

### **Ludmiła Bogacz-Radomska**

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu  
e-mail: ludmila.bogacz-radomska@ue.wroc.pl

### **Joanna Harasym**

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu  
College of Agricultural and Forestry Engineering, University of Valladolid  
e-mail: joanna.harasym@ue.wroc.pl

---

## **BIOSYNTeza BETA-KAROTENU I KAROTENOIDÓW Z UDZIAŁEM DROŻDŻY *RHODOTORULA SPP.* – PRZEGLĄD BADAŃ**

---

## **BIOSYNTHESIS OF BETA-CAROTENE AND CAROTENOIDS BY YEAST OF *RHODOTORULA SPP.* – A REVIEW**

---

DOI: 10.15611/nit.2017.4.01  
JEL Classification: Q10

**Summary:** Biosynthesis of carotenoids, including  $\beta$ -carotene, is an area of continuous scientific research due to their valuable pro-health properties and high coloring power. This paper presents an overview of the *Rhodotorula spp.* culture, esp. methods and conditions applied in carotenoids' production. In this paper the influence of combined cultures, pH, temperature, carbon sources, the proportion of carbon atoms to nitrogen, concentrations of micro- and macronutrient sources, oxidative stress, UV and VIS radiation as well as culturing methods for carotenogenesis in yeast cells of *Rhodotorula spp.* was characterized. The list of yeast species from the genus *Rhodotorula*, which naturally synthesize carotenoids, was presented.

**Keywords:** carotenoids,  $\beta$ -carotene, *Rhodotorula spp.*

**Streszczenie:** Biosynteza karotenoidów, w tym  $\beta$ -karotenu, jest obszarem ciągłych badań naukowych ze względu na ich cenne właściwości prozdrowotne i dużą siłę barwiącą. W niniejszej pracy przedstawiono przegląd metod oraz warunków hodowli drożdży *Rhodotorula spp.*, prowadzonych w celu otrzymywania karotenoidów. Omówiono wpływ hodowli skojarzonych, pH, temperatury, źródeł węgla, proporcji atomów węgla do azotu, stężeń źródeł mikro- i makroelementów, stresu oksydacyjnego, promieniowania UV i VIS oraz metody hodowli na proces karotenogenezy w komórkach drożdży *Rhodotorula spp.* Przedstawiono wykaz gatunków drożdży z rodzaju *Rhodotorula*, które naturalnie syntetyzują karotenoidy.

**Słowa kluczowe:** karotenoidy,  $\beta$ -karoten, *Rhodotorula spp.*

## 1. Wstęp

$\beta$ -karoten należy do nieutlenionych karotenoidów. Wykazuje dużą bioaktywność i jest powszechnie stosowany w medycynie. Przez wzgląd na właściwości prozdrowotne  $\beta$ -karoten jest cennym dodatkiem do żywności. Jego znaczenie przemysłowe wynika również z własności barwiących.

$\beta$ -karoten jest metabolitem wtórnym, syntetyzowanym zarówno przez rośliny wyższe, jak i przez drobnoustroje. Biosynteza  $\beta$ -karotenu z udziałem bakterii, drożdży i pleśni jest w ostatnim czasie obszarem licznych badań naukowych. Wśród drobnoustrojów wykorzystywanych w pracach badawczych najczęściej wymienia się pleśnię *Blakeslea trispora* oraz drożdże z rodzaju *Sporobolomyces*, *Rhodotorula* i *Phaffia*, które odznaczają się wysoką szybkością biosyntezy. Badania naukowe są ukierunkowane na zwiększenie szybkości i wydajności biosyntezy produktu. Ze względu na łatwość prowadzenia hodowli i ekstrakcji barwnika na szczególną uwagę zasługują drożdże z rodzaju *Rhodotorula*.

## 2. Badania nad produktywnością biosyntezy $\beta$ -karotenu i karotenoidów przez wybrane gatunki drożdży *Rhodotorula* spp.

W pracach badawczych poświęconych studiom nad biosyntezą  $\beta$ -karotenu z udziałem drożdży stosowano dotychczas wiele szczepów. Wykaz gatunków drożdży syntetyzujących  $\beta$ -karoten został przedstawiony w tab. 1. Spośród wymienionych gatunków największą grupę stanowią drożdże z rodzaju *Rhodotorula*.

W hodowlach drożdży z rodzaju *Rhodotorula* wyizolowanych w regionie Patagonii największą szybkością objętościową ( $1444 \mu\text{g dm}^{-3} \text{h}^{-1}$ ) i właściwą ( $301 \mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) produkcji karotenoidów charakteryzowały się hodowle drożdży *Rhodotorula rubra* (*mucilaginos*) CRUB 0064. W tych hodowlach autorzy uzyskiwali ogólną zawartość karotenoidów w zakresie od  $60 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  syntetyzowaną przez szczepy naturalnie występujące w przyrodzie do  $301 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  otrzymywanych w hodowlach zmutowanych szczepów. W hodowlach charakteryzujących się wyższym stężeniem biomasy w podłożu hodowlanym badacze uzyskali niższą zawartość karotenoidów [Libkind, van Brook 2006; Aksu, Eren 2005].

W hodowlach z użyciem szczepu *R. mucilaginos*-137 uzyskano największą zawartość  $\beta$ -karotenu ( $P_{\text{KB}} = 16,0 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) i karotenoidów ( $P_{\text{KC}} = 69,0 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) przy stężeniu biomasy równym  $8,6 \text{ g dm}^{-3}$  [Maldonade i in. 2008]. Zespół Chanchay i in. w hodowlach drożdży *R. rubra* uzyskał zróżnicowaną zawartość karotenoidów (od  $12,39$  do  $164,54 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) w zależności od źródła węgla [Chanchay i in. 2012]. Natomiast zespół Cutzu i in. przy stężeniu biomasy *R. rubra* równym  $11,37 \text{ g dm}^{-3}$  otrzymał ogólną zawartość karotenoidów o wartości  $0,26 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  [Cutzu i in. 2013].

W hodowlach zmutowanych drożdży *R. glutinis*-32 otrzymano najwyższą końcową zawartość  $\beta$ -karotenu ( $3,94 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) i karotenoidów ( $4,93 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) przy stężeniu

niu biomasy równym  $26,0 \text{ g dm}^{-3}$ . W tych hodowlach największa objętościowa szybkość produkcji  $\beta$ -karotenu nastąpiła w późniejszej fazie logarytmicznej wzrostu biomasy drożdży i wynosiła  $7,25 \text{ mg dm}^{-3} \text{ h}^{-1}$  [Bhosale, Gadre 2001a]. Natomiast Buzzini i Martini, prowadząc hodowle z zastosowaniem tego samego gatunku drożdży, otrzymali końcowe stężenie biomasy równe  $6,5 \text{ g dm}^{-3}$ , w której zawartość  $\beta$ -karotenu wynosiła  $84,21 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ , a zawartość wszystkich karotenoidów była równa  $915,4 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  [Buzzini, Martini 2000].

Zespół Cutzu i in., prowadząc dobór szczepu spośród rodzaju *Rhodotorula*, *Rhodospiridium* oraz *Sporobolomyces*, najlepsze wyniki pod względem zawartości karo-

**Tabela 1.** Wykaz gatunków drożdży *Rhodotorula spp.* syntetyzujących karotenoidy  
**Table 1.** List of yeast species from *Rhodotorula spp.*, which synthesize carotenoids

Gatunki drożdży/Yeast species	Źródło/Source
<i>Rhodotorula acheniorum</i>	[Nasrabadi, Razavi 2011]
<i>Rhodotorula glutinis</i>	[Bhosale Gadre 2001a] [Bhosale, Gadre 2001b] [Bhosale, Gadre 2002] [Braunwald i in. 2013] [Buzzini 2001] [Buzzini, Martini 2000] [Cutzu i in. 2013] [Frengova i in. 2004] [Latha i in. 2005] [Maldonade i in. 2008] [Malisorn, Suntornsuk 2008] [Saenge i in. 2011] [Sinisa i in. 2013] [Zhang i in. 2014]
<i>Rhodotorula gracilis</i>	[Vijayalakshmi i in. 1999] [Somashekar, Joseph 2000]
<i>Rhodotorula graminis</i>	[Buzzini i in. 2005] [Maldonade i in. 2008]
<i>Rhodotorula minuta</i>	[Maldonade i in. 2008] [Patino-Vera i in. 2005]
<i>Rhodotorula rubra</i> ( <i>mucilaginoso</i> )	[Aksu, Eren 2005] [Chanchay i in. 2012] [Cutzu i in. 2013] [Frengova i in. 2004] [Libkind i van Brook 2006] [Maldonade i in. 2008] [Moline i in. 2010] [Simova i in. 2003] [Sinisa i in. 2013]

Źródło: opracowanie własne.

Source: authors' own study.

tenoidów uzyskał w hodowlach drożdży *R. glutinis* ( $0,43 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) przy stężeniu biomasy równym  $10,5 \text{ g dm}^{-3}$  [Cutzu i in. 2013]. Podobne wyniki badań uzyskał zespół Maldonade i in., który w hodowlach drożdży *R. glutinis* otrzymał największą zawartość  $\beta$ -karotenu ( $57,0 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ), a zawartość karotenoidów wynosiła  $132,0 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  [Maldonade i in. 2008]. W badaniach prowadzonych przez zespół Latha nad biosyntezą karotenoidów przez szczep *R. glutinis* DFR-PDY w optymalnym wariancie zawartość karotenoidów była równa  $1,11 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  przy stężeniu biomasy w wysokości  $9,0 \text{ g dm}^{-3}$  [Latha i in. 2005]. Zbliżone wyniki otrzymał Sinisa, prowadząc hodowle *R. glutinis*, w których końcowa zawartość  $\beta$ -karotenu wynosiła  $1197,4 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  przy stężeniu biomasy  $9,72 \text{ g dm}^{-3}$  [Sinisa i in. 2013]. Natomiast w hodowlach tych drożdży zespół Saenge i in. otrzymał stężenie karotenoidów równe  $125,75 \text{ mg dm}^{-3}$  i stężenie biomasy wynoszące  $8,17 \text{ g dm}^{-3}$  [Saenge i in. 2011].

Zawartość  $\beta$ -karotenu uzyskana przez Ferrao i Garga w hodowlach drożdży *R. graminis* RC04 zawierała się w przedziale od 29 do  $150 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ , co wskazuje na duży potencjał metaboliczny tych drożdży w zakresie biosyntezy  $\beta$ -karotenu [Ferrao, Garg 2011].

W pracach nad biosyntezą karotenoidów przez drożdże *R. acheniorum* uzyskano końcową zawartość  $\beta$ -karotenu wynoszącą  $11,28 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  i karotenoidów równą  $12,25 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  [Nasrabadi i in. 2011].

Zastosowanie *R. gracilis* CFR-1AU w biosyntezie karotenoidów pozwoliło uzyskać ogólną zawartość karotenoidów równą  $26 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  przy niskim stężeniu biomasy w podłożu hodowlanym wynoszącym  $2,4 \text{ g dm}^{-3}$  [Somashekar, Joseph 2000].

### 3. Wpływ hodowli skojarzonych bakterii i drożdży na biosyntezę $\beta$ -karotenu i karotenoidów

W literaturze można znaleźć przykłady hodowli skojarzonych drożdży z rodzaju *Rhodotorula* oraz innych drobnoustrojów, w tym bakterii i drożdży. W skojarzonych hodowlach drożdży *R. glutinis* i bakterii *Lactobacillus helveticus* końcowa zawartość  $\beta$ -karotenu wynosiła  $43,68 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ , przy czym końcowa zawartość karotenoidów wynosiła  $268,0 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ , a stężenie biomasy było równe  $9,2 \text{ g dm}^{-3}$  [Frengova i in. 1997]. Inny wariant zakładał skojarzoną hodowlę okresową drożdży *R. rubra* i *Kluyveromyces lactis* w serwatce wzbogaconej makroelementami. W warunkach optymalnych całkowita zawartość karotenoidów zwiększyła się do  $421,0 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ , jednak zawartość  $\beta$ -karotenu wynosiła tylko  $31,0 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  przy stężeniu biomasy równym  $17,7 \text{ g dm}^{-3}$  [Frengova i in. 2004].

W hodowlach skojarzonych drożdży *R. rubra* i bakterii *L. casei* uzyskano największą końcową zawartość  $\beta$ -karotenu równą  $0,27 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  przy ogólnej zawartości karotenoidów na poziomie  $0,45 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  i stężeniu biomasy równym  $27,0 \text{ g dm}^{-3}$  [Simova i in. 2003]. Natomiast skojarzenie hodowli *R. glutinis* i *D. castellii* umożliwiło otrzymanie stężenia karotenoidów równego  $9,5 \text{ mg dm}^{-3}$ , przy czym 74% stanowiła torularodyna, a torulen i  $\beta$ -karoten pozostawały w mniejszości [Buzzini 2001].

## 4. Wpływ warunków hodowli na biosyntezę $\beta$ -karotenu i karotenoidów

### 4.1. Źródła węgla

W badaniach nad biosyntezą  $\beta$ -karotenu z udziałem drożdży stosowano różne źródła węgla, jednak dominującym i referencyjnym źródłem była glukoza [Maldonado i in. 2008; Libkind, van Brook 2006; Bhosale, Gadre 2001a]. Stężenie glukozy w podłożach hodowlanych sięgało 4%, a zawartość  $\beta$ -karotenu uzyskiwana w tych hodowlach zawierała się w przedziale od  $16 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  do  $3,94 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ .

Wyniki badań nad wpływem różnych sacharydów na biosyntezę  $\beta$ -karotenu w hodowlach drożdży *R. glutinis* DFR-PDY wykazały, że w podłożach hodowlanych zawierających monosacharydy oraz disacharydy, największą zawartość karotenoidów, wynoszącą średnio  $1,10 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ , a także największe stężenie biomasy sięgające ok.  $11,0 \text{ g dm}^{-3}$  uzyskano z zastosowaniem fruktozy, glukozy i sacharozy o stężeniu 3% w podłożu hodowlanym [Latha i in. 2005].

Wykazano, że w hodowlach okresowych drożdży *R. rubra* w podłożu zawierającym glukozę w ilości  $10 \text{ g dm}^{-3}$  drożdże te produkują więcej karotenoidów ( $15,63 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) w porównaniu z hodowlami prowadzonymi w podłożach zawierających sacharozę ( $12,39 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) o tym samym stężeniu [Chanchay i in. 2012].

Wśród mieszanych źródeł węgla łączono glukozę z glicerolem. Zaobserwowano, że drożdże z rodzaju *Rhodotorula* asymilowały glicerol, zarówno w połączeniu z glukozą, jak i jako samodzielne źródło węgla. W hodowlach drożdży *R. rubra* największą zawartość  $\beta$ -karotenu ( $564,8 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) i karotenoidów ( $1469,1 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) uzyskano w hodowlach, w których stężenia glukozy i glicerolu wynosiły po 2%, natomiast w hodowlach *R. glutinis* zawartość karotenoidów równą  $1944,3 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  otrzymano przy 1-procentowym stężeniu glicerolu technicznego i 3-procentowym stężeniu glukozy w podłożu hodowlanym [Sinisa i in. 2013].

Zastosowanie glicerolu odpadowego (9,5% w podłożu) jako samodzielnego źródła węgla w hodowlach *R. glutinis* pozwoliło otrzymać zawartość karotenoidów na poziomie  $21,63 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ . Znacznie niższą zawartość karotenoidów ( $1,99 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) uzyskano w przypadku zastosowania glicerolu odpadowego (10% w podłożu) w hodowlach drożdży *R. mucilaginosa* [Cutzu i in. 2013].

W literaturze znajdują się przykłady zastosowań produktów ubocznych z różnych gałęzi przemysłu spożywczego i produkcji biodiesla w procesie biosyntezy  $\beta$ -karotenu [Chanchay i in. 2012; Marova i in. 2012b; Nasrabadi i in. 2011; Aksu, Eren 2005; Frengova i in. 2004; Simova i in. 2004; Buzzini 2001; Buzzini, Martini 2000; Frengova i in. 1997].

Zbadano wpływ moszczu winogron, syropu glukozowego, melasy buraczanej, mąki sojowej i mąki kukurydzianej na produkcję karotenoidów przez drożdże *R. glutinis*. Najwyższą zawartość karotenoidów ( $915,4 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) zanotowano z zasto-

sowaniem moszczu winogronowego, natomiast w hodowlach zawierających syrop glukozowy nie stwierdzono obecności  $\beta$ -karotenu [Buzzini, Martini 2000].

W badaniach nad przydatnością soku z trzciny cukrowej, melasy oraz odcieku z produkcji cukru zawierającego 54% (m/m) sacharozy w biosyntezie karotenoidów przez *R. rubra* uzyskano niewielkie stężenie karotenoidów [Banzatto i in. 2013].

W hodowlach drożdży *R. mucilaginosa* prowadzonych w podłożach zawierających laktozę z serwatki o stężeniu  $13,2 \text{ g dm}^{-3}$  uzyskano wyższą zawartość karotenoidów ( $35 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) niż w przypadku zastosowania melasy buraczanej ( $21,19 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) lub glukozy ( $13,94 \text{ mg g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) o jednakowym stężeniu w podłożu hodowlanym (2%) [Aksu, Eren 2005].

W okresowych hodowlach skojarzonych *R. glutinis* i bakterii *L. helveticus* zawierających serwatkę o stężeniach od  $35,0$  do  $70,0 \text{ g dm}^{-3}$  uzyskano najwyższą zawartość  $\beta$ -karotenu ( $37,2 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ) w podłożach, w których stężenie laktozy zawartej w serwatce wynosiło  $42,0 \text{ g dm}^{-3}$  [Fregova i in. 1997]. Inny wariant zakładał skojarzoną hodowlę okresową drożdży *R. rubra* i *K. lactis* w podłożach zawierających laktozę z serwatki o stężeniu  $50,0 \text{ g dm}^{-3}$ , w którym uzyskano wyższą zawartość  $\beta$ -karotenu ( $133,0 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ ), a ogólna zawartość karotenoidów wyniosła  $421,0 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ . Obniżenie stężenia laktozy do  $35,0 \text{ g dm}^{-3}$  skutkowało obniżeniem stężenia biomasy i karotenoidów. Wyższe stężenie laktozy ( $70,0 \text{ g dm}^{-3}$ ) sprzyjało nagromadzeniu biomasy, jednak stężenie karotenoidów w suchej masie drożdży było od 1,5 do 2 razy niższe niż w wariacie hodowli zawierającym  $50,0 \text{ g dm}^{-3}$  laktozy [Fregova i in. 2004].

Serwatkę stosowano również w hodowlach drożdży *R. acheniorum* oraz skojarzonych hodowlach drożdży *R. rubra* i bakterii *L. casei* [Nasrabadi i in. 2011; Simova i in. 2004].

W badaniach stosowano także dodatek serwatki liofilizowanej lub pozbawionej protein oraz ekstrakt ziemniaczany o jednakowych stężeniach wynoszących  $7,0 \text{ g/dm}^{-3}$  [Marova i in. 2012b]. Analiza wyników wykazała, że w hodowlach drożdży *R. glutinis* CCY 20-2-26 największy wpływ na szybkość biosyntezy  $\beta$ -karotenu miała serwatka pozbawiona protein. Zawartość  $\beta$ -karotenu uzyskana w hodowli *R. glutinis* CCY 20-2-26 była równa  $1268,5 \text{ } \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ .

#### 4.2. Stosunek liczby atomów węgla do azotu w pożywce

Analizie poddano również wpływ wzajemnych proporcji atomów węgla i azotu na biosyntezę  $\beta$ -karotenu, karotenoidów oraz biomasy w hodowlach drożdży *Rhodotula spp.* [Braunwald i in. 2013; Ferrao, Garg 2011; Saenge i in. 2011; Somashekar, Joseph 2000].

Wyniki badań wskazują na optymalny stosunek atomów węgla do atomów azotu wynoszący 10:1 [El-Banna i in. 2012; Somashekar, Joseph 2000; Ferrao, Garg 2011].

W badaniach prowadzonych przez zespół Braunwald i in. autorzy wykazali wzrost zawartości karotenoidów w hodowlach drożdży *R. glutinis*, w których stosunek atomów węgla do azotu był duży. Zbyt niskie stężenie azotu prowadziło do ob-

nizienia zawartości karotenoidów. Z tego względu optymalny stosunek źródeł węgla do azotu C:N ustalono na 70:1 [Braunwald i in. 2013]. Podobne wyniki uzyskał zespół Saenge i in. w hodowlach drożdży *R. glutinis* TISTR 5159, w których optymalna wzajemna proporcja atomów węgla i azotu wyniosła 85:1 [Saenge i in. 2011].

#### 4.3. Stężenia mikro- i makroelementów oraz źródła azotu

W badaniach nad biosyntezą  $\beta$ -karotenu istotnym zagadnieniem jest dobór stężeń mikro- i makroelementów oraz źródeł azotu. Rodzaje źródeł mikro- i makroelementów oraz źródeł azotu stosowanych w wybranych hodowlach drożdży z rodzaju *Rhodotorula* przedstawiono w tab. 2.

**Tabela 2.** Rodzaje źródeł mikro- i makroelementów oraz źródeł azotu stosowanych w wybranych hodowlach drożdży z rodzaju *Rhodotorula* i *Sporobolomyces*

**Table 2.** Sources of micro- and macroelements and nitrogen used in selected cultures of yeasts from genus *Rhodotorula* and *Sporobolomyces*

Źródło literaturowe	Ca(OH) <sub>2</sub>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	Ekstrakt drożdżowy	Treonina	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	Ekstrakt słodowy	MnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Pepton
	g dm <sup>-3</sup>										
[Aksu, Eren 2005]	0,0	1,0	0,25	2,5	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	1,0	0,0
[Bhosale, Gadre 2001a]	0,1	0,2	0,05	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
[Buzzini 2001]	0,0	8,0	0,5	4,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
[Buzzini i in. 2007]	0,0	8,0	0,5	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
[Buzzini, Martini 2000]	0,0	8,0	0,5	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
[Chanchay i in. 2012]	0,0	2,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0
[Davoli i in. 2004]	0,0	1,0	0,5	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
[Frengova i in. 2004]	0,0	3,0	0,5	3,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	8,0	0,0
[Frengova i in. 2003]	0,0	5,5	0,5	5,0	0,0	0,0	20,0	0,0	3,0	6,0	0,0
[Martelli i in. 1992]	0,0	5,5	0,5	1,0	0,0	0,0	0,0	0,2	3,7	5,3	0,0
[Libkind, van Brook 2006]	0,0	2,0	0,5	1,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0
[Saenge i in. 2011]	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	5,0
[Simova i in. 2003]	0,0	5,5	0,5	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	6,0	0,0
[Sinisa i in. 2013]	0,0	5,0	0,34	7,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0

Źródło: opracowanie własne.

Source: authors' own study.

Na podstawie analizy danych przedstawionych w tab. 2 wnioskuje się, że wśród wymienionych związków tylko niektóre są niezbędne do biosyntezy karotenoidów przez drożdże *Rhodotorula spp.* Należą do nich:

- diwodorofosforan potasu,
- siedmiowodny siarczan magnezu,
- ekstrakt drożdżowy.

Pozostałe związki są rzadziej stosowane w biosyntezie karotenoidów przez drożdże z rodzaju *Rhodotorula* i tym samym nie mają kluczowego znaczenia w tym procesie.

#### 4.4. Stres oksydacyjny

Najnowsze badania dowodzą, że fizjologiczna regulacja procesu fermentacji wywoływana przez wprowadzanie stresu oksydacyjnego przez nadmierne stężenie metali oraz generatorów wolnych rodników powoduje znaczny wzrost stężenia karotenoidów. Zmiany w środowisku indukują mechanizmy adaptacyjne w komórkach drobnoustrojów, w wyniku czego właściwości fizykochemiczne komórek zmieniają się i wyzwalają się nowe szlaki metaboliczne [Mahmoud i in. 2014; Frengova, Beshkova 2009; Breierova i in. 2008; Malisorn, Suntornsuk 2008; Latha i in. 2005; Davoli i in. 2004; Marova i in. 2004; Simova i in. 2004].

Wprowadzenie do podłoża hodowlanego chlorku sodu w przedziale od 2 do 5% lub wody morskiej spowodowało znaczny wzrost stężenia karotenoidów [Mahmoud i in. 2014; Marova i in. 2012b; Bhosale, Gadre 2001b].

Prowadzono również badania nad wpływem jonów  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  i  $\text{Se}^{2+}$  oraz różnych stężeń  $\text{NaCl}$  i  $\text{H}_2\text{O}_2$  w podłożach hodowlanych na zawartość karotenoidów w komórkach drożdży z rodzaju *Rhodotorula*. Stwierdzono, że stres komórkowy wywoływany obecnością nadmiernego stężenia jonów  $\text{Zn}^{2+}$  ( $1,0 \text{ mg dm}^{-3}$   $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) oraz  $\text{H}_2\text{O}_2$  powoduje 5-10-krotny wzrost  $\beta$ -karotenu, natomiast nadmierne stężenie jonów  $\text{Cu}^{2+}$  stymuluje biosyntezę torularodiny. Ekstrakty drożdży pochodzące z hodowli zawierających metale ciężkie, głównie jonów  $\text{Zn}^{2+}$ , wykazywały silne właściwości przeciwutleniające [Hanusova 2011; Hanusova i in. 2008].

Podobne rezultaty otrzymał zespół Buzziniego, który określał wpływ stężeń jonów  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  w podłożach hodowlanych na produkcję  $\beta$ -karotenu przez drożdże *R. graminis* DBVPG 7021. Wyniki doświadczeń wykazały największy wpływ jonów  $\text{Zn}^{2+}$  (50 ppm) na biosyntezę  $\beta$ -karotenu, którego udział wzrósł do 80%, choć całkowita zawartość karotenoidów uległa zmniejszeniu do  $192,5 \mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  [Buzzini i in. 2005].

Wyniki te potwierdzono w hodowlach *Rhodotorula spp.* podczas wprowadzania do podłoża hodowlanych nadmiernych stężeń cynku ( $1,0$ - $4,0 \text{ mM ZnCl}_2$ ), miedzi ( $3,0 \text{ mM CuCl}_2$ ) i perhydrolu ( $5,0$ - $8,0 \text{ mM H}_2\text{O}_2$ ). W hodowlach drożdży w podłożach zawierających jony  $\text{Zn}^{2+}$  zaobserwowano największy wzrost udziału  $\beta$ -karotenu [Breierova i in. 2005].



#### 4.5. Promieniowanie widzialne i ultrafioletowe

Karotenogeneza w wielu organizmach indukowana jest przez światło, ponieważ drożdże, chroniąc się przed szkodliwym promieniowaniem ultrafioletowym, wytwarzają karotenoidy. Optymalna długość światła i jego natężenie zależą od gatunku i szczepu drożdży [Tada, Shiroishi 1982]. Wiele prac badawczych poświęconych jest określeniu wpływu promieniowania widzialnego i ultrafioletowego na proces karotenogenezy [Zhang i in. 2014; Moline i in. 2010; Stachowiak, Czarnecki 2007; Garcia-Gonzalez i in. 2005; Bhosale, Gadre 2002; del Campo i in. 2001].

Bhosale i Gadre w 2002 r. prowadzili badania nad wglębną hodowlą drożdży *R. glutinis* prowadzoną przy ciągłym naświetlaniu światłem o natężeniu 1000 luksów. W tych hodowlach stwierdzono hamujące działanie naświetlania na proces karotenogenezy, ponieważ stężenie karotenoidów obniżyło się o 34%, osiągając 83,0 mg dm<sup>-3</sup>. W innym wariantcie ustalono początek naświetlania na późną fazę logarytmiczną wzrostu drożdży, co skutkowało wzrostem karotenoidów i tym samym  $\beta$ -karotenu, którego udział wynosił ok. 91%, a końcowe stężenie w podłożu hodowlanym wzrosło do 198 mg dm<sup>-3</sup>, natomiast w hodowli bez dostępu światła wynosiło 125,0 mg dm<sup>-3</sup> [Bhosale, Gadre 2002].

Zespół Zhang i in. w badaniach prowadzonych w 2014 r. nad wpływem gęstości strumienia energii promienistej w zakresie od 800 do 2400  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  emitowanej przez lampę LED na hodowlę drożdży *R. glutinis* uzyskał najwyższe stężenie biomasy w podłożu hodowlanym wynoszące 17,7 g dm<sup>-3</sup> i karotenoidów (2,6 mg dm<sup>-3</sup>) w hodowlach naświetlanych światłem o 2400  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , co odpowiadało natężeniu światła 390 luksów [Zhang i in. 2014].

Zespół Moline i in. prowadził badania nad wpływem promieniowania ultrafioletowego UVB na biosyntezę karotenoidów przez drożdże *R. mucilaginosa*. W tym celu badacze wprowadzili zawiesinę drożdży do rurek kwarcowych umiejscowionych 20 cm od lampy Spectroline XX15-B UVB emitującej promieniowanie o długości fal od 280 do 320 nm. W szczepach, które wykazały się przeżywalnością sięgającą 44,5%, autorzy uzyskali zawartość karotenoidów równą 242,9  $\mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$ , natomiast w komórkach drożdży o niskiej przeżywalności, wynoszącej 7,6%, zawartość karotenoidów była równa 95,7  $\mu\text{g g}_{\text{s.m.}}^{-1}$  [Moline i in. 2010].

#### 4.6. pH podłoża

W biosyntezie karotenoidów istotną rolę odgrywa właściwy dobór pH podłoża hodowlanego. Biosynteza karotenoidów przez drożdże *Rhodotorula spp.* prowadzono przy pH równym:

- 4,5 [Nasrabadi i in. 2011; Libkind, van Brook 2006];
- 5,5 [Banzatto i in. 2013; Buzzini, Martini 2000; Chanchay i in. 2012];
- 6,0 [Stachowiak, Czarnecki 2007; Bhosale, Gadre 2001a; Bhosale, Gadre 2001b];
- 6,8 [Maldonade i in. 2008];
- 7,1 [Cutzu i in. 2013].

Niektórzy autorzy zaobserwowali większy przyrost biomasy i karotenoidów w hodowlach z regulacją pH podłoża hodowlanego w czasie jej trwania:

- 5,5 [Fregova i in. 2004; Simova i in. 2003];
- 5,8 [Buzzini 2001];
- 6,0 [Saenge i in. 2011].

Prowadzone są także prace badawcze dotyczące wpływu początkowego pH podłoża hodowlanego na stężenie karotenoidów i biomasy. Stwierdzono, że w hodowlach drożdży *R. mucilaginosa* wraz z wzrostem pH podłoża w zakresie od 3,0 do 7,0 wzrasta stężenie biomasy i zawartość karotenoidów, natomiast w podłożu o odczynie zasadowym następuje zahamowanie wzrostu drożdży [Aksu, Eren 2005]. Natomiast w hodowlach drożdży *R. glutinis* optymalne pH podłoża hodowlanego pod względem biosyntezy karotenoidów wynosiło 5,5, przy czym stężenie biomasy wzrastało nawet w podłożach o silnie alkalicznym odczynie [Latha i in. 2005].

#### 4.7. Temperatura hodowli

Zakres temperatur, w którym możliwy jest wzrost drożdży z rodzaju *Rhodotorula*, zawiera się w przedziale 25-35°C [Saenge i in. 2011; Maldonade i in. 2008; Aksu, Eren 2005; Buzzini i in. 2005; Fregova i in. 2004]. Niektórzy badacze prowadzili hodowle drożdży z rodzaju *Rhodotorula* w temperaturze 28°C [Sinisa i in. 2013; Nasrabadi i in. 2011; Bhosale, Gadre 2001a].

#### 4.8. Metoda hodowli

Duży wpływ na szybkość i wydajność biosyntezy  $\beta$ -karotenu ma zastosowana metoda hodowli. Najczęściej wybierana przez badaczy metoda to wgłębna hodowla okresowa prowadzona w kolbach na wstrząsarce, która odznacza się prostotą i niską wydajnością [Cutzu i in. 2013; Chanchay i in. 2012; Hanusova i in. 2008; Maldonade i in. 2008; Libkind, van Brook 2006; Aksu, Eren 2005; Buzzini i in. 2005; Bhosale, Gadre 2001a]. Ta metoda hodowli służy do wstępnej analizy wpływu wybranych czynników na proces karotenogenezy.

Większą produktywność hodowli można uzyskać, stosując wgłębne hodowle okresowe prowadzone w bioreaktorze [Sinisa i in. 2013; Nasrabadi i in. 2011; Fregova i in. 2004; Simova i in. 2003; Bhosale, Gadre 2001b]. Prowadzono również wgłębne zasilane hodowle okresowe, w których otrzymana zawartość  $\beta$ -karotenu znacznie przewyższała wyniki uzyskane w hodowlach okresowych [Bhosale, Garde 2001c; Buzzini 2001; Saenge i in. 2011].

Buzzini badał biosyntezę karotenoidów w zasilanych wgłębnych hodowlach skojarzonych drożdży *R. glutinis* i *Debaryomyces castellii* w podłożach zawierających syrop kukurydziany. Podłoże zasilające było proporcjonalnie dziesięciokrotnie stężone w stosunku do podłoża hodowlanego w bioreaktorze. Zasilanie powtarzano co 72 godziny. Wzrost biomasy obu gatunków drożdży widoczny był przez pierwsze

96-120 godzin, które pozostały w stosunku 1:1 ( $10^8$  komórek  $\text{cm}^{-3}$ ). Największe stężenie karotenoidów ( $9,5 \text{ mg dm}^{-3}$ ) autor uzyskał po 144 godzinie hodowli, w których torularodyna stanowiła 74%, a torulen i  $\beta$ -karoten pozostawały w mniejszości. W zasilanych hodowlach okresowych zawartość karotenoidów była wyższa niż w hodowlach okresowych [Buzzini 2001].

W celu zwiększenia szybkości produkcji karotenoidów w hodowlach drożdży *R. glutinis* zespół Saenge i in. zastosował wgłębne zasilane hodowle okresowe. Początek zasilania został ustalony na środek eksponencjalnej fazy wzrostu drożdży i zasilanie powtarzano co 12 godzin. Zastosowanie wgłębnych hodowli zasilanych wpłynęło na podwyższenie końcowego stężenia karotenoidów do  $180,20 \text{ mg dm}^{-3}$  oraz biomasy do  $13,77 \text{ g dm}^{-3}$  w stosunku do wgłębnych hodowli okresowych prowadzonych w bioreaktorze, w których stężenie karotenoidów było niższe o prawie 30% ( $125,75 \text{ mg dm}^{-3}$ ), a stężenie biomasy o 40% ( $8,17 \text{ g dm}^{-3}$ ) [Saenge i in. 2011].

Bhosale i Gadre, prowadząc badania wgłębnych zasilanych hodowli okresowych drożdży *Rhodotorula glutinis*-32, zastosowali zasilanie oparte na pomiarze tlenu rozpuszczonego. Poziom tlenu rozpuszczonego był utrzymywany między 10 a 40% za pomocą prędkości obrotowej wału mieszadła oraz dawki podłoża zasilającego. Autorzy stosowali dwa rodzaje podłoży zasilających, które zawierały podwójne lub potrójne stężenie melasy w porównaniu z jej stężeniem w podłożu hodowlanym przebywającym w bioreaktorze. Zasilanie rozpoczynano we wczesnej stacjonarnej fazie wzrostu drożdży. W hodowli zasilanej podłożem o dwukrotnie większym stężeniu melasy zawartość  $\beta$ -karotenu wzrastała do końca trwania hodowli, a końcowe jego stężenie wynosiło ok.  $35,0 \text{ mg dm}^{-3}$ , przy czym stężenie biomasy wynosiło ok.  $34,0 \text{ g dm}^{-3}$ . Natomiast w hodowli zasilanej podłożem o trzykrotnie wyższym stężeniu melasy największe stężenie  $\beta$ -karotenu badacze uzyskali w 72 godzinie hodowli ( $100 \text{ mg dm}^{-3}$ ), a na koniec hodowli wynosiło ono ok.  $70,0 \text{ mg dm}^{-3}$ . Stężenie biomasy utrzymywało się na stałym poziomie od 72 godziny hodowli i wynosiło ok.  $55,0 \text{ g dm}^{-3}$ .

## 5. Wnioski

Biosynteza karotenoidów, w tym i  $\beta$ -karotenu, przez drożdże z rodzaju *Rhodotorula* jest przedmiotem wielu badań naukowych. Wynika to z bioaktywnych właściwości tych związków, co powoduje ich szerokie zastosowanie. Badania zmierzają do określenia optymalnych warunków hodowli drożdży *Rhodotorula spp.* z uwzględnieniem produkcji karotenoidów. Gatunek drożdży *Rhodotorula glutinis* określany jest jako najbardziej produktywny. Zastosowanie drożdży *Rhodotorula spp.* w otrzymywaniu karotenoidów, w tym  $\beta$ -karotenu, może się stać alternatywną metodą w stosunku do aktualnie stosowanych technologii.

## Literatura

- Aksu Z., Eren A.T., 2005, *Carotenoids production by the yeast Rhodotorula mucilaginosa: Use of agricultural wastes as a carbon source*, Process Biochemistry, Vol. 9, No. 40, s. 2985-2991.
- Banzatto D., de Freitas L.A., Mutton M.J.R., 2013, *Carotenoid production by Rhodotorula rubra cultivated in sugarcane juice, molasses, and syrup*, Ciência e Tecnologia de Alimentos., Vol. 33, No. 1, s. 14-18.
- Bhosale P., Gadre R.V., 2001a, *Optimization of carotenoid production from hyper-producing Rhodotorula glutinis mutant 32 by a factorial approach*, Letters in Applied Microbiology, Vol. 33, s. 12-16.
- Bhosale P., Gadre R.V., 2001b, *Production of  $\beta$ -carotene by a Rhodotorula glutinis mutant in sea water medium*, Bioresource Technology, Vol. 76, s. 53-55.
- Bhosale P., Gadre R.V., 2002, *Manipulation of temperature and illumination conditions for enhanced  $\beta$ -carotene production by mutant 32 of Rhodotorula glutinis*, Letters in Applied Microbiology, Vol. 34, s. 349-353.
- Braunwald T., Schwemmlin L., Graeff-Hönninger S., French W.T., Hernendey R., Holmes W.E., Claupein W.Ö., 2013, *Effect of different C-N ratios on carotenoid and lipid production by Rhodotorula glutinis*, Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 97, s. 6581-6588.
- Breierova E., Gregor T., Marova I., Certik M., Kogan G., 2008, *Enhanced antioxidant formula based on a selenium-supplemented carotenoid-producing yeast biomass*, Chemistry and Biodiversity, Vol. 5, No. 3, s. 440-446.
- Breierova E., Marova I., Certik M., 2005, *The role of the carotenoid pigments in yeast cells under stress conditions*, Chemické Listy, Vol. 99, s. 49-52.
- Buzzini P., 2001, *Batch and fed-batch carotenoids production by Rhodotorula glutinis-Debaryomyces castellii co-cultures in corn syrup*, Journal of Applied Microbiology, Vol. 90, s. 843-847.
- Buzzini P., Martini A., 2000, *Production of carotenoids by strains of Rhodotorula glutinis cultured in raw materials of agro-industrial origin*, Bioresource Technology, Vol. 71, s. 41-44.
- Buzzini P., Martini A., Gaetani M., Turchetti B., Pagnoni U.A., Davoli P., 2005, *Optimization of carotenoid production by Rhodotorula graminis DBVPG 7021 as a function of trace element concentration by means of response surface analysis*, Enzyme and Microbial Technology, Vol. 36, s. 687-692.
- Chanchay N., Sirisansaneeyakul S., Chaiyasut C., Poosaran N., 2012, *Optimal conditions for carotenoid production and antioxidant characteristics by Rhodotorula rubra*, World Academy of Science, Engineering and Technology, Vol. 6, s. 1645-1649.
- Cutzu R., Coi A., Rosso F., Bardi L., Ciani M., Budroni M., Zara G., Zara S., Mannazzu I., 2013, *From crude glycerol to carotenoids by using a Rhodotorula glutinis mutant*, World Journal of Microbiology and Biotechnology, Vol. 29, s. 1009-1017.
- Davoli P., Mierau V., Weber R.W.S., 2004, *Carotenoids and fatty acids in red yeasts Sporobolomyces roseus and Rhodotorula glutinis*, Applied Biochemistry Microbiology, Vol. 40, s. 392-397.
- del Campo J.A., Rodriguez H., Moreno J., Vargas M.A., Rivas J., Guerrero M.G., 2001, *Lutein production by Muriellopsis sp. in an outdoor tubular photobioreactor*, Journal of Biotechnology, Vol. 85, s. 289-295.
- El-Banna A.A., Abd El-Razek A.M., El-Mahdy A.R., 2012, *Some factors affecting the production of parotenoids by Rhodotorula glutinis var. glutinis*, Food and Nutrition Sciences, Vol. 3, s. 64-71.
- Ferrao M., Garg S., 2011, *Studies on effect of media components on growth and  $\beta$ -carotene production by Rhodotorula graminis RC04*, Journal of Cell and Tissue Research, Vol. 11, No. 1, s. 2551-2556.
- Frengova G., Simova E., Beshkova D., 1997, *Caroteno-protein and exopolysaccharide production by cocultures of Rhodotorula glutinis and Lactobacillus helveticus*, Journal of Industrial Microbiology, Vol. 18, s. 272-275.
- Frengova G., Simova E., Beshkova D., 2003, *Carotenoid production by Lactoso-Negative Yeasts Co-Cultivated with lactic Acid Bacteria in Whey Ultrafiltrate*, Zeitschrift für Naturforschung, Vol. 58, No. 7-8, s. 562-7.

- Frengova G., Simova E., Beshkova D., 2004, *Use of whey ultrafiltrate as a substrate for production of carotenoids by the yeast Rhodotorula Rubra*, Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol. 112, No. 3, s. 133-141.
- Garcia-Gonzalez M., Moreno J., Manzano J.C., Florencio F.J., Guerrera M.G., 2005, *Production of Dunaliella salina biomass rich in 9-cis- $\beta$ -carotene and lutein in a closed tubular photobioreactor*, Journal of Biotechnology, Vol. 115, No. 1, s. 81-90.
- Hanusova V., 2011, *Regulácia biosyntézy a nadprodukcie mikrobiálnych pigmentov. Zadanie Dizertacnej Prace*, Rozprawa doktorska, Slovenská technická univerzita v Bratislave.
- Hanusova V., Carnecka M., Halienova A., Certik M., Breierova E., Marova I., 2008, *Physiological regulation of biotechnological production of carotenoids pigments*, Chemicke Listy, Vol. 102, s. 547-548.
- Latha B.V., Jeevaratnam K., Murali H.S., Manja K.S., 2005, *Influence of growth factors on carotenoid pigmentation of Rhodotorula glutinis DER-PDY from natural source*, Indian Journal of Biotechnology, Vol. 4, s. 353-357.
- Libkind D., Brizzio S., van Broock M., 2004, *Rhodotorula mucilaginosa, a Carotenoid Producing Yeast Strain from a Patagonian High-Altitude Lake*, Folia Microbiologica, Vol. 49, No. 1, s. 19-25.
- Libkind D., van Brook M., 2006, *Biomass and carotenoid pigment production by Patagonian native yeasts*, World Journal of Microbiology and Biotechnology, Vol. 22, s. 687-692.
- Mahmoud A.G.Y., Abo-Shady M.A., El-Sheekh M.M., Hamza W., 2014, *The role of some stress factors including hydrogen peroxide, methylen blue, sodium chloride and ultraviolet on Rhodotorula glutinis DBVPG # 4400 total carotenoids production*, International Journal of Biosciences, Vol. 4, No. 9, s. 10-19.
- Maldonado I.R., Rodriguez-Amaya D.B., Scamparini A.R.P., 2008, *Carotenoids of yeasts isolated from the Brazilian ecosystem*, Food Chemistry, Vol. 107, s. 145-150.
- Malisorn C., Suntornsuk W., 2008, *Optimization of  $\beta$ -carotene production by Rhodotorula glutinis DM28 in fermented radish brine*, Bioresource Technology, Vol. 99, No. 7, s. 2281-2287.
- Marova I., Carnecka M., Halienova A., Certik M., Dvorakova T., Haronikova A., 2012, *Use of several waste substrates for carotenoid-rich yeast biomass production*, Journal of Environmental Management, Vol. 95, s. 338-342.
- Moline M., Flores M.R., Libkind D., Diequez M. del C., Farias M.E., van Broock M., 2010, *Photoprotection by carotenoids pigments in the yeast Rhodotorula mucilaginosa: the role of torularhodin*, Photochemical and Photobiological Sciences, Vol. 8, s. 1145-1151.
- Nasrabadi M.R.N., Razavi S.H., 2011, *Optimization of  $\beta$ -carotene production by a mutant of the lactose-positive yeast Rhodotorula acheniorum from whey ultrafiltrate*, Food Science and Biotechnology, Vol. 20, No. 2, s. 445-454.
- Patino-Vera M., Jimenez B., Balderas K., Ortiz M., Allende R., Carrillo A., Galindo E., 2005, *Pilot-scale production and liquid formulation of Rhodotorula minuta, a potential biocontrol agent of mango anthracnose*, Journal of Applied Microbiology, Vol. 99, No. 3, s. 540-50.
- Saenge C., Cheirsilp B., Suksaroge T.T., Bourtoom T., 2011, *Potential use of oleaginous red yeast Rhodotorula glutinis for the bioconversion of crude glycerol from biodiesel plant to lipids and carotenoids*, Process Biochemistry, Vol. 46, s. 210-218.
- Simova E.D., Frengova G.I., Beshkova D.M., 2003, *Effect of aeration on the production of carotenoids pigments by Rhodotorula rubra-Lactobacillus casei Subsp.casei co-cultures in whey ultrafiltrate*, Zeitschrift für Naturforschung, Vol. 58c, s. 225-229.
- Sinisa P., Marova I., Haronikova A., Kostovova I., Breierova E., 2013, *Production of biomass, carotenoids and other metabolites by several red yeast strains cultivated on waste glycerol from biofuel production – a comparative screening study*, Annual Microbiology, Vol. 63, s. 1537-1551.
- Somashekar D., Joseph R., 2000, *Inverse relationship between carotenoid and lipid formation in Rhodotorula gracilis according to the C/N ratio of the growth medium*, World Journal of Microbiology Biotechnology, Vol. 16, s. 491-493.

- Stachowiak B., Czarnecki Z., 2007, *Effect of light on carotenoids yield in fed cultures of Phaffia rhodozyma CBS 5626*, Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, Vol. 57, No. 3A, s. 129-131.
- Tada M., Shiroishi M., 1982, *Mechanism of photoregulated carotenogenesis in Rhodotorula minuta. V. Photoinduction of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase*, Plant & Cell Physiology, Vol. 23, s. 615-621.
- Vijayalakshmi G.V., Vasudevan V., Divakar S., 1999, *Optimisation of growth parameters for the production of carotenoids by Rhodotorula gracilis*, Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung, Vol. 208, No. 2, s. 121-124.
- Zhang Z., Zhang X., Tan T., 2014, *Lipid and carotenoid production by Rhodotorula glutinis under irradiation/high temperature and dark/low-temperature cultivation*, Bioresource Technology, Vol. 157, s. 149-153.