فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال چهارم، شماره ۱۳، بهار ۱۳۹۴، صفحه ۳۵- ۴۲
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱۵ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۲۴

اثر روغن زیتون با خلوص متفاوت بر روی تولید لیپاز مخمر *یاروویا لیپولیتیکا*

فرشاد درویشی *: دانشیار میکروبیولوژی، دانشگاه مراغه، ایران، f.darvishi@ymail.com
برومند حسینی: دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه مراغه، ایران، brommandauthor@yahoo.com

چکیده

مقدمه: لیپازها دسته‌ای از هیدرولازها هستند که سبب تسریع هیدرولیز تری‌گلیسیریدها به گلیسرول و اسیدهای چرب آزاد می‌شوند. لیپازها به بخش جدایی‌ناپذیر از صنایع غذایی، شوینده‌ها، مواد آرایشی و دارویی مدرن تبدیل شده‌اند. هدف این پژوهش بررسی اثر روغن زیتون با خلوص متفاوت به عنوان سوبسترای ارزان قیمت بر تولید لیپاز توسط مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* است.

مواد و روش‌ها: یک درصد (حجمی/حجمی) روغن زیتون با سه خلوص تجاری مختلف فوق بکر، بکر و معمولی به عنوان سوبسترا برای تولید لیپاز با سویه وحشی *Y. lipolytica* DSM3286 و سویه جهش یافته *Y. lipolytica* FDY1390 استفاده شد.

نتایج: بیشینه فعالیت لیپازی پس از ۷۲ ساعت از تلقیح مشاهده شد. سویه وحشی *Y. lipolytica* DSM3286 لیپاز با ۵۶ واحد در میلی‌لیتر در محیط روغن زیتون بکر تولید کرد، اما سویه جهش یافته *Y. lipolytica* FDY1390 لیپاز با ۳۰۰ واحد در میلی‌لیتر در محیط روغن زیتون معمولی تولید کرد.

بحث و نتیجه‌گیری: سویه مخمر جهش یافته *Y. lipolytica* FDY1390 حدود ۵/۴ برابر لیپاز بیش از سویه وحشی بر روی محیط روغن زیتون معمولی تولید کرد. برخلاف سایر انواع گران قیمت روغن زیتون، روغن زیتون معمولی می‌تواند به عنوان یک روغن ارزان قیمت برای تولید و بهینه‌سازی لیپاز به کار رود.

واژه‌های کلیدی: لیپاز، روغن زیتون، خلوص، مخمر *یاروویا لیپولیتیکا*

* نویسنده مسؤول مکاتبات

مقدمه

لیپاز (تری آسیل گلیسرول آسیل هیدرولاز EC 3.1.1.3) سبب تسریع هیدرولیز تری‌گلیسیریدها به گلیسرول و اسیدهای چرب آزاد می‌شود (۱) . لیپاز طیف گسترده‌ای از واکنش‌های مختلف از جمله هیدرولیز، استریفیکاسیون درونی[1]، الکل لیز، اسیدولیز، استریفیکاسیون و آمینولیز را کاتالیز می‌کند (۲).

مخمر *Yarrowia lipolytica* جزو گروه مخمرهای غیر معمول است که از سه دهه گذشته این مخمرها از لحاظ پژوهش‌های بنیادی و بیوتکنولوژی مورد توجه قرار گرفتند. این مخمر برای انسان غیر بیماری‌زا و برای چند فرآیند صنعتی ایمن شناخته شده[2] است (۳). در سال ۱۹۴۸ ترشح لیپاز در *Y. lipolytica* گزارش شد، لیپاز در این مخمر به سه شکل درون سلولی، متصل به دیواره و خارج سلولی است که ژن LIP2 مسؤول تنظیم و تولید همه لیپازهای خارج سلولی است (۴ و ۵).

آنزیم لیپاز *Y. lipolytica* با ایجاد آرایش فضایی اختصاصی و دارا بودن فعالیت آنزیمی بالا برای آبکافت، ساخت و ترانس- استریفیکاسیون، دامنه وسیعی از استر و روغن‌ها به حساب می‌آید. به همین علت می‌توان از آن برای انجام تبدیل زیستی[3] مواد لیپیدی در صنایع دارویی، غذایی، چرم‌سازی و شوینده‌ها استفاده کرد (۲ و ۶). این آنزیم به خاطر پایداری بالا، عدم نیاز به کوفاکتور، فعالیت سنتزی در حلال‌های آلی و طیف گسترده سوبسترا می‌تواند برای تبدیل مخلوط راسمیک به ترکیبات دارویی تک انانتیومری به کار رود (۷ و ۸) .

با توجه به کاربردهای فراوان این آنزیم در صنایع مختلف، تخمیر و تولید ارزان قیمت این آنزیم از لحاظ بیوتکنولوژی مورد توجه بوده است. اسید چرب اولئیک یکی از عوامل مهم در القا و تولید لیپاز خارج سلولی مخمر *Y. lipolytica* است (۹). روغن زیتون سرشار از اسید اولئیک است ولی در پژوهش‌های پیش از این، از روغن زیتون فوق بکر که نسبت به دیگر انواع روغن‌های زیتون خالص و گران‌تر است استفاده شده است (۱۰ و ۱۱).

هدف از این پژوهش، بررسی اثر روغن زیتون با خلوص متفاوت بر رشد و تولید لیپاز توسط مخمر *یاررویا لیپولیتیکا* است تا بهترین و ارزان‌ترین نوع روغن زیتون به عنوان سوبسترا مشخص شود.

مواد و روش‌ها

سویه‌های میکروبی و شرایط نگهداری: در این پژوهش، از سویه وحشی *Y. lipolytica* DSM3286 خریداری شده از کلکسیون میکروبی DSMZ آلمان و سویه جهش یافته *Y. lipolytica* FDY1390 حاصل از جهش‌زایی UV سویه وحشی *Y. lipolytica* DSM3286 استفاده شد. از محیط کشت YPD حاوی ۲۰ گرم در لیتر گلوکز، ۲۰ گرم در لیتر پپتون و ۱۰ گرم در لیتر عصاره مخمر و همچنین، ۱۷ گرم در لیتر آگار برای کشت در دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. سویه‌های مخمر پس از رشد، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۲).

آماده‌سازی مایع تلقیح: ابتدا سویه‌ها بر روی محیط YPD کشت داده شدند. پس از انکوبه کردن در دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، یک کلونی به ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط YPD مایع و فاقد آگار به عنوان مایع تلقیح انتقال داده شد. سپس، ارلن در انکوباتور شیکردار با دمای ۲۹ درجه‌سانتی‌گراد با سرعت چرخش ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۸ ساعت انکوبه شد (۱۳).

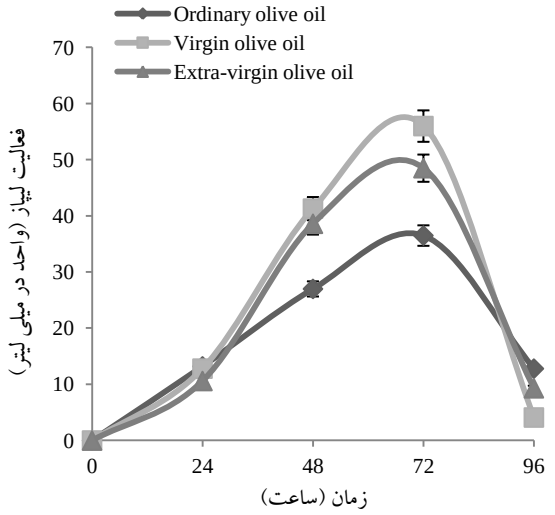
تهیه محیط‌های روغن‌دار برای تولید لیپاز: در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری، ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت تولید حاوی ۱۰ گرم در لیتر از عصاره مخمر، ۱۰ گرم در لیتر تریپتون و ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر از روغن زیتون با درجه خلوص متفاوت از سه نوع روغن زیتون معمولی[۴]، بکر[۵] و فوق بکر[۶] تهیه و اتوکلاو شد.

به سه محیط یاد شده یک درصد (حجمی/حجمی) مایع تلقیح از دو سویه مخمر در شرایط استریل اضافه شد. بلافاصله پس از تلقیح، ارلن‌ها به خوبی هم‌زده شده و برای شمارش مخمرها از آن‌ها نمونه‌برداری شد. سپس، ارلن‌ها به منظور انکوبه کردن به انکوباتور شیکردار با دمای ۲۹ درجه‌سانتی‌گراد و با سرعت چرخش ۲۰۰ دور در دقیقه منتقل شد. در ادامه هر ۲۴ ساعت از ارلن‌ها در شرایط استریل نمونه‌برداری و رشد مخمرها و فعالیت لیپاز بررسی شد.

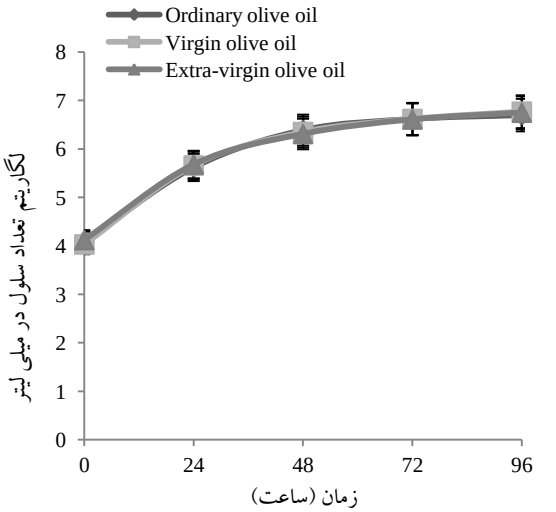
اندازگیری رشد و فعالیت آنزیمی: برای بررسی رشد و شمارش تعداد سلول‌های مخمر از لام نئوبار استفاده شد. روش تیتراسیون برای سنجش فعالیت لیپاز به کار رفت. پس از هر بار نمونه‌برداری، نمونه‌ها با سرعت چرخش ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳ دقیقه سانتریفوژ شدند و از محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی به طور مستقیم و یا رقیق شده به ۵ میلی‌لیتر از سوبسترای سنجش فعالیت لیپاز (مخلوطی از روغن زیتون با هیدروکسید سدیم یک دهم مولار و پلی وینیل الکل دو درصد) به همراه ۴ میلی‌لیتر بافر فسفات یک دهم مولار با اسیدیته حدود ۷ اضافه شد. برای نمونه شاهد یک میلی‌لیتر بافر فسفات به جای محلول رویی استفاده شد. سپس، به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری شیکردار با دمای ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از این مرحله برای متوقف کردن واکنش، ۵ میلی‌لیتر از محلول متوقف کننده (ترکیبی از الکل و استون به نسبت یک به یک حجمی/ حجمی) اضافه شد. در ادامه ۳ تا ۵ قطره از محلول فنل فتالئین دو درصد افزوده شد و با محلول هیدروکسید سدیم ۵۰ میلی‌مولار تیتر شد. فعالیت لیپاز به شکل واحد در میلی‌لیتر گزارش می‌شود که یک واحد فعالیت آنزیمی، معادل مقدار آنزیمی است که یک میکرومول اسید چرب را در یک دقیقه تحت شرایط سنجش، آزاد سازد (۱۴). همه آزمایش‌ها حداقل با سه تکرار انجام شد.

نتایج

روند رشد سویه‌های مخمر در محیط‌های کشت روغن‌دار و میزان تولید لیپاز با فواصل زمانی ۲۴ ساعته اندازه‌گیری شد. نتایج مربوط به تولید لیپاز و میزان رشد سویه وحشی *Y. lipolytica* DSM3286 در محیط‌های مختلف حاوی روغن زیتون با سه خلوص تجاری متفاوت فوق بکر، بکر و معمولی به ترتیب در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.



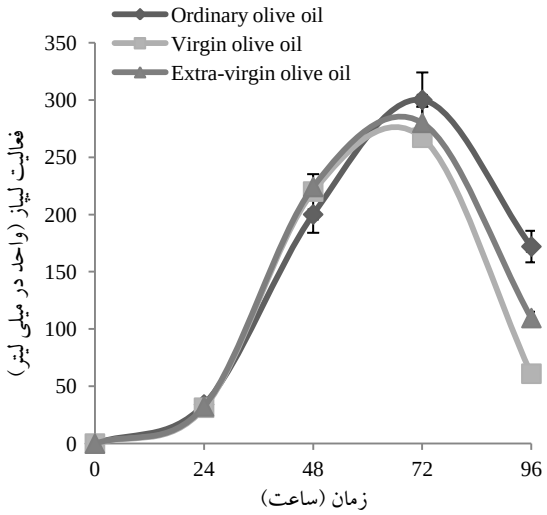
شکل ۱- تولید لیپاز توسط سویه وحشی *Y. lipolytica* DSM3286 در محیط‌های مختلف حاوی روغن زیتون با سه خلوص تجاری متفاوت فوق بکر، بکر و معمولی



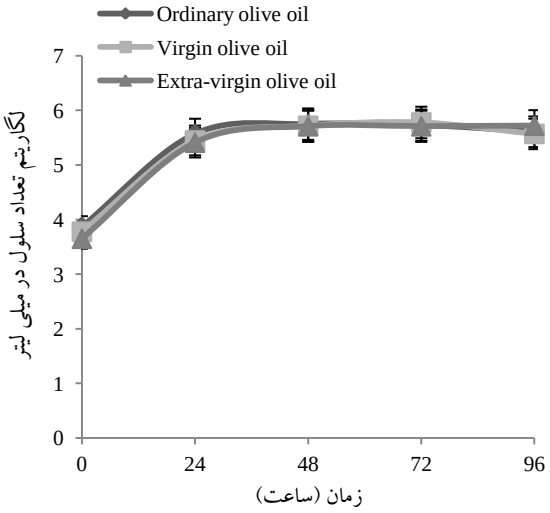
شکل ۲- میزان رشد سویه وحشی *Y. lipolytica* DSM3286 در محیط‌های مختلف حاوی روغن زیتون با سه خلوص تجاری متفاوت فوق بکر، بکر و معمولی

سویه وحشی *Y. lipolytica* DSM3286 پس از ۷۲ ساعت بیش‌ترین میزان تولید لیپاز به مقدار ۵۶ واحد در میلی‌لیتر را در روغن زیتون بکر داشت. بعد از روغن بکر، این سویه بهترین تولید آنزیم را به ترتیب بر روی روغن‌های زیتون فوق بکر و معمولی دارد. سویه وحشی در خلوص متفاوت روغن زیتون رشد مشابهی داشت.

همچنین، در شکل‌های ۳ و ۴ به ترتیب نتایج مربوط به تولید لیپاز و میزان رشد سویه جهش یافته *Y. lipolytica* FDY1390 در محیط‌های مختلف حاوی روغن زیتون با سه خلوص تجاری متفاوت فوق بکر، بکر و معمولی نشان داده شده است.



شکل ۳- تولید لیپاز توسط سویه جهش یافته *Y. lipolytica* FDY1390 در محیط‌های مختلف حاوی روغن زیتون با سه خلوص تجاری متفاوت فوق بکر، بکر و معمولی



شکل ۴- میزان رشد سویه جهش یافته *Y. lipolytica* FDY1390 در محیط‌های مختلف حاوی روغن زیتون با سه خلوص تجاری متفاوت فوق بکر، بکر و معمولی

مشابه سویه وحشی، سویه جهش یافته *Y. lipolytica* FDY1390 پس از ۷۲ ساعت بیش‌ترین میزان تولید لیپاز را دارد و همچنین، در خلوص متفاوت روغن زیتون تقریبا رشد مشابهی نشان می‌دهد. بیش‌ترین میزان تولید سویه جهش یافته به مقدار ۳۰۰ واحد در میلی‌لیتر در روغن زیتون معمولی بود. پس از روغن معمولی این سویه در زمان اوج تولید، مقدار کمابیش مشابهی از تولید آنزیم را بر روی روغن‌های زیتون فوق بکر و بکر نشان داد.

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود نتایج حاصل از فعالیت و تولید آنزیم لیپاز توسط سویه‌های مخمر در محیط‌های مختلف حاوی روغن زیتون با خلوص متفاوت تجزیه و تحلیل شد. از جمله این تجزیه و تحلیل‌ها می‌توان به محاسبه بهره‌وری تولید لیپاز (P_L) برحسب واحد آنزیمی در زمان تخمیر (U/h)، نرخ رشد ویژه (μ) بر حسب یک بر ساعت (h^{-1})، زمان نسل یا تولید مثل (t_d) بر حسب ساعت (h) اشاره کرد.

جدول ۱- محاسبه شاخص‌های رشد و تولید لیپاز سویه‌های مخمر در محیط‌های مختلف حاوی روغن زیتون با خلوص متفاوت در زمان اوج تولید (۷۲ ساعت پس از تلقیح)

سویه مخمر	نوع روغن زیتون	بهروری تولید لیپاز (P_L)	نرخ رشد ویژه (μ)	زمان نسل (t_d)
Y. lipolytica DSM3286	معمولی	۰/۵۱	۰/۲۶	۲/۶۷
	بکر	۰/۷۸	۰/۲۸	۲/۴۸
	فوق بکر	۰/۶۷	۰/۲۷	۲/۵۷
Y. lipolytica FDY1390	معمولی	۵/۳۹	۰/۲۸	۲/۴۸
	بکر	۴/۹۳	۰/۲۴	۲/۸۹
	فوق بکر	۵/۲۴	۰/۲۵	۲/۷۷

بهره وری تولید لیپاز (P_L)**:** میزان فعالیت لیپاز بر زمان تخمیر است و بر حسب واحد بر ساعت (U/h) گزارش می‌شود.

نرخ رشد ویژه (μ): میزان رشد حداکثر که سلول‌های بیش‌ترین میزان تقسیم و دو برابر شدن را دارند و بر حسب یک بر ساعت (h^{-1}) گزارش می‌شود.

زمان نسل (t_d)**:** مدت زمان مورد نیاز برای دو برابر شدن غلظت توده زیستی است و بر حسب ساعت (h) گزارش می‌شود.

بحث و نتیجه‌گیری

تولید لیپازهای میکروبی تا حد زیادی تحت تاثیر ترکیب محیط و عوامل فیزیکی- شیمیایی مانند دما، اسیدیته و اکسیژن محلول قرار دارد. منبع کربن از مهم‌ترین عوامل مؤثر در بیان و تولید لیپاز است. لیپاز از آنزیم‌های القایی است که به طور معمول در حضور ترکیبات لیپیدی مانند روغن و تری‌گلیسیریدها القا و تولید می‌شود. در نتیجه، انتخاب منبع کربن مناسب برای به دست آوردن بازده بالا در تولید لیپاز ضروری است (۱۵ و ۱۶).

با توجه به کاربردهای فراوان لیپاز خارج سلولی مخمر *Y. lipolytica* در صنایع مختلف، تخمیر و تولید ارزان قیمت، این آنزیم از لحاظ بیوتکنولوژی مورد توجه بوده است (۹ و ۱۷). در پژوهش‌های قبلی منابع کربن متنوعی برای تولید لیپاز در این مخمر استفاده شده است (۱۸ و ۱۹). اسید چرب اولیئک یکی از عوامل مهم در القا و تولید لیپاز خارج سلولی مخمر *Y. lipolytica* است (۲۰).

در این پژوهش، روغن زیتون با سه خلوص تجاری مختلف فوق بکر، بکر و معمولی به عنوان سوبسترا برای تولید لیپاز با سویه وحشی *Y. lipolytica* DSM3286 و سویه جهش یافته *Y. lipolytica* FDY1390 استفاده شد. سویه وحشی بیش‌ترین میزان تولید لیپاز به مقدار ۵۶ واحد در میلی‌لیتر در روغن زیتون بکر با بهروری تولید ۰/۷۸داشت. اما بیش‌ترین میزان تولید لیپاز سویه جهش یافته به مقدار ۳۰۰ واحد در میلی‌لیتر در روغن زیتون معمولی با بهروری تولید ۵/۳۹ بود. در نتیجه سویه مخمر جهش یافته حدود ۵/۴ برابر لیپاز بیش از سویه وحشی بر روی محیط روغن زیتون معمولی تولید کرد. جالب است که نرخ رشد ویژه و زمان تقسیم سلول‌های مخمر وحشی و جهش یافته در محیط روغن زیتونی که بیش‌ترین تولید را در آن داشتند یکسان بود.

روغن زیتون سرشار از اسید اولئیک است ولی در پژوهش‌های قبلی به طور معمول از روغن زیتون فوق بکر که نسبت به دیگر انواع روغن‌های زیتون خالص‌تر و گران‌تر است استفاده شده است (۱۰ و ۱۱). نتایج این پژوهش نشان داد به جای استفاده از انواع گران روغن زیتون، می‌توان از روغن زیتون معمولی به عنوان یک روغن ارزان قیمت برای تولید لیپاز در مخمر یارروویا استفاده کرد و بر اساس این نوع روغن زیتون، فرآیند تولید لیپاز را بهینه‌سازی کرد.

تشکر و قدردانی

از مرکز رشد واحدهای فناور مراغه وابسته به پارک علم و فناوری استان آذربایجان شرقی و ستاد توسعه زیست فناوری برای حمایت‌های مادی و معنوی تشکر و قدردانی می‌شود.

References

(1) Gupta N., Sahai V., Gupta R. Alkaline lipase from a novel strain Burkholderia multivorans: Statistical medium optimization and production in a bioreactor. *Process Biochemistry* 2007; 42 (4):518- 26.

(2) Vakhlu J., Kour A. Yeast lipases: enzyme purification, biochemical properties and gene cloning. *Electronic Journal of Biotechnology* 2006;9 (1):69- 85.

(3) Casaregola S., Neuveglise C., Lepingle A., Bon E., Feynerol C., Artiguenave F., et al. Genomic Exploration of the Hemiascomycetous Yeasts: 17. *Yarrowia lipolytica*. *FEBS Letters* 2000; 487 (1): 95- 100.

(4) Pereira-Meirelles FV., Rocha-Leao MHM., Sant' Anna GL. Lipase location in *Yarrowia lipolytica* cells. *Biotechnology Letters* 2000; 22 (1): 71- 5.

(5) Yu MR., Qin SW., Tan TW. Purification and characterization of the extracellular lipase Lip2 from *Yarrowia lipolytica*. *Process Biochemistry* 2007;42 (3): 384- 91.

(6) Barth G., Gaillardin C. Physiology and genetics of the dimorphic fungus *Yarrowia lipolytica*. *FEMS Microbiology Reviews* 1997; 19 (4): 219- 37.

(7) Guieysse D., Sandoval G., Faure L., Nicaud J-M., Monsan P., Marty A. New efficient lipase from *Yarrowia lipolytica* for the resolution of 2-bromo-arylacetic acid esters. *Tetrahedron: Asymmetry* 2004; 15 (22): 3539- 43.

(8) Yu MR., Lange S., Richter S., Tan TW., Schmid RD. High-level expression of extracellular lipase Lip2 from *Yarrowia lipolytica* in *Pichia pastoris* and its purification and characterization. *Protein Expression and Purification* 2007; 53 (2): 255- 63.

(9) Fickers P., Marty A., Nicaud JM. The lipases from *Yarrowia lipolytica*: Genetics, production, regulation, biochemical characterization and biotechnological applications. *Biotechnology Advances* 2011; 29 (6): 632- 44.

(10) Ciafardini G., Zullo BA., Iride A. Lipase production by yeasts from extra virgin olive oil. *Food Microbiology* 2006; 23: 60- 7.

(11) Darvishi F., Nahvi I., Zarkesh-Esfahani H., Momenbeik F. Effect of Plant Oils upon Lipase and Citric Acid Production in *Yarrowia lipolytica* Yeast. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2009; 562943: 1- 7.

(12) Amaral PFF., de Almeida APR., Peixoto T., Rocha-Leao MHM., Coutinho JAP., Coelho MAZ. Beneficial effects of enhanced aeration using perfluorodecalin in *Yarrowia lipolytica* cultures for lipase production. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 2007; 23 (3): 339- 44.

(13) Mafakher L., Mirbagheri M., Darvishi F., Nahvi I., Zarkesh-Esfahani H., Emtiazi G. Isolation of lipase and citric acid producing yeasts from agro-industrial wastewater. *New Biotechnology* 2010; 27 (4): 337- 40.

(14) Darvishi F., Destain J., Nahvi I., Thonart P., Zarkesh-Esfahani H. High-level production of extracellular lipase by *Yarrowia lipolytica* mutants from methyl oleate. *New Biotechnology* 2011; 28 (6): 756- 60.

(15) Sharma R., Chisti Y., Banerjee UC. Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances* 2001; 19 (8): 27- 62.

(16) Gupta R., Gupta N., Rathi P. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2004; 64 (6): 763- 81.

(17) Fickers P., Nicaud J-M. Biotechnological Applications of *Yarrowia lipolytica* Lipases: An Overview. In: Barth G., editor. *Yarrowia lipolytica*. *Microbiology Monographs*. Berlin Heidelberg: Springer, 2013.

(18) Corzo G., Revah S. Production and characteristics of the lipase from *Yarrowia lipolytica* 681. *Bioresource Technology* 1999; 70 (2): 173- 80.

(19) Papanikolaou S., Chevalot I., Galiotou-Panayotou M., Komaitis M., Marc I., Aggelis G. Industrial derivative of tallow: a promising renewable substrate for microbial lipid, single-cell protein and lipase production by *Yarrowia lipolytica*. *Electronic Journal of Biotechnology* 2007; 10 (3): 425- 35.

(20) Barth G., Gaillardin C. *Yarrowia lipolytica*. *Nonconventional Yeasts in Biotechnology*. Berlin Heidelberg: Springer, 1996.

---

[1]- interesterification
[2]- generally recognized as safe (GRAS)
[3]- biotransformation
[4]- Ordinary olive oil
[5]- Virgin olive oil
[6]- Extra-virgin olive oil

Effect of olive oil with different purity grades on *Yarrowia lipolytica* lipase production

Farshad Darvishi *
Associate Professor of Microbiology, University of Maragheh, Iran, f.darvishi@ymail.com
Barumand Hosseini
M.Sc. of Microbial Biotechnology, University of Maragheh, Iran, brommandauthor@yahoo.com

Abstract

Introduction: Lipases are a class of hydrolases which catalyze the hydrolysis of triglycerides to glycerol and free fatty acids. Lipases have become an integral part of the modern food, detergents, cosmetics and pharmaceutical industries. The aim of this study was investigation of the effect of olive oil with different commercial purity as a substrate on lipase production by *Yarrowia lipolytica*.

Materials and methods: One percentage of olive oil with three different commercial grades Extra-virgin, Virgin and Ordinary was used as cheap substrate to produce lipase by wild-type strain *Y. lipolytica* DSM3286 and mutant strain *Y. lipolytica* FDY139.

Results: Maximum lipase activity was observed 72 hours after inoculation. The wild-type strain *Y. lipolytica* DSM3286 produced lipase with 56 U/ml activity on Virgin olive oil, but mutant strain *Y. lipolytica* FDY1390 produced lipase with 300 U/ml activity on Ordinary olive oil.

Discussion and conclusion: The *Y. lipolytica* FDY1390 produced lipase about 5.4-fold higher than the wild-type strain on Ordinary olive oil. Whereas other expensive type of olive oil, Ordinary olive oil is a cheap oil which could be used to lipase production and optimization.

Key words: Lipase, Olive oil, Purity, *Yarrowia lipolytica*

* Corresponding author
Received: January 5, 2014/ **Accepted:** March 15, 2014