدی از طریق فعالیت آنتی اکسیدانی در رت شود(۲۰). در تحقیق حاضر نیز در دوز تزریق ۳۲ و ۱٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم در آنزیم‌های SGOT، SGPT و ALP تغییری نشان داده نشد. ثابت شده است که ترکیبات فنلی گیاهی اثر حفاظتی در برابر آسیب‌های ناشی از سموم کبدی و رادیکال‌های آزاد دارند. هم‌چنین فالونوئیدهای موجود در کاروتنوئیدها با افزایش ظرفیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و هم‌چنین مهار سیستم سیتوکروم p450 باعث کاهش رادیکال‌های آزاد و احیای سلول‌های آسیب دیده و در نتیجه محافظت سلولی می‌شوند. در هر صورت، در بین مکانیسم‌های محافظتی مختلف، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها، مسئول اثرات فارماکولوژیکی آن قلمداد شده است. در مطالعه‌ای بررسی اثر مصرف کوتاه مدت عصاره آبی کلاله زعفران بر میزان مالون دی‌آلدئید و سیستم آنتی‌اکسیدانی کبد در موش‌های نر انجام گردید. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌های SGOT ،GGT، SGPT و ALP و MDA بافت کبد نسبت به گروه کنترل تغییر

معنی‌داری نیافت. بنابراین عصاره آبی کلاله زعفران دارای کاروتنوئید به نام کروسین می‌باشد و باعث تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی کبد موش‌های ویستار شده و از تغییرات معنی‌دار سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و MDA بافت کبد جلوگیری می‌کند. کروسین به عنوان یک کاروتنوئید گلیکوزیله است که نقش خود را از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی اعمال می‌دارد و رادیکال‌های آزاد را به دام می‌اندازد(۲۱). نتایج حاصل از سنجش میزان SGPT، SGOT و ALP در تحقیق حاضر با نتایج محققان فوق هم‌خوانی دارد که دلیل آن را می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها نسبت داد، زیرا کاروتنوئید در ساختار خود دارای ۸ اتم هیدروژن و ۵ اتم کربن می باشد. 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 افتاده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئید فعال می گردد، اما بعضی مواقع فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها تحت شرایطی(وارد شدن استرس، شرایط محیطی) ممکن است به سمت فعالیت پیش‌اکسیدانی تغییر یابد. پیش‌اکسیدان به ترکیبی گفته می‌شود که با القای استرس اکسیداتیو، تعادل پیش‌اکسیدان ـ آنتی‌اکسیدان را به سمت فعالیت اکسیدانی پیش برده و با کاهش سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، منجر به آسیب اکسیداتیو بافت‌ها می‌شود. غلظت‌های بالای کاروتنوئید می‌تواند نفوذپذیری غشاء را نسبت به رادیکال‌های آزاد و مواد سمی بالا ببرد. در پژوهشی با هدف اثر عصاره دانه‌های هویج، بر سطح آنزیم‌های شاخص عملکرد کبد بررسی گردید، نتایج این طرح در دوز(۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تغییراتی در آنزیم‌های شاخص SGPT،GGT،SGOT و ALP و هیستوپاتولوژی کبد نشان ندادند، ولی در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان آنزیم‌های SGPT،GGT،SGOT کاهش یافت. در طرح حاضر نیز در دوز تزریق ۳۲ و ۱٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییراتی در آنزیم‌های SGPT،SGOT و ALP مشاهده نشد. فنول‌ها یک نقش مهم به عنوان آنتی‌اکسیدان و از بین برنده رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارند که موجب بهبود وضعیت و از آسیب رسانی به کبد جلوگیری می‌کنند. مخمر *رودوتورولا گلوتینیس* نیز دارای ترکیبات پلی فنلی می باشد، بنابراین دلیل هم‌خوانی نتایج این طرح با طرح حاضر را می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدهای ذکر شده نسبت داد، زیرا بتاکاروتن در ساختار خود دارای ۸ هیدروژن و ۵ کربن می‌باشد. رادیکال آزاد با از دست دادن الکترون تمایل واکنش با هیدروژن موجود در بتاکاروتن را داشته و این واکنش موجب کاهش فعالیت رادیکال آزاد و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان می‌گردد(۲۲).

در مطالعه‌ای در دو گروه موشی مصرف کاهوی غنی شده با پلی فنول که حاوی کاروتنوئیدهایی مانند بتاکاروتن و لوتئین است برای متابولیسم گلوکز،

مورد بررسی قرارداده شد. این مطالعه نشان داد که متابولیسم گلوکز در موش‌هایی که با این کاهو تغذیه شدند نسبت به گروه شاهد که با خوراک معمولی تغذیه شده بودند، دارای عملکرد بهتری بود و میزان تجمع چربی در کبد، در موش‌های دارای رژیم غذایی کاهوی غنی شده نسبت به گروه شاهد نیز کمتر بود(۲۳). مصرف کاهوی سبز و قرمز که دارای کاروتنوئید هستند به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی آن‌ها باعث بهبود اکسیداسیون بافت‌ها از جمله بافت کبدی، متابولیسم لیپیدها و کلسترول پلاسما می‌شوند و از تشکیل لیپیدهای رادیکالی در کبد نیز جلوگیری می‌کنند. از طرفی، ترابی و همکاران به بررسی تولید کارو تنوئید به وسیله قارچ فوزاریوم اگزوسپوریوم و تأثیر آن بر آنزیم‌های کبدی در موش‌های سوری نر پرداختند. نتایج به دست آمده از تحقیق آنها نشان داد که کاروتنوئید استخراج شده از قارچ فوزاریوم اگزوسپوریوم موجب تغییراتی در میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی شد. در گروه تزریق غلیظ کاروتنوئیدها با غلظت ۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان فعالیت آنزیم‌های SGPT و ALP کاهش معنی‌دار ایجاد شد. آن‌ها نتیجه گرفتند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها در دوز غلیظ باعث بهبود عملکرد کبد و کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی شده است. این عملکرد احتمالاً به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها با کنترل استرس اکسیداتیو و به دام انداختن رادیکال‌های آزاد می‌باشد، نتایج حاصل از مطالعه این محققان در راستای نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر می‌باشد(۲٤).

از محدودیت‌های این طرح فقدان بودجه لازم برای انجام و پیشبرد کار بود، اما پیشنهاد می‌شود اقدامات زیر صورت گیرد؛ استفاده از قارچ‌های دیگر برای استخراج کاروتنوئید، استفاده از روش‌های دیگر برای استخراج کاروتنوئید، تولید کاروتنوئید به وسیله مخمر رودوتورولا گلوتینیس و کاربرد آن در صنایع غذایی و بررسی سمیت کبدی آن در موش‌های سوری ماده و مقایسه با موش سوری نر و بررسی تأثیرات کاروتنوئیدهای استخراج شده از مخمر رودوتورولا گلوتینیس روی بیان ژن‌های کبدی.

نتیجه‌گیری

در طرح حاضر متابولیسم آنزیم‌های شاخص کبدی SGOT، SGPT، ALP و GGT در دو گروه تزریق با دوزهای ۳۲ و ۱٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورد بررسی قرار گرفت. آنزیم‌های SGOT، SGPT از سلول‌های پارانشیمی کبدی آزاد می‌شوند و استانداردهای طلایی برای بررسی آسیب‌های کبدی هستند که در طرح حاضر این آنزیم‌ها تغییرات معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشتند و مقدار آنها در خون افزایش نداشت بنابراین می‌توان گفت مصرف کاروتنوئید استخراج شده در دوزهای به کار رفته از مخمر رودوتورولا گلوتینیس ایمن و فاقد تأثیرات تخریبی بر سلول‌های کبدی می‌باشد. بر اساس نتایج این تحقیق، کاروتنوئید استخراج شده از مخمر رودوتورولا گلوتینیس منجر به

سمیت کبدی در موش سوری نر نشد، نتایج بررسی میزان رطوبت، خاکستر کل، مواد فرار، اسیدیته و pH نیز مطلوب بود. با توجه به شباهت فیزیولوژیک بدن موش و انسان به یکدیگر استفاده از این کاروتنوئید به عنوان مکمل غذایی پیشنهاد می‌شود، هرچند پژوهش‌های بیشتر جهت بررسی پروفایل لیپیدی و واکنش‌های ایمنی ناشی از آن ضروری است. هم‌چنین بهینه سازی تولید و استفاده از مواد ارزان قیمت جهت توجیه اقتصادی باید مورد توجه قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی گرایش میکروبی دانشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان با کد اخلاق IR.IAU.NAJAFABAD.REC.1379/079 می‌باشد. نگارندگان این مقاله کمال قدردانی و تشکر از کلیه پرسنل دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان و کلیه دوستان و همکاران عزیزی که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند، ابراز می‌دارند.

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.Rodriguez-Concepcion M, Avalos J, Bonet ML, Boronat A, Gomez-Gomez L, Hornero-Mendez D, et al. A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. Prog Lipid Res 2018; 70: 62–93.
3. Herson Antonio GP, Ana Rosa RS, Fernando JJ and Han M. Natural dietary pigments: potential mediators against hepatic damage induced by over-the-counter non-steroidal anti-inflammatory and analgesic drugs. Nutrients. 2018;10(2):117.
4.Bhattacharyya S, Shivaprakash MR, Chakrabarti A, Sharma N. Foot bleb infection due to Rhodotorula muscilaginosa in a diabetic patient. Biomedical Research India 2012; 23(4): 577-9.
5.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
6.Kot AM, Błażejak S, Kurcz A, Bryś J, Gientka I, Bzducha-Wróbel A, et al. Effect of initial pH of medium with potato wastewater and glycerol on protein, lipid and carotenoid biosynthesis by Rhodotorula glutinis. Electronic Journal of Biotechnology 2017; 27: 25–31.
7.Karamerou EE, Theodoropoulos C, Webb C. A biorefinery approach to microbial oil production from glycerol by Rhodotorulaglutinis. Biomass and Bioenergy 2016; 89: 113–22.
8.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: 6103–117.
9.Konstantopoulos P, Doulamis IP, Tzani A, Korou ML, Agapitos E, Vlachos IS, et al. Metabolic effects of Crocus sativus and protective action against non-alcoholic fatty liver disease in diabetic rats. Biomedical reports 2017; 6(5): 513-8.
10.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(8): 46-56.
11.Mokhtari M, Etebarian HR, Razavi M, Heydari A, Mirhendi H. Identification of yeasts isolated from varieties of apples and citrus using pcr-fragment size polymorphism and sequencing of its1-5.8s-its2 region. Food Biotechnol 2012; 26: 252-65.
12.Naghavi FS, Hanachi P, Soudi MR, Saboora A, Ghorbani A. Evaluation of the relationship betwen the incubation time and carotenoid production in rhodotorula slooffiae and R. Mucilaginosa Isolated from leather Tanning Wastewater. Iran J Basic Med Sci 2013; 16(10): 1114-8.
13.Munch G, Sestric R, Sparling R, Levin DB, Cicek N. Lipid production in the under characterized oleaginousyeasts, Rhodosporidium babjevae and Rhodosporidium diobovatum, from biodiesel-derived waste glycerol. Bioresour Technol 2015; 185: 49-55.
14. Ligia Alves DCC, Karen Yuri Feitosa K, Susan Grace K. Microbial production of carotenoids – A review. African Journal of Biotechnology 2017; 16(4): 139-46.
15.Sreeram M, Suryakar AN, Dani NH. Is gamma-glutamyl transpeptidase a biomarker for oxidative stress in periodontitis? Journal of Indian Society of Periodontology 2015; 19(2): 150.
16.Mussagy CU, Winterburn J, Santos-Ebinuma VC, Pereira JFB. Production and extraction of carotenoids produced by microorganisms. Appl Microbiol Biotechnol 2019; 103: 1095–114.
17.Arunakumara KKIU, Xuecheng Z, Yijing Z. Growth and pigment biosynthesisof spirulina platensisas affected by Pb2+concentrations. Bangladesh J Bot 2016; 36(2): 177-9.
18.Wei ZH, Gao Y X. Physicochemical properties of _-carotene bilayer emulsions coated by milk proteins and chitosan–EGCG conjugates. Food Hydrocoll 2016; 52: 590–9.
19.Ayu DF, Andarwulan N, Hariyadi P, Purnomo EH. Effectof tocopherols, tocotrienols, _-carotene and chlorophyll on the photo-oxidative stability of red palm oil. Food Sci Biotechnol 2016; 25: 401–7.
20.Saxena M. Shakya A. Evaluation of the effect of liver protection on increasing dose levels of aqueous yellow extract. J Environ Pathol Toxicol Oncol 2012; 31(3): 193-201.

21.Konstantopoulos P, Doulamis IP, Tzani A, Korou ML, Agapitos E, Vlachos IS, et al. Metabolic effects of Crocus sativus and protective action against non-alcoholic fatty liver disease in diabetic rats. Biomedical reports 2017; 6(5): 513-8.
22.Lee J, Sparrow D, Vokonas P, Landsberg L, Weiss ST. Effect of carrot seed extract (daucus carota ssp. sativum) on the level of liver function index enzymes: the normative aging study. Am J Epidemiol 2016; 142(3): 288-94.
23.Mata-Gómez LC, Montañez JC, Méndez-Zavala A, Aguilar CN. Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. Microbial Cell Factories 2014; 13(1): 12.
24.Torabi Kh, Naghsh N, Madani M. An investigation of carotenoid production by fusarium exosporium and its effect on liver enzymes in male mice. Journal of Lorestan University of Medical Sciences 2020; 22(1): 121-30.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article Medical

The Effect of Carotenoid *Rhodoturola glutenis* on Liver Function in Male Mice

Mousavi M [1], Naghsh N[2*], Madani M [3]

[1]Master of Biotechnology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran,[2]Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran,[3]Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Received: 10 Des 2020 Accepted: 24 Apr 2021

Abstract:

Background & aim: Carotenoids have received much attention due to their conversion to vitamin A in the body, reducing the risk of destructive diseases, antioxidant activity, improving immune function and their application as edible colors.

Methods: In this quasi-experimental study conducted in 2018, 24 male albino mice were included in the study and randomly divided into 3 groups of 8. The two groups received 32 mg/kg and 16 mg/kg carotenoids peritoneally. The control group received 0.5 ml of distilled water intraperitoneally, then blood sampling was performed and liver health in mice was assessed by measuring the GGT, ALP, SGOT and SGPT factors. The obtained results were analyzed using analysis of variance and Anova statistical tests in SPSS21 software.

Results: In this study, the amount of carotenoids isolated from the yeast of *Rhodoturola glutenis* was equal to 0.1 mg/L and the results of the related food industry with a purity of: 12.21 mg%, moisture content of 18 mg/L, ash. Total: 9.6 mg percent, volatiles: 9.8 mg percent, acid number 7.3 mg percent and pH: 5.5 was stated. The mean activity of SGOT, SGPT, ALP in the 32 and 16mg/kg injections was not significantly different with the control group. But the mean of GGT activity in the 32mg/kg treated group was significantly less than the 16mg/kg injection group.

Conclusion: According to the results of this study, *Rhodotorula glutinis* carotenoids was not significantly different in liver enzyme activity in treatment and control group. But, the GGT activity is an important marker of oxidative stress. The mean of GGT activity in the 32mg/kg injection group was significantly less than other group. On the other hand, gammaglutamyl transferase is one of the markers of oxidative stress. Due to the inverse activity of GGT and its antioxidant properties, the reason for the decrease in the activity of this enzyme in the injected group at a dose of 32 mg / kg carotenoid is probably the dose-dependent antioxidant effects of most carotenoids. So, it is recommended to use it as a supplement in the food industry.

Keyword: *Rhodoturola glutenis* Yeast, Carotenoid, Liver toxicity, Mice.

[*]**Corresponding autho**: **Naghsh N**, Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
Email:n_naghsh@yahoo.com

Please cite this article as follows:
Mousavi M, Naghsh N, Madani M. The Effect of Carotenoid *Rhodoturola glutenis* on Liver Function in Male Mice. Armaghane-danesh 2021; 26(2): 165-181.