فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال چهارم، شماره ۱۳، بهار ۱۳۹۴، صفحه ۱۱- ۲۴
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۲۳ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۲/۳۱

بررسی آثار بازدارندگی ترکیبات فورفورال و هیدروکسی متیل فورال در طی فرآیند تخمیر بر روی رشد و بازده اتانول تولیدی توسط مخمر *ساکارومایسس سرویسیه*

مسعود حاتمی‌منش: دانشجوی کارشناسی ارشد محیط زیست، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران، hatamim69@yahoo.com
حبیب الله یونسی *: دانشیار محیط زیست، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران، hunesi@modares.ac.ir
نادر بهرامی فر: استادیار محیط زیست دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران، n.bahramifar@modares.ac.ir

چکیده

مقدمه: استفاده از فرآیند هیدرولیز به منظور آزادسازی قندهای قابل احیا برای تولید اتانول از مواد پلی‌ساکاریدی، به‌ویژه در فرآیند هیدرولیز اسیدی باعث تولید ترکیبات بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌ها مانند فورفورال و هیدروکسی متیل فورال می‌شود. وجود این ترکیبات در محیط کشت علاوه بر کاهش رشد میکروارگانیسم وکاهش گلوکز مصرفی موجب کاهش بازده اتانول تولیدی نیز می‌شود. به همین علت مطالعه حاضر تلاش در بررسی اثر این ترکیبات بر روی رشد مخمر*ساکارومایسس سرویسیه* دارد.

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی آثار بازدارنده دو ترکیب فورفورال وهیدروکسی متیل فورال بر روی رشد مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* و بازده اتانول تولیدی توسط آن، ۴ سری آزمایش با غلظت‌های صفر یا شاهد، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم بر لیتر از هر ترکیب تهیه شد و آثار بازدارندگی آن‌ها بر روی رشد مخمر و بازده اتانول تولیدی توسط آن در مدت زمان ۳۶ ساعت مطالعه شد.

نتایج: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت دو ترکیب فورفورال و هیدروکسی متیل فورال میزان بازدارندگی هر دو ترکیب افزایش می‌یابد به طوری که بیش‌ترین بازده اتانول تولیدی برای هر دو ترکیب فورفورال و برای هیدروکسی متیل فورال در نمونه شاهد و غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر به‌دست آمد. همچنین، نتایج نشان داد که ترکیب فورفورال به مراتب تأثیر بازدارندگی بیشتری نسبت به هیدروکسی متیل فورال بر روی رشد مخمر ومتابولیسم آن دارد.

بحث و نتیجه‌گیری: به طور کلی کاهش میزان گلوکز مصرفی با افزایش غلظت این ترکیبات گویای آثار منفی این دو ترکیب بر روی رشد و متابولسیم مخمر و در نتیجه کاهش بازده اتانول تولیدی است.

واژه‌های کلیدی: اتانول، بیومس سلولی، فورفورال، مخمر *ساکارومایسس سرویسیه*، هیدروکسی متیل فورال

* نویسنده مسؤول مکاتبات، hunesi@yahoo.com

مقدمه

با توجه به کاهش منابع سوخت‌های فسیلی و آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از انتشار گازهای دی اکسیدکرین، دی اکسیدگوگرد و اکسیدهای نیتروژن نیاز به انرژی‌های تجدید پذیر، مناسب، غیر سمی و ارزان قیمت که آلودگی کمتری نسبت سوخت‌های فسیلی داشته باشند احساس می‌شود (۱). استفاده از سوخت‌های زیستی به عنوان جایگزین سوخت‌های فسیلی به علت وجود اکسیژن در ساختار شیمیایی آن‌ها سبب بالا رفتن عدد اکتان سوخت و در نتیجه بهبود احتراق سوخت، کاهش انتشار مونواکسید کربن، مواد آلی فرار و هیدروکربن‌های اشباع که در واقع یکی از مهم‌ترین مشکلات استفاده از سوخت‌های فسیلی است، می‌شود (۲).

در میان سوخت‌های زیستی مختلف، اتانول به دلایلی همچون، سادگی تولید، وجود انواع میکروارگانیسم‌های مختلف و مواد فراوان و ارزان قیمت برای تولید آن، بیش‌ترین توجه را در سراسر جهان به خود جلب کرده است به‌طوری که در چند دهه اخیر بالای ۹۰ درصد از سوخت‌های زیستی مصرفی جهان را به خود اختصاص داده است (۳) . به طوری که می‌تواند به عنوان یک سوخت سازگار با محیط زیست که آلودگی کمتری نسبت به سوخت‌های فسیلی دارد، به شکل خالص به عنوان سوخت یا در ترکیب با بنزین به عنوان حامل اکسیژن به‌کار گرفته شود و محتوی اکسیژن آن را افزایش دهد. همچنین، سبب اکسیداسیون بهتر هیدروکربن‌ها و در نتیجه کاهش میزان آلودگی ناشی از آن‌ها شود (۴).

امروزه در کشورهای مختلف به طور وسیعی از فرآیند تخمیر برای تولید اتانول ازمنابع مختلف قندی، نشاسته‌ای، سلولزی، لیگنوسلولزی و جلبک‌ها استفاده می‌شود (۵). تخمیر اتانول یک فرآیند زیستی است که طی آن مواد آلی توسط میکروارگانیسم‌ها به ترکیبات ساده‌تر مانند قندها تبدیل می‌شوند. سپس، قندهای تولید شده طی فرآیند تخمیر به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها به اتانول ودی اکسیدکربن تبدیل می‌شوند. به طور کلی در طول فرآیند تخمیر اتانول، دوگروه ازمیکروارگانیسم‌ها دخالت دارند گروه اول میکروارگانیسم‌هایی هستند که سوبستراهای تخمیرپذیر را به اتانول تبدیل می‌کنند و گروه دوم شامل میکروارگانیسم‌های تولیدکننده آنزیم‌های کاتالیزکننده (مثل آنزیم آمیلاز وگلیکو آمیلاز) هستند که در واقع واکنش شیمیایی تجزیه سوبسترا به ترکیبات ساده‌تر مانند گلوکز را کاتالیز می‌کنند (۶). در اصل تولید اتانول از مواد نشاسته‌ای مانند نشاسته گندم یا برنج یک فرایند دو مرحله‌ای است، مرحله اول فرایند ساکاریفیکاسیون (هیدرولیز) نام دارد که درطی آن نشاسته به کمک آنزیم یا اسید به قندهای ساده‌تر مانند گلوکز تبدیل می‌شود. در مرحله دوم قندهای حاصل از فرآیند ساکاریفیکاسیون توسط میگروارگانیسم‌های مناسب به اتانول تبدیل می‌شوند (فرآیند تخمیر) (۷ و ۸).

یکی از مهم‌ترین مسایل مربوط به تولید اتانول از مواد مختلف نشاسته‌ای، سلولزی و دیگر مواد پلی‌ساکاریدی در هنگام هیدرولیز این مواد، تشکیل مواد بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌ها از قبیل اسیدهای ضعیف، مشتقات فوران، ترکیبات فنله و هیدروکسی متیل فورال[1]، به‌ویژه در هنگام هیدرولیز اسیدی این مواد است. در زمان هیدرولیز ترکیبات پلی‌ساکاریدی شامل نشاسته، سلولز و همی سلولز این مواد در ابتدا به قندهای ساده ۵ کربنه و ۶ کربنه تبدیل می‌شوند و سپس، در

مرحله دوم این ترکیبات به شکل‌های دیگری همچون فورفورال[۲] وهیدروکسی متیل فورال تبدیل می‌شوند که برای میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه مخمرها سمی و مضر هستند. وجود این ترکیبات در محیط کشت مانع رشد و متابولیسم میکروارگانیسم‌ها شده و درنتیجه آن میزان اتانول تولیدی توسط میکروارگانیسم تخمیرکننده هم کاهش می‌یابد. بر این اساس پژوهشگران زیادی به بررسی آثار این ترکیبات بر روند رشد، متابولسیم، میزان گلوکز مصرفی واتانول تولیدی در هنگام تخمیر اتانول پرداختند. لارسون و همکاران[۳] به بررسی تأثیر شدت هیدرولیز اسیدی چوب صنوبر با استفاده از سولفوریک اسید رقیق بر روی میزان قند مصرفی و تخمیر مخمر ساکارومایسس‌سرویسیه و ترکیبات بازدارنده مانند هیدروکسی متیل فورال پرداختند (۹). مودیج[۴]، به بررسی اثرفورفورال و هیدروکسی متیل فورال بر روی رشد وفعالیت آنزیم‌های پیروات دی‌هیدروژناز[۵]، الکل دی‌هیدروژناز[۶] و آلدئید دی هیدروژناز[۷]توسط مخمر *ساکارومایسس‌سرویسیه* پرداخت. نتایج پژوهش وی نشان داد که فورفورال تأثیر شدیدی بر روی دوآنزیم آلدئید دی هیدروژناز و پیروات دی‌هیدروژناز دارد اما بر روی الکل دی‌هیدروژناز تأثیری شبیه به ترکیب فورفورال به ترکیب فورفورال داشت (۱۰). بر این اساس با توجه به تأثیر مهم این ترکیبات بر رشد و تولید اتانول، مطالعه حاضر به بررسی تأثیر ترکیبات فورفورال و هیدروکسی متیل فورال بر رشد و تولید اتانول توسط مخمر ساکارومایسس سرویسیه می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

مخمر و محیط کشت: در این بررسی از مخمر *ساکارومایسس سرویسیه ITCC* برای تولید اتانول استفاده شد که از وزارت علوم و تحقیقات فناوری، سازمان پژوهشی، علمی و صنعتی ایران (مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی) به شکل یخ خشک تهیه شد و سپس، در محیط کشت استریل شد.

شرایط انجام آزمایش: بعد از آماده شدن محیط کشت تکثیر مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* حاوی ترکیبات گلوکز ۱۵، عصاره مخمر ۱، دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات ۱۰، پتاسم دی هیدروژن فسفات ۵، منیزیم سولفات ۲/۵، آمونیوم سولفات ۹ (گرم بر لیتر)، محیط کشت آماده شده در اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه استریل شد. پس از استریل شدن محیط کشت و سرد شدن در دمای محیط در شرایط کاملا استریل و در نزدیک شعله عمل تلقیح مخمر به نسبت ۳ درصد محیط کشت انجام شد (۱۱). پس انجام عمل تلقیح محیط کشت حاوی مخمر در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و اسیدیته برابر ۴/۵ در شرایط ساکن تا مرحله نمایی رشد مخمر و تزریق به محیط کشت نگهداری شد. همچنین، تنظیم اسیدیته با سولفوریک اسید ۱مولار و سود (سدیم هیدورکسید) ۱ مولار تهیه شده از شرکت تجاری مرک[۸] انجام شد. در هر آزمایش ۲۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت در ارلن‌های با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر تهیه شد. از زمان صفر تا ۳۶ ساعت، هر ۴ ساعت ۳ نمونه از محیط کشت برای اندازه گیری قند مصرفی، اتانول تولیدی و غلظت بیومس گرفته شد. برای تعیین اثر ترکیبات فورفورال وهیدروکسی متیل فورال بر رشد مخمر، روند گلوکز مصرفی و میزان اتانول تولیدی توسط آن، ۴

سری آزمایش و با غلظت‌های صفر یا شاهد، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم بر لیتر از محیط کشت مناسب رشد مخمر برای هر ترکیب به طور جداگانه تهیه شد. برای مطالعه تأثیر غلظت این ترکیبات بر روی رشد این میکروارگانیسم و مصرف قند، اتانول تولیدی هر آزمایش ۳ بار تکرار و میانگین آن گزارش شد. همچنین، برای بررسی رفتار اتانول تولیدی و رشد سلولی مخمر در طی فرآیند تخمیر به ترتیب از مدل سنتیکی رشد بیومس سلولی، تولید اتانول و گلوکز مصرفی استفاده شد (معادله ۱، ۲ و ۳).

$$X = \frac{x_0 e^{\mu_m t}}{1-\left({}^{x_0}/_{x_m}\right)\left(1-e^{\mu_m t}\right)} \quad (۱)$$

در معادله ۱ (مدل سنتیکی رشد سلولی)، زمان تخمیر بر حسب ساعت، X میزان وزن خشک سلولی در حال رشد بر حسب گرم بر لیتر، x_0 غلظت اولیه وزن خشک سلولی بر حسب گرم بر لیتر، x_m بیش‌ترین مقدار وزن خشک سلولی بر حسب گرم بر لیتر، μ_m بیش‌ترین شدت ویژه بر حسب (ساعت/۱) است.

$$p = \frac{P_0 e^{Prt}}{1-\left({}^{P_0}/_{P_m}\right)\left(1-e^{Prt}\right)} \quad (۲)$$

در این رابطه t زمان تخمیر بر حسب ساعت، P غلظت اتانول تولیدی بر حسب گرم بر لیتر، P_m بیش‌ترین مقدار اتانول تولیدی برحسب گرم بر لیتر، P_r شدت ویژه تولید اتانول بر حسب (ساعت/۱) و P_0 غلظت اولیه اتانول تولیدی بر حسب گرم بر لیتر است.

$$S = S_0 - \frac{1}{Y_{P/S}}\left(P - P_0\right) - \frac{1}{Y_{X/S}}\left(x - X_0\right) \quad (۳)$$

در معادله ۳ (معادله سنتیکی مصرف گلوکز) $Y_{P/S}$ و $Y_{X/S}$ به ترتیب بازده محصول تولیدی برای اتانول و زیست توده بر حسب گرم، اتانول بر گرم گلوکز مصرفی و گرم وزن خشک سلولی بر گلوکز مصرفی، P و P_0 به ترتیب میزان اتانول تولیدی نهایی و اولیه بر حسب گرم بر لیتر، x و x_0 غلظت نهایی و اولیه زیست توده بر حسب گرم بر لیتر و در نهایت، S_0 غلظت اولیه قند کل بر حسب گرم بر لیتر است.

روش‌های تحلیل

اندازه گیری قند، اتانول تولیدی و غلظت بیومس: در این بررسی برای تعیین تراکم سلولی یکی از نمونه‌های گرفته شده ۳ برابر رقیق و میزان جذب آن در طول موج ۶۲۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر تعیین شد. سپس وزن خشک سلولی با استفاده از نمودار کالیبراسیون (میزان جذب به‌دست آمده در ۶۲۰ نانومتر در مقابل وزن خشک سلولی) به دست آمد. همچنین، در این مطالعه به منظور رسم محنی کالیبراسیون وزن خشک سلولی، ابتدا محیط کشت تهیه شده در بالا تا مرحله رسیدن به فاز رشد نمایی، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و اسیدیته برابر ۴/۵ نگهداری شد. سپس حجم‌های مختلف ۱ تا ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت در ۱۰ سری لوله آزمایش ریخته و میزان جذب آن‌ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (از آب مقطر به عنوان شاهد استفاده شد). پس از آن تعداد ۱۰ عدد فیلتر سرسرنگی با اندازه منافذ ۰/۲۳میکرومتر به مدت ۱۶ ساعت در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک و پس از سردسازی در دسیکاتور و رسیدن به دمای محیط، توزین شد. سپس، ۱۰ میلی‌لیتر از هر یک از محلول‌های مخمر رشد داده شده با غلظت‌های مختلف توسط این فیلترهای از قبل وزن شده، صاف و دوباره به مدت ۱۶ ساعت در داخل آون در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. وزن ثانویه آن‌ها پس از خشک شدن دوباره اندازه‌گیری شد. با تفاضل وزن ثانویه از وزن اولیه فیلترها وزن خشک سلولی در غلظت‌های مختلف محیط کشت به‌دست آمد. برای

تعیین غلظت قند احیا کننده از روش دی نیترو سالسیلیک اسید[۹] (۱۲) و همچنین، برای اندازه‌گیری غلظت اتانول تولیدی هر ۴ ساعت یک‌بار از محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت نمونه‌برداری و پس از سانتریفیوژ کردن نمونه به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد. در این مطالعه، برای اندازه‌گیری غلظت اتانول از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل (فیلیپس PU۴۴۰۰، اینگلند) مجهز به آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای و نرم افزار (Clarity 402, Data Apex, Czech Republic) استفاده شد. همچنین، از ستون شیشه‌ای پر شده (فیلیپس PEG20M، USA) به طول ۱/۵ متر و و قطر داخلی ۱/۸ میلی متر با گاز حامل نیتروژن با جریان ۳۰ میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد.

اندازه‌گیری فورفورال وهیدروکسی متیل فورال: در این مطالعه ابتدا استاندارد ترکیبات فورفوال و هیدورکسی متیل فورال (از شرکت سیگما) و موادی نظیر کلریدریک اسید و تیو باربیوتیک اسید از شرکت مرک تهیه شدند. سپس، استاندارد ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از هر دو ترکیب، فورفورال و هیدروکسی‌متیل فورال به‌طور جداگانه تهیه شد. برای این منظور ۰/۰۱گرم از هر ترکیب در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و سپس استاندارد ۰/۰۰۳ مولار از تیو باربیوتیک اسید تهیه شد. برای این منظور ۰/۴۵۰۳ گرم از این ماده در ۱۰۰ میلی‌متر آب مقطر حل و به مدت ۲۰ دقیقه با دستگاه التراسونیک، (برای حل نمودن آن) التراسونیک شد.

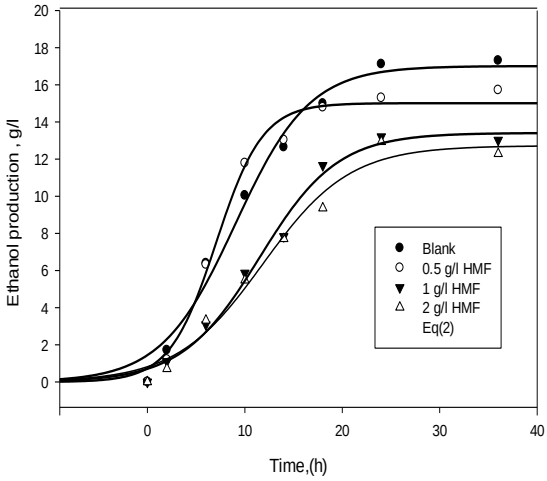
برای رسم منحنی کالیبراسیون ترکیبات فورفورال و هیدورکسی‌متیل فورال، از محلول استاندارد ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فورفورال و هیدروکسی متیل فورال با محلول‌های با غلظت استاندارد ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر هر دو ترکیب در ۶ سری بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری تهیه شد. سپس، به هر یک از آن‌ها ۸/۵ میلی‌لیتر کلریک‌اسید به همراه ۷ میلی‌لیتر معرف تیوباربیوتیک اسید با غلظت۰۰۳/ مولار اضافه شد، همین کار با ۱ میلی‌لیتر آب مقطر به عنوان نمونه شاهد نیز انجام شد. محلول‌های بالا به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۴۰ درجه قرار داده شدند و پس از سرد شدن تا رسیدن به دمای ۲۰ درجه (برای متوقف کردن سرعت واکنش) میزان جذب آن‌ها با استفاده از برنامه مشتق‌گیری دستگاه اسپکتروفتومتر (جِن وی[۱۰] ۶۳۰۵، انگلستان) و در طول موج ۴۱۴ نانومتر برای فورفورال و ۴۳۶ نانومتر برای هیدروکسی متیل فورفورال با استفاده از مشتق مرحله اول قرائت شد (۱۳).

تحلیل آماری: تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار ماکروسافت اکسل ۲۰۰۷انجام گرفت. نمودار مربوط به هر سه متغیر غلظت اتانول تولیدی، بیومس سلولی و قندهای احیا کننده در محیط اکسل رسم شد. همچنین برای بررسی مدل‌های سنتیکی متغیرهای نام برده شده از نرم‌افزار سیگما پلات ۱۲ استفاده شد.

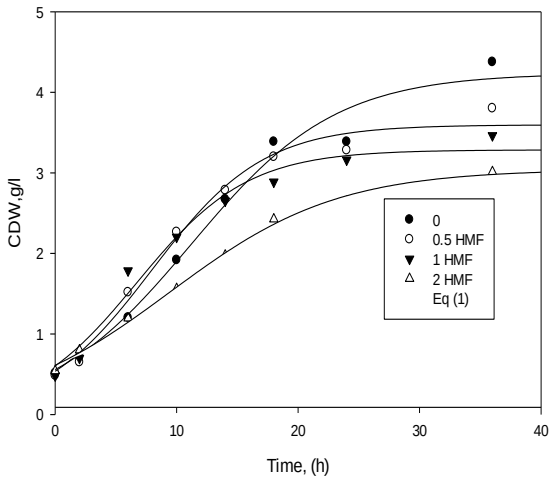
نتایج

اثر غلظت‌های مختلف هیدروکسی متیل فورال بر روی رشد، اتانول تولیدی و گلوکز مصرفی: نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت ترکیب هیدروکسی متیل فورال بر روی رشد مخمر، میزان گلوکز مصرفی و اتانول تولیدی طی فرآیند تخمیر نشان داد: با افزایش غلظت هیدروکسی متیل فورال به بیش از ۱ گرم بر لیتر، میزان رشد مخمر، گلوکز مصرفی و اتانول تولیدی کاهش می‌یابد. نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان وزن خشک سلولی در محیط کشت شاهد به میزان ۴/۳۷ گرم بر لیتر و محیط کشت حاوی هیدروکسی متیل فورال ۰/۵ گرم

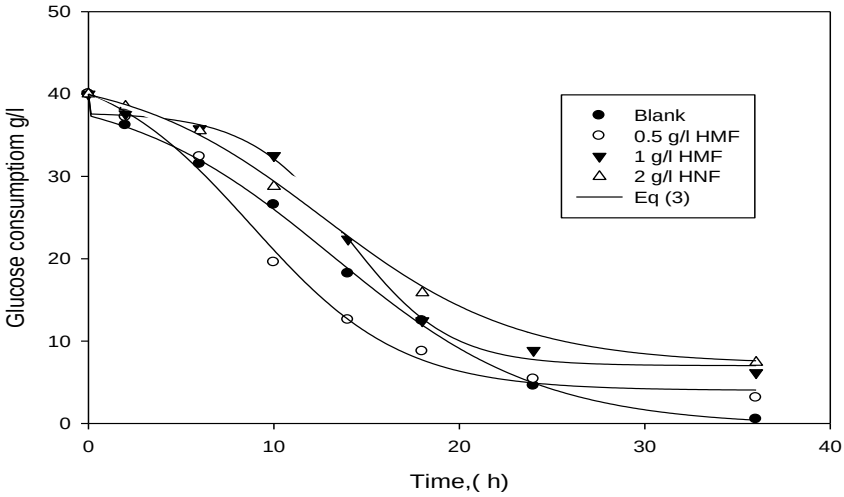
بر لیتر، به میزان ۳/۸۳ گرم بر لیتر وزن خشک در مدت زمان ۲۰ ساعت پس از تلقیح مخمر به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت میزان وزن خشک سلولی کم شده به‌طوری که کم‌ترین میزان وزن خشک در غلظت ۲ گرم بر لیتر به میزان ۲/۸گرم بر لیتر به‌دست آمد. شکل ۱ نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت ترکیب فورفورال بر روی روند رشد، میزان گلوکز مصرفی واتانول تولیدی به همراه نتایج مدل سنتیکی تولید اتانول و رشد بیومس سلولی را توسط مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* نشان می‌دهد.



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۱- نتایج حاصل از بررسی غلظت‌های مختلف هیدروکسی متیل فورال بر روی روند بیومس سلولی (الف)، گلوکز مصرفی (ب) و اتانول تولیدی (ج) توسط مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* در طی فرآیند تخمیربه همراه مدل سنتیکی رشد و تولید اتانول و گلوکز مصرفی در طی فرآیند تخمیر

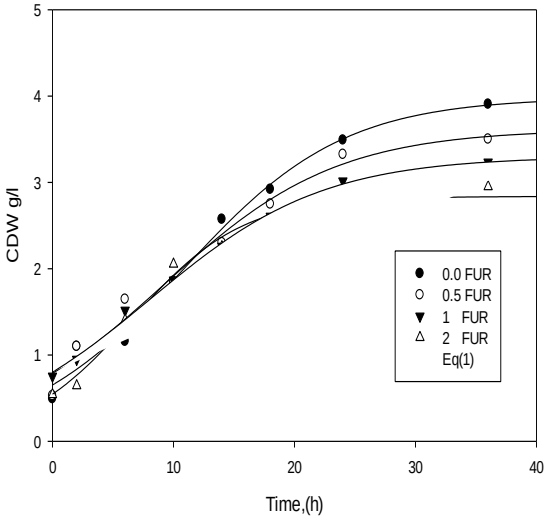
یافته‌های حاصل از بررسی اثر غلظت‌های مختلف هیدروکسی متیل فورال بر روی میزان گلوکز مصرفی، اتانول تولیدی در طی فرآیند تخمیر نشان داد که افزایش غلظت هیدروکسی متیل فورال به بیشتر از ۱ گرم بر لیتر، تأثیر بازدارندگی شدیدی بر روی میزان گلوکز مصرفی و اتانول تولیدی می‌گذارد. به‌طوری که بیش‌ترین میزان گلوکز مصرفی در طی فرآیند تخمیر به ترتیب در غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در لیتر و به میزان ۳۹/۲، ۳۷/۶۴، ۳۳/۸۳ و ۳۰/۵ بود (جدول ۱). همچنین، نتایج حاصل از بررسی میزان بازده اتانول تولیدی طی فرآیند تخمیر نشان داد که بین غلظت‌های صفر یا (شاهد) و ۰/۵ گرم بر لیتر تفاوت چندانی در میزان بازده اتانول تولیدی وجود ندارد ولی با افزایش غلظت به بیش از ۱ گرم در لیتر، میزان بازده تولیدی به مقدار زیادی کاهش می‌یابد. به طوری‌که بیش‌ترین بازده اتانول تولیدی به ترتیب در غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در لیتر به میزان ۰/۴۳، ۰/۴۲، ۰/۳۸ و ۰/۳۶ گرم اتانول بر گرم گلوکز بود.

جدول ۱- نتایج رگرسیون و شاخص‌های سنتیکی رشد مخمر، تولید اتانول و گلوکز مصرفی (گرم بر لیتر) در طی فرآیند تخمیر در غلظت‌های مختلف هیدروکسی متیل فورال

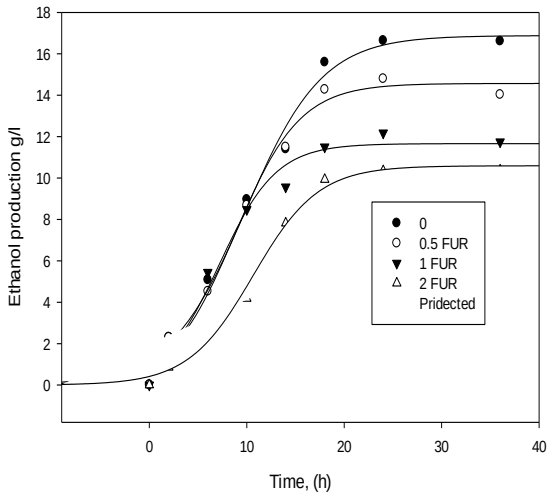
شاخص‌های فرآیندی	شاخص‌های سینیتیک	غلظت هیدروکسب متیل فورال (میلی گرم بر لیتر)			
		شاهد	۰/۵	۱	۲
رشد بیومس سلولی	x_0 (گرم بر لیتر)	۰/۵۵	۰/۵۳	۰/۶	۰/۶۱
	x_m (گرم بر لیتر)	۴/۲	۳/۵۹	۳/۲	۳/۰۴
	μ_m (ساعت/۱)	۰/۱۶	۰/۲۱	۰/۲۲	۰/۱۴
	R^2	۰/۹۷۶	۰/۹۸	۰/۹۷۱	۰/۹۹۳
	بازده سلولی (گرم بر گرم)	۰/۱۵	۰/۱۴	۰/۱۲	۰/۱۱
اتانول تولیدی	P_0 (گرم بر لیتر)	۰/۸۱	۰/۷	۰/۷۴	۱/۰۴
	P_m (گرم بر لیتر)	۰/۲۶	۰/۴۱	۰/۲۵	۰/۲۲
	P_r (ساعت/۱)	۱۷/۰۸	۱۵/۰۹	۱۳/۴	۱۲/۷۱
	R^2	۰/۹۹۸	۰/۹۸۹	۰/۹۸۶	۰/۹۸
	بازده اتانول (گرم بر گرم)	۰/۴۳	۰/۴۲	۰/۳۸	۰/۳۶
گلوکز مصرفی	S_0 (گرم بر لیتر)	۴۰	۴۰	۴۰/۱	۴۰
	$Y_{X/S}$ گرم بر گرم	۹/۹	۷/۹	۹/۹۴	۷/۳
	$Y_{P/S}$ گرم بر گرم	۱۲/۲	۸/۶	۷/۶	۶/۳
	R^2	۰/۹۹۹	۰/۹۹۵	۰/۹۹۸	۰/۹۹۷
	گلوکز مصرفی (گرم بر لیتر)	۳۹/۲	۳۷/۶۴	۳۳/۸۳	۳۰/۵

بررسی اثر غلظت‌های مختلف فورفورال بر روی رشد، میزان اتانول تولیدی و گلوکز مصرفی: نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت‌های مختلف ترکیب فورفورال بر روی رشد، میزان گلوکز مصرفی وبازده اتانول تولیدی نشان داد که با افزایش غلظت فورفورال، میزان رشد مخمر، گلوکز مصرفی و اتانول تولیدی کاهش می‌یابد. همچنین، نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت‌های مختلف فورفورال بر میزان گلوکز مصرفی و اتانول تولیدی در طی فرآیند تخمیر نشان داد که افزایش غلظت فورفورال به بیشتر از ۰/۵ گرم بر لیتر تأثیر

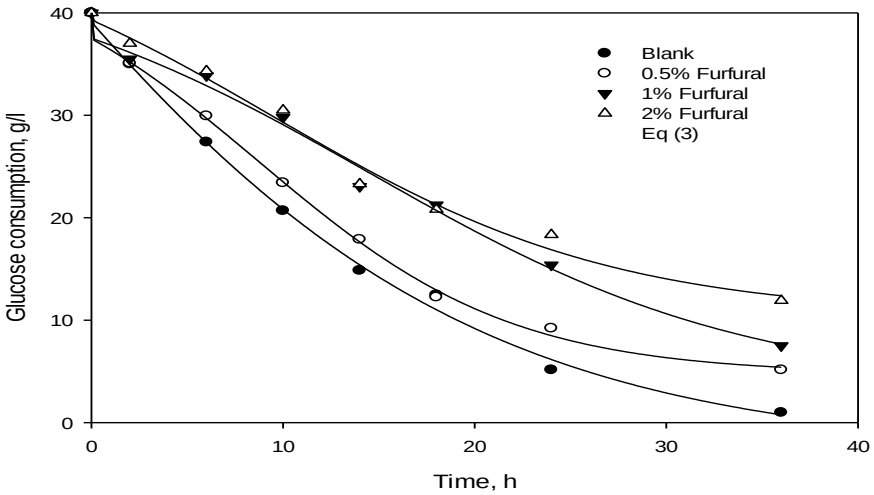
بازدارندگی شدیدی بر روی میزان گلوکز مصرفی و بازده اتانول تولیدی می‌گذارد (جدول ۱)، به‌طوری که بیش‌ترین میزان گلوکز مصرفی در طی فرآیند تخمیر به ترتیب در غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در لیتر به میزان ۰/۳۹، ۳۴/۵، ۳۳ و ۲۹/۲ گرم بر لیتر به‌دست آمد. همچنین، بیش‌ترین بازده اتانول تولیدی به ترتیب در غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ به ترتیب به میزان ۰/۴۲، ۰/۴۰، ۰/۳۷ و ۰/۳۴گرم اتانول بر گرم گلوکز مشاهده شد (شکل ۲). نتایج حاصل از بررسی میزان وزن خشک سلولی نشان دادکه با افزایش غلظت فورفورال میزان وزن خشک سلولی به میزان زیادی نسبت به نمونه شاهد کاهش می‌یابد. به‌طوری که بیش‌ترین و کمترین وزن خشک سلولی به ترتیب در نمونه شاهد و۲ گرم در لیتر به میزان ۳/۹ و ۲/۷ گرم بر لیتر به‌دست آمد (شکل ۲).



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۲- نتایج حاصل از بررسی غلظت‌های مختلف فورفورال بر روی روند رشد بیومس سلولی (الف)، اتانول تولیدی (ب) وگلوکز مصرفی (ج) توسط *ساکارومایسس سرویسیه* در طی فرآیند تخمیر همراه مدل سنتیکی آن‌ها

جدول ۲- نتایج رگرسیون و شاخص‌های سنتیکی رشد مخمر، تولید اتانول و گلوکز مصرفی (گرم بر لیتر) درطی فرآیند تخمیر در غلظت‌های مختلف فورفورال

شاخص‌های فرآیندی	شاخص‌های سینیتیک	غلظت فورفورال (میلی گرم بر لیتر)			
		شاهد	۰/۵	۱	۲
رشد بیومس سلولی	x_0 (گرم بر لیتر)	۳/۹	۳/۶۱	۳/۲۹	۲/۸
	x_m (گرم بر لیتر)	۰/۶۵	۰/۷۸	۰/۸	۰/۵۴
	μ_m (ساعت/۱)	۰/۱۵	۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۲۱
	R^2	۰/۹۸۷	۰/۹۷۸	۰/۹۸۷	۰/۹۹۶
	بازده سلولی (گرم بر گرم)	۰/۱۴	۰/۱۳	۰/۱۲۳	۰/۱۰۶
اتانول تولیدی	P_0 (گرم بر لیتر)	۱/۱	۰/۹۷	۰/۶۶	۰/۴
	P_m (گرم بر لیتر)	/۲۵	۰/۲۹	۰/۳۴	۰/۲۹
	P_r (ساعت/۱)	۱۶/۸۸	۱۴/۵۷	۱۱/۶۶	۱۰/۵۹
	R^2	۰/۹۸	۰/۹۸۹	۰/۹۸۱	۰/۹۹۱
	بازده اتانول (گرم بر گرم)	۰/۴۲	۰/۴	۰/۳۷	۰/۳۴
گلوکز مصرفی	S_0 (گرم بر لیتر)	۴۰	۴۰/۳	۴۰/۰۲	۴۰
	$Y_{X/S}$ گرم بر گرم	۳/۶	۴/۹	۲/۹	۱/۶
	$Y_{P/S}$ گرم بر گرم	۱۲/۲	۹/۳۹	۸/۶	۶/۷
	R^2	۰/۹۸۷	۰/۹۹۳	۰/۹۹۹	۰/۹۹۷
	گلوکز مصرفی (گرم بر لیتر)	۳۸/۸	۳۶/۵	۳۳	۲۹/۲

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه یکی از معمول‌ترین روش‌های هیدرولیز و پیش تصفیه در فرآیند تولید اتانول از مواد مختلف نشاسته‌ای، سلولزی و لیگنوسلولزی هیدرولیز اسیدی است. در زمان هیدرولیز اسیدی ترکیبات پلی‌ساکاریدی شامل نشاسته، سلولز و همی سلولز ابتدا به قندهای ساده ۵ کربنه و ۶ کربنه تبدیل می‌شوند. سپس، در مرحله دوم این ترکیبات به شکل‌های دیگری مانند فورفورال و هیدروکسی متیل فورال یا دیگر ترکیبات تبدیل می‌شوند. این ترکیبات برای میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه مخمرها سمی و مضر هستند. وجود این ترکیبات در محیط کشت در هنگام فرآیند تخمیر موجب کاهش رشد مخمر، کاهش گلوکز مصرفی ودر نتیجه کاهش بازده اتانول تولیدی در حین انجام فرآیند تخمیر توسط میکروارگانسیم‌ها می‌شود (۱۴). از جمله مهم‌ترین این ترکیبات می‌توان به فورفورال، هیدورکسی متیل فورال، فرمیک اسید، اسیدهای چرب واستیک اسید اشاره کرد. اگر چه مخمر *ساکارومایسس سرویسه* در طی فرآیند تخمیر توانایی تبدیل فورفورال و هیدروکسی متیل فورال به ترکیباتی مانند فورال الکل و دیگر ترکیبات را دارد، اما وجود این ترکیبات در محیط کشت تخمیر تأثیرات بازدارنده مهمی بر روی متابولیسم آن و در نتیجه بر روی رشد ومیزان اتانول تولیدی توسط آن می‌گذارد (۱۵).

اثر ترکیب هیدروکسی متیل فورال بر روی رشد، گلوکز مصرفی و بازده اتانول تولیدی: نتایج حاصل از بررسی غلظت‌های مختلف ترکیب هیدروکسی متیل فورال بر روی رشد مخمر نشان داد که با افزایش غلظت

آن در محیط کشت میزان رشد مخمر کاهش می‌یابد. درمحیط کشتی که عاری از فورفورال بود در ساعت‌های اولیه پس از تلقیح مخمر، میزان بیومس سلولی به شدت افزایش یافت ولی با گذشت زمان میزان تغییرات بیومس کمتر شد. در حالی که با افزایش غلظت هیدروکسی متیل فورال به میزان بیش از ۱ گرم در لیتر، کاهش قابل ملاحظه‌ای در رشد مخمر مشاهده شد. نتایج حاصل از بررسی غلظت‌های مختلف هیدروکسی متیل فورال بر روی گلوکز مصرفی نشان داد که بیش‌ترین میزان گلوکز مصرفی در محیط کشت بدون هیدروکسی متیل فورال و ۰/۵ گرم در لیتر، به میزان ۹۷/۸ و ۹۵ درصد است. همچنین در غلظت‌های ۱و۲ از هیدروکسی متیل فورال، گلوکز مصرفی ترتیب به میزان ۸۴ و۷۶ درصد کاهش نشان داد. عدم مصرف کامل گلوکز موجود در محیط کشت و کاهش میزان بیومس سلولی در محیط کشت‌های باغلظت بالاتر هیدروکسی متیل فورال گویای تأثیرات بازدارنده این ترکیب بر روی رشد مخمر و میزان اتانول تولیدی می‌باشد. به طور کلی یافته‌های حاصل از بررسی تغییرات گلوکز مصرفی گویای آن است که بین دو نمونه عاری از هیدروکسی متیل فورال و ۰/۵ گرم بر لیتر، تفاوت چندانی وجود ندارد. همچنین، نتایج حاصل از بررسی مدل سنتیکی تولید اتانول، رشد بیومس سلولی و گلوکز مصرفی نشان داد که مدل‌های مورد مطالعه به‌خوبی توانسته اند رفتار تولید اتانول و رشد سلولی را توجیه کنند. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، مقادیر ضریب تبیین (R^2) بالای ۰/۹۷برای تمام شاخص‌ها و همچنین، مقدار *F- value* بالا نشان از معناداری مدل‌های به‌کار گرفته شده دارد. ویکندری و همکاران[11] به بررسی اثر فورفورال، هیدروکسی متیل فورال و اسید استیک بر روی رشد میکروارگانیسم‌های بومی جدا شده برای تولید اتانول پرداختند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که در محیط کشت عاری از ترکیبات بازدارنده و غلظت‌های کمتر از ۰/۵گرم بر لیتر، میزان گلوکز موجود کمابیش به‌طور کامل مصرف شده است (۱۵). همچنین، یافته‌های آن‌ها نشان داد با افزایش غلظت فورفورال وهیدروکسی متیل به بیش از ۰/۵ گرم در لیتر، میزان بازده اتانول تولیدی به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد. به طوری که در محیط کشت با غلظت ۱گرم بر لیتر، میزان بازده اتانول تولیدی به میزان ۲۶ و ۱۸/۴۵ درصد به ترتیب برای فورفورال وهیدروکسی متیل فورال کاهش می‌یابد.

یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که حضور ترکیب هیدروکسی متیل فورال در محیط کشت بر روی میزان بازده اتانول تولیدی توسط مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* و رشد آن در غلظت‌های بالاتر از ۱ گرم بر لیتر تأثیر قابل ملاحظه‌ای می‌گذارد. که این موضوع با نتایج حاصل ازمطالعه آلوز و همکاران[12]مبنی بر کاهش رشد سلولی و میزان اتانول تولیدی طی فرآیند تخمیر مخمر *ساکارومایسس سرویسیه*، با غلظت ۱ گرم بر لیتر هیدروکسی متیل فورال، مطابقت دارد (۱۶).

اثر ترکیب فورفوال بر روی رشد، گلوکز مصرفی و بازده اتانول تولیدی توسط مخمر *ساکارومایسس سرویسیه*: فورفورال یکی از مهم‌ترین ترکیبات بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌ها در فرآیند تخمیر اتانول است. اگرچه تأثیر فورفورال بر روی رشد و متابولسیم مخمرها هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است، اما به هر حال وجود این ترکیب در محیط کشت اثر بازدارندگی قابل ملاحظه‌ای بر روی روند رشد میکروارگانیسم، گلوکز مصرفی و میزان اتانول تولیدی می‌گذارد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر گویای آن است که با افزایش غلظت

فورفورال، علاوه بر کاهش میزان بیومس سلولی مخمر، میزان بازده اتانول تولیدی و گلوکز مصرفی توسط آن کاهش چشم‌گیری می‌یابد. به طوری که بیش‌ترین وکم‌ترین میزان گلوکز مصرفی به ترتیب ۳۹/۰۲ و ۲۶/۴ گرم بر لیتر در محیط کشت شاهد و محیط کشت با غلظت۲ گرم بر لیتر فورفورال مشاهده شد. نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان بازده اتانول تولیدی علاوه بر نمونه کنترل به ترتیب در غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ گرم بر لیتر فورفورال به میزان ۰/۴، ۰/۳۶ و ۰/۳۴ گرم اتانول بر گرم گلوکز به‌دست آمد. همچنین، نتایج حاصل از بررسی مدل سنتیکی تولید اتانول و رشد بیومس سلولی نشان داد که مدل‌های مورد مطالعه به‌خوبی توانسته اند رفتار تولید اتانول، رشد سلولی و گلوکز مصرفی را توجیه کنند. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، مقادیر ضریب تبیین (R^2) بالای ۰/۹۷ برای تمام شاخص‌ها و همچنین مقدار *F- value* بالا نشان از معناداری مدل‌های مورد به‌کار گرفته شده است. در واقع نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که مدل‌های مورد بررسی به خوبی توانسته‌اند رفتار رشدسلولی، اتانول تولیدی و گلوکز مصرفی را در طی فرآیند تخمیر در حضور ترکیبات بازدارنده توجیه کنند. به طور کلی کاهش میزان گلوکز مصرفی و بازده اتانول تولیدی در طی فرآیند تخمیر با افزایش غلظت فورفورال گویای تأثیر بازدارندگی این ترکیب بر روی رشد ومتابولیسم مخمر و در نتیجه میزان اتانول تولیدی است. اگرچه بیشتر میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* توانایی تبدیل فورفورال به الکل فورال یا فوریک اسید توسط آنزیم‌های الکل دهیدروژناز و آلدهیددهیدروژناز آنزیم را دارند، اما این ترکیبات در محیط کشت باعث کاهش رشد، میزان گلوکز مصرفی واتانول تولیدی طی فرآیند تخمیر می‌شوند (۱۷).

توفیقی و همکاران[۱۳] بیان کردند حضور ترکیبات بازدارنده همچون فورفورال در محیط کشت مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* باعث کاهش عملکرد تولید اتانول و ایجاد ضعف در مخمر می‌شود. بنابراین، برای تولید بهینه اتانول از مواد نشاسته‌ای، سلولزی ولیگنوسلولزی علاوه بر پیدا کردن میکروارگانسیم‌های مناسب، بررسی مقاومت آن‌ها در برابر شرایط محیطی از جمله ترکیبات بازدارنده بسیار مهم واساسی است (۱۴). نتایج آن‌ها گویای این است که با افزایش غلظت فورفورال میزان بیومس سلولی، رشد مخمر و همچنین، میزان اتانول تولیدی کاهش می‌یابد. همچنین آن‌ها بیان داشتند که در محیط کشت بدون فورفورال و محیط کشت با غلظت‌های ۴، ۵ و ۶ گرم بر لیتر به ترتیب ۹۳، ۶۰، ۵۱ و۳۳ درصد، میزان گلوکز توسط مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* مصرف شده است (۱۴). همچنین در مطالعه دیگری، ویکندری و همکاران[۱۴] بیان داشتند که با افزایش غلظت فورفورال از ۰/۲۵ گرم بر لیتر به بیش از ۰/۵ گرم بر لیتر، میزان گلوکز مصرفی به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد. آن‌ها بیان داشتند که افزایش غلظت به بیش از ۰/۵ گرم بر لیتر، میزان بازده اتانول تولیدی از ۰/۴۴گرم اتانول بر گرم گلوکز به ۰/۴۰ گرم اتانول برگرم گلوکزکاهش می‌یابد. علاوه بر این، یافته‌های آن‌ها نشان داد که افزایش غلظت فورفورال در محیط کشت با غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر نسبت به نمونه شاهد، باعث کاهش ۷/۵ درصدی بازده اتانول تولیدی می‌شود. در حالی افزایش غلظت آن به بیش از ۰/۵ گرم بر لیتر باعث کاهش ۲۶ درصدی اتانول می‌شود (۱۵).

به طور کلی نتایج حاصل از بررسی اثر دو ترکیب فورفورال وهیدروکسی متیل فورال بر روی رشد، میزان گلوکز مصرفی وبازده اتانول تولیدی توسط مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* نشان داد که فورفورال نسبت به هیدروکسی‌متیل فورال تأثیر بازدارندگی بیشتری بر روی مخمر می‌گذارد. در مطالعه دیگری آلمارسدوتیر و همکاران[۱۵] اثر مهارکنندگی دو ترکیب فورفورال و هیدروکسی‌متیل‌فورال در طی فرآیند تخمیر اتانول توسط سویه باکتری*ترمانرو باکتریوم* *AK1*[۱۶] را بررسی کردند. یافته‌های آن‌ها نشان داد که در غلظت ۰/۵گرم بر لیتر، فورفورال وهیدروکسی متیل به ترتیب موجب کاهش ۱۵ و ۱۷ درصدی اتانول می‌شود. همچنین، آن‌ها بیان داشتند فورفورال در غلظت ۲ گرم بر لیتر کمابیش باعث کاهش ۵۰ درصدی در میزان تولید اتانول می‌شود. اما برای هیدروکسی متیل فورال کاهش خیلی کمی با افزایش غلظت آن مشاهده شد (۱۸). با توجه به نفوذپذیری کم غشای سلولی مخمر نسبت به هیدروکسی متیل فورال در مقایسه با فورفورال می‌توان این احتمال را داد که تأثیر بازدارندگی کمتر هیدروکسی متیل فورال نسبت به فورفورال ناشی از این عامل باشد. لارسون[۱۷] و همکاران بیان داشتند اگرچه مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* توانایی تبدیل هیدروکسی متیل فورال به ۵ هیدروکسی فورفورال الکل را دارد، اما سرعت تبدیل آن نسبت به فورفورال کمتر است که این می‌تواند ناشی از نفوذ پذیری کم غشای سلولی آن نسبت به فورفورال باشد (۹).

مطالعه حاضر به بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف دو ترکیب فورفورال وهیدروکسی متیل فورال بر روی رشد و بازده اتانول تولیدی توسط مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* پرداخت. نتایج این مطالعه نشان داد با افزایش غلظت هر دو ترکیب، میزان بیومس سلولی و بازده اتانول تولیدی کاهش می‌یابد و روند کاهش میزان گلوکز مصرفی با افزایش غلظت این دو ترکیب گویای تأثیر منفی این ترکیبات بر روی رشد و متابولیسم مخمر است. همچنین، نتایج نشان داد که فورفورال نسبت به هیدروکسی متیل فورال به مراتب تأثیر بازدارندگی بیشتری بر روی رشد مخمر و بازده اتانول تولیدی دارد.

References

(1) Wang R., Domínguez-Espinosa RM., Leonard K., Koutinas A., Webb C. The application of a generic feedstock from wheat for microbial fermentations. *Biotechnology progress* 2002; 18 (5): 1033-8.

(2) Demirbas A. Biofuels sources., biofuel policy., biofuel economy and global biofuel projections. *Energy Conversion and Management* 2008; 49 (8): 2106- 16.

(3) Gohel V., Duan G. Conventional process for ethanol production from Indian broken rice and pearl millet. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 2012; 35 (8): 1- 12.

(4) Cardona Alzate C., Sanchez Toro O. Energy consumption analysis of integrated flowsheets for production of fuel ethanol from lignocellulosic biomass. *Energy* 2006; 31 (13): 2447- 59.

(5) Demirbas A. Use of algae as biofuel sources. *Energy Conversion and Management* 2010; 51 (1). 2738- 49.

(6) Lin Y., Tanaka S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2006; 69 (6): 627- 42.

(7) Oberoi HS., Vadlani PV., Brijwani K., Bhargav VK., Patil RT. Enhanced ethanol production via fermentation of rice straw with hydrolysate- adapted *Candida tropicalis ATCC 13803*. *Process Biochemistry* 2010; 45 (8): 1299- 306.

(8) Sakthi SS., Saranraj P., Rajasekar M. Optimization for cellulase production by *Aspergillus niger*using paddy straw as substrate. *International journal of Advanced Scientific and Te chnical Research* 2011; 1 (1): 69- 85

(9) Larsson S., Palmqvist E., Hahn-Hägerdal B., Tengborg C., Stenberg K., Zacchi G., et al. The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood. *Enzyme and Microbial Technology* 1999; 24 (3): 151- 9.

(10) Modig T. Kinetics and inhibition effects of furfural and hydroxymethyl furfural on enzymes in yeast. *Biochemical Journal* 2002; 4 (2): 323- 8.

(11) Chen HC. Non-aseptic, multi-stage, multi-feeding, continuous fermentation of cane mollasses to ethanol. *Process biochemistry international*. 1990; 25 (3); 254- 60.

(12) Miller G. L. Useof dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 1959; 31 (3); 426- 28

(13) Duonan Tu ., Saifeng Xue ., Chunyuan Meng., Anunciacion Espinosa-Mansilla., Arsenio Munoz de la Pena., Lopez F. S. Simultaneous determination of 2-furfuraldehyde and5- (hydroxymethyl) -2-furfuraldehyde by derivative spectrophotometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1992; 40 (6): 1022- 25.

(14) Tofighi A., Azin M., Mazaheri Assadi M., Assadi-rad M. H. A., Nejadsattari T., Fallahian M. R. Inhibitory effect of high concentrations of furfural on industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae. International Journal of Environmental Research* 2010; 4 (1): 137- 42.

(15) Wikandari R., Millati R., Syamsiyah S., Muriana R., Ayuningsih Y. Effect of furfural., hydroxymethylfurfural and acetic acid on indigeneous microbial isolate for bioethanol production. *Agricultural Journal* 2010; 5 (2): 105- 9.

(16) Alves LA., Felipe MG., Silva JBAE., Silva SS., Prata AM. Pretreatment of sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. *Applied Biochemistry and Biotechnology: Springer* 1998; 72 (1). 89- 98.

(17) Taherzadeh MJ., Gustafsson L., Niklasson C., Lidén G. Conversion of furfural in aerobic and anaerobic batch fermentation of glucose by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of bioscience and bioengineering* 1999; 87 (2): 169- 74.

(18) Almarsdottir AR., Sigurbjornsdottir MA., Orlygsson J. Effect of various factors on ethanol yields from lignocellulosic biomass by *Thermoanaerobacterium AK17. Biotechnology andBioengineering* 2012; 109 (3): 686- 94.

---

[1]- Hydroxymethyl furfural (HMF)
[2]- Furfural (FUR)
[3]- Larsson
[4]- Modig
[5]- Pyruvate dehydrogenase(PDH)
[6]- Alcohol dehydrogenase (ADH)
[7]- Aldehyde dehydrogenase (AlDH)
[8]- Merck
[9]- DNS
[10]- Jenway 6305
[11]- Wikandari
[12]- Alves
[13]- Tofighi
[14]- Wikandari
[15]- Almarsdottir
[16]- *ThermoanaerobacteriumAK1*
[17]- Larsson

Survey of the inhibitory effect on growth and ethanol yield in the fermentation process of baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*

Masoud Hatami Manesh
M.Sc. Student of Environmental Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran, hatamim69@yahoo.com
Habibollah Younesi *
Associate Professor of Environmental Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran, hunesi@modares.ac.ir
Nader Bahramifar
Assistant Professor of Environmental Science, Tarbiat Modares University, Noor, Iran, n.bahramifar@modares.ac.ir

Abstract

Introduction: The use of hydrolysis process in order to release reducing sugars of Polysaccharide materials for ethanol production, especially in acid hydrolysis process, causes the produce growth inhibitors compounds such as furfural and hydroxymethyl. Existing these compounds in culture medium, in addition to decrease microorganism growth and glucose consumption they cause the decrease efficiency of ethanol production.

Materials and methods: In order to investigate the effect of both inhibiting compounds hydroxymethyl furfural and furfural on growth, glucose consumption and ethanol production by *Saccharomycescerevisiae* yeast, four field experiments with different concentrations include 0orcontrol0.5, 1 and 2gl^{-1}of each compound was prepared, and their inhibitory effects on yeast growth and ethanol production was studied in during 36 h.

Results: The results showed that with increasing concentration hydroxymethyl furfural and furfural, both compounds have inhibitory effect on growth yeast, glucose consumption and ethanol production, so that the maximum efficiency of ethanol production for two compounds (hydroxymethylfural and furfural), were observed at concentrations of 0 or control and 0.5 gl$^{-1.}$The results showed that the furfural compound in comparison to hydroxymethylfural have more inhibitory effect on *Saccharomycescerevisiae* growth and ethanol production by it.

Discussion and conclusion: In general decrease in glucose consumption by increasing concentrations of these compounds showed the negative effects of these compounds on the growth and metabolism yeast, and therefore the ethanol production is reduced.

Key words: Ethanol, Cell biomass, Furfural, Hydroxymethyl fural, *Saccharomyces cerevisiae*

* Corresponding author, hunesi@yahoo.com
Received: October 15, 2013 / **Accepted:** May 21, 2014