

## Streszczenie

### Biosynteza tłuszczu oraz karotenoidów przez drożdże z rodzaju *Rhodotorula* w podłożach z ziemniaczaną wodą sokową i glicerolem

Celem pracy było określenie zdolności do biosyntezy wewnątrzkomórkowego tłuszczu oraz karotenoidów przez wybrane drożdże z rodzaju *Rhodotorula* w podłożach zawierających glicerol i odbiałczoną ziemniaczaną wodę sokową oraz ocena możliwości jednoczesnej biodegradacji tych dwóch odpadów. Pracę realizowano w pięciu powiązanych ze sobą etapach badawczych. Wyniki badań przeprowadzonych w ramach dwóch pierwszych etapów wykazały, że ziemniaczana woda sokowa i glicerol mogą być stosowane jako składniki podłoży hodowlanych dla drożdży *R. glutinis*, *R. mucilaginosa* oraz *R. gracilis*. Dodatek glicerolu do podłoży w ilości większej niż 10% istotnie spowalniał wzrost drożdży i z tego względu do kolejnego etapu wybrano następujące dawki glicerolu: 3, 5 oraz 10%. Największy plon biomasy drożdży *R. glutinis* oraz *R. mucilaginosa* (ok. 30 g<sub>s.s.</sub>·dm<sup>-3</sup>) uzyskano w podłożach z wodą sokową suplementowaną 5 lub 10% glicerolem, a dla drożdży *R. gracilis* (ok. 22 g<sub>s.s.</sub>·dm<sup>-3</sup>) w podłożach z 3 lub 5% dodatkiem tego związku. Hodowle drożdży prowadziły do istotnego zmniejszenia zanieczyszczenia odpadów wykorzystanych do przygotowania podłoży. Najwyższy stopień redukcji wskaźnika ChZT (ok. 80%) otrzymano po hodowlach w podłożu z 3% dodatkiem glicerolu. Badane drożdże z rodzaju *Rhodotorula* syntetyzowały tłuszcz, jednak ich zawartość nie przekroczyła 16 g·100 g<sub>s.s.</sub><sup>-1</sup>. Wśród kwasów tłuszczowych dominowały kwas oleinowy (do 66%), palmitynowy (do 18%), stearynowy (do 12%) oraz linolowy (do 17%). Drożdże hodowane w podłożach z wodą sokową z 3 lub 5% dodatkiem glicerolu, syntetyzowały karotenoidy, a ich zawartość w biomacie nie przekroczyła 230 μg·g<sub>s.s.</sub><sup>-1</sup>. Wśród karotenoidów zidentyfikowano β-karoten, torulen i torularodynę. W czwartym etapie badań podjęto próbę intensyfikacji biosyntezy lipidów i karotenoidów poprzez zastosowanie wybranych czynników stresogennych. Stwierdzono, że obniżenie temperatury do 20°C podczas hodowli drożdży w podłożu z wodą sokową i 3% dodatkiem glicerolu może wydajnie intensyfikować proces biosyntezy lipidów i karotenoidów, a także istotnie wpływać na profil kwasów tłuszczowych oraz barwników karotenoidowych. W tych warunkach najwięcej lipidów (21 g·100 g<sub>s.s.</sub><sup>-1</sup>) i karotenoidów (360 μg·g<sub>s.s.</sub><sup>-1</sup>) syntetyzowały drożdże *R. gracilis*. Z tego względu w ostatnim etapie badań prowadzono hodowle tych drożdży w bioreaktorze laboratoryjnym w temperaturze 20°C. Plon biomasy wynoszący ponad 20 g<sub>s.s.</sub>·dm<sup>-3</sup> uzyskano już po 72 godzinach. Zawartość tłuszczu w biomacie drożdży była najwyższa (ok. 19 g·100 g<sub>s.s.</sub><sup>-1</sup>) w trzeciej i czwartej dobie. Po 96 godzinach stwierdzono największy udział kwasu linolowego (ok. 28%). Biosynteza karotenoidów w komórkach drożdży hodowanych w bioreaktorze następowała do 120 godziny, jednak po uwzględnieniu plonu biomasy największą wartość objętościowej wydajności biosyntezy (6,24 mg·dm<sup>-3</sup>) stwierdzono w 96 godzinie hodowli. Po tym czasie udziały β-karotenu (ok. 47%) i torulenu (ok. 51%) były zbliżone, a torularodyna syntetyzowana była w znikomych ilościach (poniżej 1%). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że biomasa drożdży *R. gracilis* po hodowli w bioreaktorze może stanowić źródło tłuszczu mikrobiologicznego i karotenoidów, a stopień redukcji wskaźnika ChZT podłoża pochodzącego wskazuje, że zaproponowany sposób hodowli drożdży może przyczynić się do zmniejszenia szkodliwości dla środowiska tych odpadów poprodukcyjnych przemysłu biopaliw i krochmalniczego.

**Słowa kluczowe:** tłuszcz mikrobiologiczny, karotenoidy, drożdże, *Rhodotorula*, odpady rolno-spożywcze

## Summary

### The biosynthesis of lipids and carotenoids by yeast of the genus *Rhodotorula* in the media with potato wastewater and glycerol

The aim of the study was to determine the ability to biosynthesis of intracellular lipids and carotenoids by selected yeast of the genus *Rhodotorula* in media containing glycerol and deproteinated potato wastewater and to access the possibility of simultaneous biodegradation of these two wastes as well. This study was done in five interrelated stages of research. The results of the tests carried out in the first two stages showed that potato wastewater and glycerol can be used as components of culture media for *R. glutinis*, *R. mucilaginosa* and *R. gracilis* yeasts. Glycerol supplementation to media in an amount more than 10% significantly slowed the growth of yeast. For this reason, for the next stage the following doses of glycerol were chosen: 3, 5 and 10%. The biggest biomass yield of *R. glutinis* and *R. mucilaginosa* yeast (about 30 g<sub>d.w.</sub>·dm<sup>-3</sup>) was obtained in media with potato wastewater supplemented with 5 or 10% glycerol, and for *R. gracilis* yeast (about 22 g<sub>d.w.</sub>·dm<sup>-3</sup>) in media with 3 or 5% addition of this compound. During the cultivation of yeast, there was a significant reduction in the pollution of wastes used for the preparation of media. The highest reduction of COD (about 80%) was obtained after cultures in media with 3% glycerol. The tested yeast of the genus *Rhodotorula* synthesized lipids, however their content did not exceed 16 g·100 g<sub>d.w.</sub><sup>-1</sup>. Fatty acid fraction was dominated by oleic acid (up to 66%), palmitic (up to 18%), stearic (up to 12%) and linoleic (up to 17%). Yeasts grown in media with potato wastewater with 3 or 5% glycerol dose, synthesized carotenoids, and their content in biomass did not exceed 230 µg·g<sub>d.w.</sub><sup>-1</sup>. Beta-carotene, torulene and torularhodin were identified among the carotenoids. On the fourth stage of the research, an attempt was made to intensify the biosynthesis of lipids and carotenoids through the use of selected stress factors. It was found out that lowering the temperature to 20°C during yeast cultivation in a medium with potato wastewater and 3% glycerol addition could effectively intensify the lipids and carotenoid biosynthesis process, and have also significantly affects on the profile of fatty acids and carotenoid pigments. Under these conditions, the most lipids (21 g·100 g<sub>d.w.</sub><sup>-1</sup>) and carotenoids (360 µg·g<sub>d.w.</sub><sup>-1</sup>) were synthesized by yeast *R. gracilis*. Therefore, at the last stage of the research, cultivations of these yeasts were carried out in a laboratory bioreactor at 20°C. Biomass yield over 20 g<sub>d.w.</sub>·dm<sup>-3</sup> was obtained after 72 hours. The lipid content in the yeast biomass was the highest (about 19 g·100 g<sub>d.w.</sub><sup>-1</sup>) on the third and fourth days. After 96 hours, the biggest percentage of linoleic acid was determined (about 28%). The process of biosynthesis of carotenoids in yeast cells cultivated in the bioreactor took up to 120 hours, however, after taking into account the biomass yield the highest value of the volume biosynthesis yield (6.24 mg·dm<sup>-3</sup>) was found in 96 hours of cultivation. After that time, the percentages of β-carotene (about 47%) and torulene (about 51%) were similar, and torularhodin appeared to be insignificant in quantity (below than 1%). According to the following results, it was found that the yeast biomass of *R. gracilis* after cultivation in the bioreactor can be a source of microbial lipids and carotenoids, and level reduction of COD index of the culture medium indicates that the suggested cultivation method of yeast can contribute to reduction in harmful influence waste biofuels and starch on our environment.

**Key words:** microbial lipids, carotenoids, yeast, *Rhodotorula*, agri-food waste