

Kinetic Study on Bioethanol Production from Enzymatic Hydrolysates of Microalgal Biomass

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Shokrkar H.¹ PhD,
Ebrahimi S.^{*1} PhD

How to cite this article

Shokrkar H, Ebrahimi S. Kinetic Study on Bioethanol Production from Enzymatic Hydrolysates of Microalgal Biomass. Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(1):61-68.

¹Biotechnology Research Center, Sahand University of Technology, Tabriz, Iran

*Correspondence

Address: Biotechnology Research Center, Sahand University of Technology, Tabriz, Iran
Phone: +98 (41) 33458180
Fax: +98 (41) 33444355
sirous.ebrahimi@epfl.ch

Article History

Received: February 24, 2017
Accepted: September 04, 2017
ePublished: March 16, 2019

ABSTRACT

Microalgae with stores of carbohydrates are introduced as a promising energy resource to produce bioethanol. In this study, a mixed microalgae culture was used for reducing the processing costs. Afterward, nitrogen starvation strategy was used to increase the carbohydrates storage in microalgae. The application of mixed microalgae cultures enhances the economic feasibility of the process due to the elimination of culture sterilization. After harvesting and drying of microalgae, enzymatic hydrolysis of microalgal biomass for carbohydrates extraction was performed. Afterward, the enzymatic hydrolysate of microalgal biomass (25, 50, 100g/L) underwent fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and kinetic models for fermentation were studied. The inhibition of glucose substrate and bioethanol product was considered in the kinetic model. AQUASIM 2.0 software was used as a tool to simulate the fermentation process. The estimated values of the maximum specific growth rate (μ_{max}) and Monod constant (Ks) were found to be 0.281h⁻¹ and 1.8g/L, respectively. Also, the results indicate that the kinetic model predicted the behavior of the system well.

Keywords Bioethanol; Microalgae; Kinetics; Yeast; Enzymatic hydrolysis

CITATION LINKS

[1] Global economic activity and crude oil prices: A cointegration ... [2] Production of liquid biofuels from renewable ... [3] Improving the sustainability of the production of biodiesel from oilseed rape in the ... [4] Bioethanol production using carbohydrate-rich microalgae biomass as ... [5] Microalgae for biodiesel production and other applications ... [6] Biology and biochemistry for chemists and chemical ... [7] Influence of acid pre-treatment on microalgal biomass for bioethanol ... [8] Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol ... [9] Gravimetric enrichment of high lipid and starch accumulating ... [10] Gravimetric enrichment of high lipid and starch accumulating ... [11] Bioethanol production from acidic and enzymatic hydrolysates of mixed microalgae ... [12] Evaluation of different enzymatic treatment procedures on sugar extraction from microalgal ... [13] Rapid colorimetric determination of nitrate in plant-tissue by nitration of ... [14] Kinetic models for batch and continuous ethanol fermentation from sweet sorghum juice by yeast immobilized on sweet ... [15] Mathematical modeling of mixed-culture ... [16] Enhancing starch production of a marine green microalga *Tetraselmis subcordiformis* through nutrient ... [17] Microalgae--novel highly efficient starch ... [18] Microalgal carbohydrates: An overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production ... [19] Enzymatic hydrolysis of microalgal biomass for bioethanol ... [20] A horizontal bioreactor for ethanol production by immobilized ... [21] Kinetics of ethanol inhibition in alcohol ... [22] Effects of high product and substrate inhibitions on the kinetics and biomass and product yields during ethanol batch ... [23] Intrinsic kinetics of continuous growth and ethanol production of a flocculating fusant yeast ... [24] Continuous ethanol fermentation in a tower reactor with flocculating yeast recycle: Scale-up effects on process ... [25] Kinetics of batch fermentations for ethanol production with immobilized *Saccharomyces cerevisiae* growing on sweet ... [26] Production of ethanol from sweet sorghum juice using VHG technology: A simulation ... [27] Moo-Young M. Observed quasi-steady kinetics of yeast cell growth and ethanol formation under very high gravity fermentation ... [28] Kinetics studies on ethanol production from banana peel waste using mutant strain of *Saccharomyces* ... [29] A kinetic study of the fermentation of cane sugar using *Saccharomyces* ... [30] Selection of *Saccharomyces cerevisiae* and investigation of its performance for very ... [31] Alcohol production by *Saccharomyces cerevisiae* ...

بررسی سینتیکی فرآیند تولید بیواتانول از محصولات هیدرولیز آنزیمی زیست‌توده ریز جلبک

هانیه شکرکار PhD

مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

سیروس ابراهیمی* PhD

مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

چکیده

ریزجلبک‌ها با ذخایری از کربوهیدرات‌ها به‌عنوان یکی از نویدبخش‌ترین منابع اولیه برای تولید بیواتانول معرفی شده‌اند. در این تحقیق، برای کاهش هزینه‌های فرآیندی از گونه‌های مختلط ریزجلبک استفاده شد. سپس استراتژی قحطی نیتروژن برای افزایش تجمع کربوهیدرات‌ها در ریزجلبک به کار گرفته شد. استفاده از کشت مختلط ریزجلبک به دلیل عدم نیاز به فرآیندهای استریل‌کردن، باعث توجه‌پذیری اقتصادی فرآیند خواهد شد. بعد از برداشت و خشک‌نمودن توده زیستی ریزجلبک، فرآیند هیدرولیز آنزیمی زیست‌توده ریزجلبک به‌منظور استخراج کربوهیدرات‌های ریزجلبک صورت گرفت. سپس محصولات هیدرولیز آنزیمی توده زیستی ریزجلبک (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم بر لیتر)، با استفاده از مخمر *Saccharomyces cerevisiae* تخمیر شد و مدل‌های سینتیکی فرآیند تخمیر مورد مطالعه قرار گرفت. در مدل‌های سینتیکی، اثر مهارکنندگی سوبسترای گلوکز و محصول بیواتانول در نظر گرفته شد. نرم‌افزار اکوسیم ۲/۰ برای مدل‌سازی فرآیند تولید بیواتانول به کار رفت. مقادیر حداکثر سرعت رشد مخصوص مخمر (μ_{max}) و ثابت اشباع رشد مونود (Ks) به ترتیب $0.281h^{-1}$ و $1/8$ گرم بر لیتر به دست آمد. همچنین نتایج نشان دادند که مدل سینتیکی به‌خوبی رفتار سیستم را پیش‌بینی کرده است.

کلیدواژه‌ها: بیواتانول، ریزجلبک، سینتیک، مخمر، هیدرولیز آنزیمی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۱۳

*نویسنده مسئول: sirous.ebrahimi@epfl.ch

مقدمه

سوخت‌های زیستی سازگار با محیط زیست بوده و منبع پایدار برای آینده جهان محسوب می‌شوند. بیواتانول به‌طور عمده به سه دسته نسل اول و دوم و سوم طبقه‌بندی می‌شوند. هزینه تولید بیواتانول نسل اول به دلیل رقابت با غذا بالا است. همچنین نسل دوم بیواتانول زیستی با استفاده از توده‌های زیستی لیگنوسولوزی تولید می‌شوند. محدود شدن رقابت بین خوراک و سوخت مزیت عمده تولید نسل دوم از منابع گیاهی غیرخوراکی است که این محدودیت در ارتباط با تولید بیواتانول نسل اول وجود داشت. با توجه به مشکلات سوخت‌های زیستی نسل اول و دوم، تحقیقات اخیر در زمینه تولید بیواتانول از محصولات کشاورزی به سوی تولید با استفاده از موجودات میکروسکوپی معطوف شده است. نسل سوم بیواتانول براساس پتانسیل استفاده از ریزجلبک‌ها به‌عنوان منبع جایگزین انرژی است که مشکلات مربوط به سوخت‌های زیستی نسل اول و دوم را ندارد [1-3].

اخیراً تحقیقات گسترده‌ای در خصوص امکان تولید بیواتانول از جلبک‌ها (ریزجلبک و درشت‌جلبک) شروع شده است که این امر به دلیل سرعت رشد بالا و بازده بالای فتوسنتز، فرآیندهای پایین‌دستی آسان و امکان کشت در تمام طول سال جلبک‌ها است. مواد درون‌سلولی ریزجلبک‌ها را می‌توان به چهار دسته کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و پروتئین‌ها دسته‌بندی کرد. به‌طور وسیعی پذیرفته شده است که برخی از ریزجلبک‌ها در محدودیت مواد مغذی مانند نیتروژن و فسفر، توانایی تجمع و ذخیره مقادیر بالایی از کربوهیدرات‌ها را دارند که از منابع اولیه تولید بیواتانول به شمار می‌آیند. کربوهیدرات‌ها در ریزجلبک‌ها به‌طور عمده به‌صورت

زیست‌فناوری دانشگاه تربیت مدرس

سلولز و نشاسته و در غیاب لیگنین هستند، بنابراین پیش‌تیمار و هیدرولیز آنها به مراتب آسان‌تر از سایر مواد لیگنوسولوزی است [4]. به‌منظور استفاده از ذخایر کربوهیدرات‌ها در جلبک، توده زیستی جلبک بعد از رشد بازیابی شده و پس از پیش‌تیمار و انجام فرآیندهای هیدرولیز آنزیمی یا اسیدی به قندهای قابل تخمیر تبدیل می‌شود، این قندها متعاقباً توسط میکروارگانیسم‌ها به بیواتانول تبدیل می‌شوند [5]. به‌صورت تئوری می‌توان گفت به‌ازای هر گرم گلوکز ۰/۵۱ گرم اتانول تولید می‌شود. ولی بازده به‌دست‌آمده از فرآیند معمولاً بیشتر از ۹۵٪ مقدار تئوری نیست، که این به‌علت مصرف شدن مقداری از سوبسترا برای سنتز برخی از ترکیبات مورد نیاز سلولی است [6].

در این پژوهش، بعد از عملیات کشت و برداشت ریزجلبک، فرآیند استخراج قند از ریزجلبک با استفاده از هیدرولیز آنزیمی انجام می‌شود. برای تخمیر محصولات هیدرولیز ریزجلبک، از مخمر *Saccharomyces cerevisiae* استفاده شد. با توجه به تعدادی از تحقیقات انجام‌شده در رابطه تولید بیواتانول از کشت خالص جلبک [7, 8] و نیز مطالعات بسیار اندکی درباره جلبک مختلط [9, 10]، در این تحقیق از کشت‌های مختلط جلبک استفاده شده است. کشت ریزجلبک‌ها به‌صورت کشت خالص، نیازمند ضدعفونی‌کردن فرآیند هستند که این موضوع، سبب بالا رفتن هزینه‌های سرمایه‌گذاری و عملیاتی خواهد شد. بنابراین استفاده از کشت مختلط ریزجلبک به دلیل عدم نیاز به فرآیندهای استریل‌کردن و سازگاری در شرایط مختلف عملیاتی، باعث توجه‌پذیری اقتصادی فرآیند خواهد شد [9]. اگرچه، مطالعات سینتیکی تولید بیواتانول در نتیجه تخمیر گلوکز در تحقیقات زیادی قبلاً مورد مطالعه قرار گرفته است، اما در این تحقیق، بررسی سینتیکی تولید بیواتانول از محصولات هیدرولیز آنزیمی زیست‌توده ریزجلبک (نسل سوم سوخت‌های زیستی) انجام شده است. به‌عبارتی، در این تحقیق، بررسی رفتار سینتیکی مخمر در محیطی متفاوت با محیط‌های کشت متداول برای تخمیر انجام شده است.

با توجه به اینکه، در بسیاری از تحقیقات به دلیل زمان طولانی مورد نیاز و علاوه بر آن صرف هزینه‌های بسیار، انجام تمامی آزمایش‌ها امکان‌پذیر نیست. امروزه استفاده از مدل‌سازی در کنار آزمایش‌ها بسیار متداول بوده و مقایسه داده‌های اندازه‌گیری‌شده با محاسبات به‌دست‌آمده از مدل‌سازی، از مهم‌ترین روش‌های تست تئوری‌ها در علوم طبیعی است. در این تحقیق از نرم‌افزار اکوسیم ۲/۰ برای مدل‌سازی فرآیند تولید بیواتانول استفاده شد. مقادیر تولید بیواتانول با استفاده از مدل‌های ریاضی سینتیکی و بدون نیاز به انجام آزمایش، قابل پیش‌بینی است. بنابراین، بررسی پارامترهای سینتیکی فرآیند، می‌تواند نقطه شروع مناسبی برای طراحی واحدهای صنعتی باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- محیط کشت ریزجلبک و فتوبیوراکتورهای مورد استفاده: در مطالعه تجربی حاضر ابتدا گونه‌های مختلط ریزجلبک از آب‌های برکه‌های شهرستان اسکو در استان آذربایجان شرقی جمع‌آوری شد. تصویر میکروسکوپی از گونه‌های موجود در این نمونه در شکل (۱-الف) نشان داده شده است. این گونه‌ها سپس در تحقیق انجام‌شده قبلی ما [11]، کشت اولیه داده شدند. سپس در تحقیق حاضر، عملیات کشت ریزجلبک، در فتوبیوراکتور صفحه‌ای تخت به حجم ۱۰ لیتر انجام شد (شکل ۱-ب). به‌منظور کشت ریزجلبک، محیط

بررسی سینتیک فرآیند تولید بیواتانول از محصولات هیدرولیز آنزیمی زیست‌توده ریز جلبک ۶۳
 ۴۰ واحد فعالیت آنزیمی بر گرم آنزیم، آنزیم بتاگلوکوزیداز (EC 3.2.1.21) تولیدی از المندس با فعالیت آنزیمی ۶ واحد فعالیت آنزیمی بر میلی‌گرم آنزیم، آنزیم آلفاآمیلاز (EC 3.2.1.1) از باکتری *باسیلوس سابتیلیس* با فعالیت آنزیمی ۵۰ واحد فعالیت آنزیمی بر میلی‌گرم آنزیم و آنزیم آمیلوگلوکوزیداز (EC 3.2.1.3) تولیدی از قارچ *آسپرژیلوس نایجر* با فعالیت آنزیمی ۷۰ واحد فعالیت آنزیمی بر میلی‌گرم آنزیم انجام شد. به‌منظور هیدرولیز آنزیمی، پودر جلبک با غلظت‌های مختلف (۵۰، ۲۵، ۱۰۰ گرم بر لیتر) به محیط بافر سیترات با pH برابر ۵ افزوده شدند. محیط‌های حاصل پس از افزودن آنزیم‌های مذکور با غلظت (۱۰۰ واحد فعالیت آنزیمی بر گرم جلبک) به‌منظور هیدرولیز سلولز و نشاسته موجود در جلبک، در حمام آب همراه با همزدگی در دمای ۶۰°C قرار گرفتند. در طول فرآیند هیدرولیز، مقدار گلوکز حاصل از فرآیند هیدرولیز با گذشت زمان اندازه‌گیری شد.

۲-۳- تخمیر محصولات هیدرولیز: سویه مخمر *ساکارومایسس سروزیا* (*Saccharomyces cerevisiae*; ATCC 7921) نیز به‌صورت لیوفیلیزه‌شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. این مخمر در محیط کشت سترون دارای گلوکز، پپتون و عصاره مخمر با غلظت‌های به‌ترتیب ۲۰، ۱۰ و ۱۰۰ گرم بر لیتر و در دمای ۳۸°C و ۱۵۰ دور در دقیقه به‌مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد. سپس مخمر با غلظت اولیه ۰/۵ گرم بر لیتر به‌عنوان مایه تلقیح در تخمیر محصولات هیدرولیز ریزجلبک به کار رفت. به‌منظور تخمیر محصولات هیدرولیز، pH نمونه هیدرولیز شده برابر ۶/۵ تنظیم و در شیشه‌های ۲۰ میلی‌لیتری درپوش‌دار ریخته و مدت زمان ۲۴ ساعت برای تخمیر محصولات هیدرولیز در نظر گرفته شد.

۲-۴- روش‌های آنالیز: غلظت بیومس جلبک از طریق اندازه‌گیری جرم خشک کل (TSS) محاسبه می‌شود. به‌منظور اندازه‌گیری مقدار TSS، ۴۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون ریزجلبکی برداشته شد و از طریق سانتریفیوژ در ۶۰۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه، خالی کردن مایع رویی، خشک کردن زیست‌توده به‌مدت ۲۴ ساعت در آن مقدار آن به دست آمد. مقدار خاکستر، از طریق سوزاندن زیست‌توده خشک‌شده در کوره، در دمای ۵۵۰°C به‌مدت یک ساعت محاسبه شد. جرم آلی معلق (VSS) از طریق اختلاف جرم زیست‌توده خشک‌شده و مقدار خاکستر به دست آمد. برای اندازه‌گیری مقدار کل کربوهیدرات‌ها از معرف آنترون استفاده شد [12]. برای اندازه‌گیری نیترات، روش مبتنی بر تغییر رنگ که در سال ۱۹۷۵ توسط *کاتالو* ارائه شده، به کار رفت [13]. همچنین برای اندازه‌گیری مقدار گلوکز و اتانول از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) با ستون Eurokat H استفاده شد. برای اندازه‌گیری غلظت زیست‌توده مخمر، یک میلی‌لیتر از محیط تخمیر برداشته شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در آن ۱۰۰°C قرار گرفت و بعد از سرد شدن آن در دسیکاتور وزن آن خوانده شد. استفاده برای اطمینان از صحت نتایج، تمام آزمایش‌ها، حداقل دو بار تکرار شده است. بازده استخراج گلوکز از توده زیستی ریزجلبک در محیط هیدرولیز آنزیمی، مطابق رابطه زیر (۱) محاسبه شد:

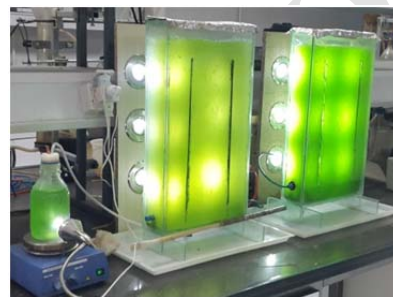
$$\% \text{ بازده گلوکز} = \frac{\text{مقدار گلوکز (گرم)}}{\text{مقدار کل کربوهیدرات‌ها در ریزجلبک (گرم)}} \times 100$$

۲-۵- مدل سینتیک تخمیر: به‌طور معمول، معادله مونود برای رشد مخمر در محیط کشت صادق است (معادله ۲):

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S}$$

در این رابطه μ_{\max} حداکثر سرعت

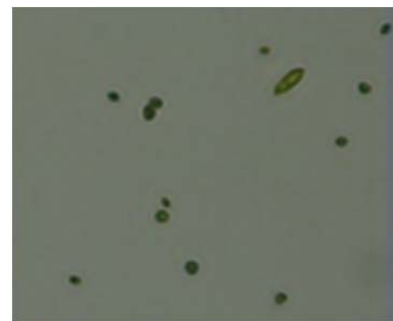
کشت شامل بی‌کربنات سدیم ۱/۲۵ گرم بر لیتر، نیترات سدیم ۰/۸ گرم بر لیتر، فسفات پتاسیم ۰/۲ گرم بر لیتر، سولفات منیزیم ۰/۱ گرم بر لیتر، کلرید کلسیم ۰/۱ گرم بر لیتر، کلرید پتاسیم ۰/۱ گرم بر لیتر و محلول تریس‌المنت ۲ میلی‌لیتر بر لیتر به کار رفت. به‌منظور نوردهی از لامپ‌های فلورسنت با شدت نور ۲۶۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه ($\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$) استفاده شد. شرایط عملیاتی فتوبیوراکتور در pH برابر ۸/۹، دمای ۲۵°C و سرعت هوادهی برابر ۸ لیتر بر دقیقه است. بعد از اتمام منبع نیتروژن در محیط کشت جلبک، به‌منظور افزایش تجمع کربوهیدرات در ریزجلبک، دی‌اکسید کربن با دبی ۰/۲ لیتر بر دقیقه در شرایط قحطی نیتروژن به محیط کشت جلبک به‌مدت یک هفته خوراک‌دهی شد. در شکل ۱- ج تصویر از گونه‌های غالب درون فتوبیوراکتور در پایان روز ۳۷ (قبل از برداشت جلبک) نشان داده شده است. بعد از برداشت ریزجلبک، عملیات خشک‌کردن و پودرسازی ریزجلبک انجام شد. برای تمام آزمایشات، پودر جلبک به‌دست‌آمده مورد استفاده قرار گرفت.



الف



ب



ج

شکل ۱ الف- تصویر میکروسکوپی از گونه‌های موجود در این نمونه آب‌های برکه، ب- تصویر فتوبیوراکتورهای ساخته‌شده در این تحقیق، ج- تصویر میکروسکوپی از گونه‌های موجود در فتوبیوراکتور در پایان روز ۳۷ و قبل از برداشت جلبک (تصاویر میکروسکوپی با بزرگنمایی ۴۰×)

۲-۲- هیدرولیز آنزیمی زیست‌توده ریزجلبک: بعد از عملیات کشت، برداشت و خشک‌نمودن زیست‌توده جلبک، فرآیند استخراج قند از ریزجلبک با استفاده از روش هیدرولیز آنزیمی انجام شد. فرآیند هیدرولیز آنزیمی با استفاده از آنزیم سلولاز تولیدی از قارچ *تریکودرما رسی* (*Trichoderma reesei*) با فعالیت آنزیمی

رشد مخصوص (h^{-1}) و K_S ضریب ثابت اشباع رشد (گرم بر لیتر) است. در شرایطی که غلظت گلوکز و محصول بیواتانول به دست آمده مانع رشد مخمر باشد، معادله موند با استفاده از مدل اندرو و لول/اشپیل به صورت زیر نوشته می‌شود (معادله ۳) [14]:

$$\mu = \left(\frac{\mu_{\max} S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_{IS}}} \right) \cdot \left(1 - \frac{E}{E_{X,\max}} \right)^\alpha$$

همچنین سرعت مخصوص تولید بیواتانول و سرعت رشد مخمر با استفاده از مدل مذکور به صورت معادلات زیر بیان می‌شوند (معادلات ۴ و ۵):

$$q_E = \left(\frac{q_{\max} S}{K_{SE} + S + \frac{S^2}{K_{IE}}} \right) \cdot \left(1 - \frac{E}{E_{E,\max}} \right)^\beta$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X$$

با جایگذاری معادله ۳ در معادله ۵، این معادله به صورت زیر بازنویسی می‌شود (معادله ۶):

$$\frac{dX}{dt} = X \cdot \left(\frac{\mu_{\max} S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_{IS}}} \right) \cdot \left(1 - \frac{E}{E_{X,\max}} \right)^\alpha$$

سرعت تولید

بیواتانول را با معادله زیر می‌توان نشان

داد (معادله ۷):

$$\frac{dE}{dt} = q_E \cdot X$$

با جایگذاری معادله ۴ در معادله ۷، این معادله به صورت زیر بازنویسی می‌شود (معادله ۸):

$$\frac{dE}{dt} = X \cdot \left(\frac{q_{\max} S}{K_{SE} + S + \frac{S^2}{K_{IE}}} \right) \cdot \left(1 - \frac{E}{E_{E,\max}} \right)^\beta$$

همچنین با توجه به اینکه مصرف گلوکز برای تولید بیواتانول، رشد و تداوم حیات مخمر مورد نیاز است، سرعت مصرف گلوکز به صورت معادله زیر نوشته می‌شود (معادله ۹):

$$\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \left(\frac{dX}{dt} \right) + \frac{1}{Y_{E/S}} \cdot \left(\frac{dE}{dt} \right) + m \cdot X$$

در این روابط K_{SE} برابر ضریب ثابت اشباع بیواتانول (گرم بر لیتر)، K_{IE} ضریب ثابت مهار بیواتانول (گرم بر لیتر)، K_{IS} ضریب ثابت مهار گلوکز (گرم بر لیتر)، X غلظت زیست‌توده مخمر (گرم بر لیتر)، S غلظت گلوکز (گرم بر لیتر)، E غلظت اتانول (گرم بر لیتر)، $E_{X,\max}$ بیشترین حد غلظت بیواتانول برای رشد مخمر (گرم بر لیتر)، $E_{E,\max}$ بیشترین حد غلظت اتانول برای تولید اتانول (گرم بر لیتر)، q_E سرعت مخصوص تولید بیواتانول (گرم اتانول بر گرم گلوکز بر ساعت)، q_{\max} بیشترین سرعت مخصوص تولید بیواتانول (گرم اتانول بر گرم گلوکز بر ساعت)، $Y_{E/S}$ بهره اتانول بر گرم اتانول بر گرم گلوکز و $Y_{X/S}$ بهره رشد گرم زیست توده مخمر بر گرم گلوکز، m ضریب تداوم حیات مخمر (h^{-1}) هستند. همچنین ضرایب α و β

ضرایب مهار (گرم بر لیتر) هستند.

در این تحقیق، برنامه اکوسیم برای مدل‌سازی فرآیند تولید بیواتانول از محصولات هیدرولیز ریزجلبک مورد استفاده قرار گرفت. نرم‌افزار اکوسیم [15] یک برنامه بسیار کارا به خصوص در سیستم‌های زیست‌محیطی با قابلیت کاربری آسان و انعطاف زیاد بوده که علاوه بر انجام شبیه‌سازی و آرایه نمودارهای مورد لزوم دارای روش‌هایی برای برآورد پارامترها و تجزیه و تحلیل عدم اطمینان است. مقادیر پارامترهای سینتیکی مدل، توسط نرم‌افزار اکوسیم با مینیمم‌نمودن مقدار $\chi^2(m)$ بین نتایج تجربی و پیش‌بینی مدل به دست آورده می‌شود (معادله ۱۰):

$$\chi^2(m) = \sum_{i=1}^n \left(\frac{X_{\text{exp},i} - X_i(m)}{\sigma_{\text{exp},i}} \right)^2$$

در این رابطه $X_i(m)$ مقدار تجربی و مقدار پیش‌بینی مدل، $\sigma_{\text{exp},i}$ انحراف معیار، m پارامتر مدل و n تعداد داده‌های تجربی است.

۳- نتایج و بحث

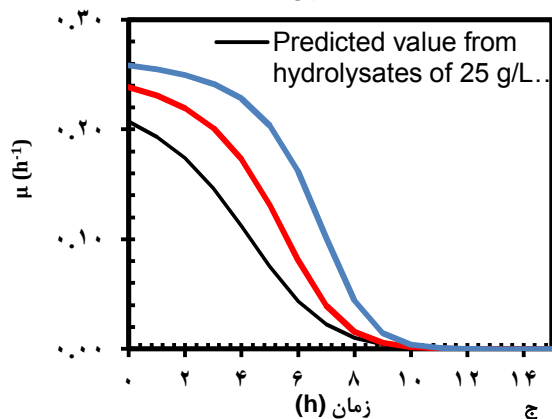
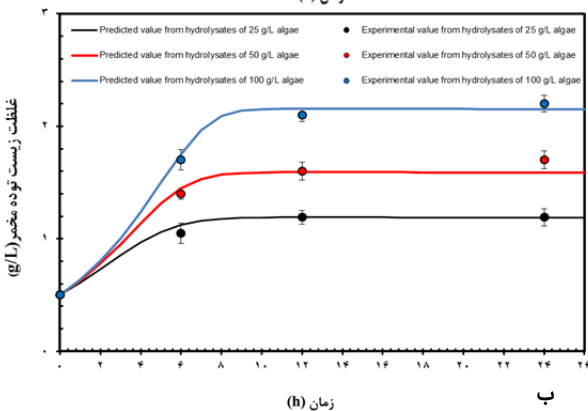
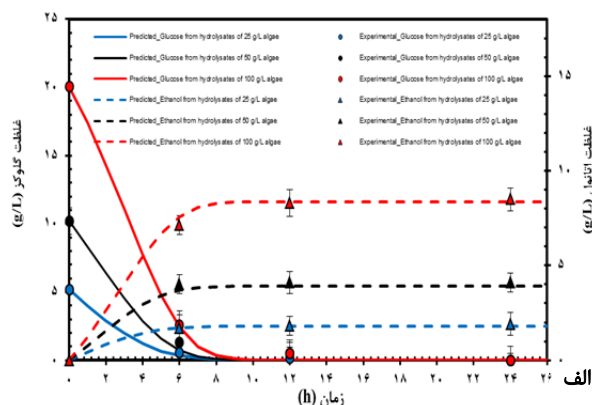
۳-۱- رشد و ذخیره کربوهیدرات در ریزجلبک

نتایج حاصل از رشد ریزجلبک نشان داد غلظت بیومس جلبک در طول ۳۷ روز از (۱۰/۱۰ گرم بر لیتر) به (۲۰/۰۵ گرم بر لیتر) افزایش می‌یابد. همچنین مقدار خاکستر، جرم آلی معلق و کربوهیدرات در جلبک در پایان روز ۳۷ مقادیر ۰/۴۹، ۱/۵۶، ۰/۴۳ گرم بر لیتر اندازه‌گیری شدند. بنابراین مقدار کربوهیدرات ذخیره‌شده در ریزجلبک برابر ۲۷٪ براساس جرم آلی معلق است. همچنین، بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داد که در روز سی‌ام، منبع نیترات به اتمام رسیده و ذخیره کربوهیدرات در ریزجلبک‌ها در پاسخ به قحطی نیتروژن در طول ۷ روز از ۱۴٪ به ۲۷٪ براساس جرم آلی معلق (تقریباً دو برابر مقدار اولیه) افزایش می‌یابد. این روند با نتایج تحقیقات دیگر که از کشت خالص جلبک در شرایط قحطی نیتروژن به‌منظور افزایش تجمع کربوهیدرات‌ها استفاده کرده‌اند، سازگاری دارد [16, 17].

انتخاب کشت خالص جلبک، احتمال آلودگی سیستم به گونه‌های مهاجم را افزایش می‌دهد که می‌تواند سبب پایین آمدن نرخ بهره‌وری شود. بنابراین فرآیند گونه‌محور، با چالش‌های بزرگی همراه است. موجی و همکاران [10] در سال ۲۰۱۳، برای اولین بار نظریه بقایای چاق‌ترین، در کشت‌های مختلط جلبک را ارائه کردند و برای اولین بار به تولید مواد ذخیره‌ای ریزجلبکی در کشت مختلط پرداختند. نظریه بقایای چاق‌ترین، به‌جای انتخاب گونه ذخیره‌کننده مناسب و "گونه‌محور" بودن، بر مشخصه تولید مواد ذخیره‌ای استوار است [10]. آنها با فراهم آوردن یک "محیط انتخابی" به تجمع مواد ذخیره‌ای در کشت مختلط ریزجلبک پرداختند. اساس کار آنها بر نقش اکولوژیکی ماده ذخیره‌ای استوار است، به این معنا که هر گونه‌ای که توانایی ذخیره داشته باشد در سیستم باقی می‌ماند [10]. این موضوع، به‌طور وسیعی پذیرفته شده است که ریزجلبک‌ها در شرایط قحطی مواد ضروری برای رشدشان، اقدام به تولید مواد ذخیره‌ای می‌کنند. بنابراین، قحطی سیکیلی یک عنصر ضروری رشد، می‌تواند اساس غربالگری گونه‌های ذخیره‌کننده باشد. اگر یکی از مواد مغذی از محیط کشت جلبک حذف شود، ریزجلبک استراتژی متابولیسمی خود را با تغییر در ترکیب زیست‌توده، تغییر می‌دهد. در اکثر موارد، تغییر در ترکیب درصد زیست‌توده، مربوط به تجمع کربوهیدرات و لیپید است [18]. در این تحقیق نیز، کاهش در تعداد

بررسی سینتیک فرآیند تولید بیواتانول از محصولات هیدرولیز آنزیمی زیست‌توده ریز جلبک ۶۵ بیشتری در مرحله بعدی یعنی تقطیر، مورد نیاز است، که این امر باعث افزایش هزینه‌های عملیاتی فرآیند خواهد شد. نهایتاً، بعد از اتمام فرآیند هیدرولیز آنزیمی در سه غلظت متفاوت ریزجلبک (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم بر لیتر)، مقدار گلوکز در محیط هیدرولیز به ترتیب مقادیر ۵/۱۸، ۱۰/۲ و ۲۰/۰۵ گرم بر لیتر اندازه‌گیری شدند. سپس محصولات هیدرولیز آنزیمی، تحت آزمایشات تخمیر قرار می‌گیرند.

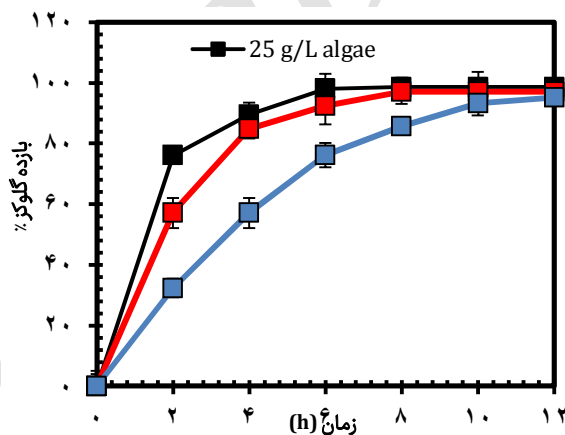
۳-۳- سینتیک تولید بیواتانول: محصولات هیدرولیز آنزیمی به دست آمده از مرحله قبل که به ترتیب دارای مقادیر غلظت گلوکز برابر با ۵/۱۸، ۱۰/۲ و ۲۰/۰۵ گرم بر لیتر هستند، توسط مخمر *ساکارومایسس سروزیا* تخمیر می‌شوند. برای محاسبه پارامترهای سینتیک، در بازه‌های زمانی ۶ ساعت، نمونه‌هایی از محیط تخمیر برداشته شده و غلظت مخمر، گلوکز و اتانول اندازه‌گیری می‌شود (نمودار ۲).



نمودار ۲ مقادیر تجربی و مدل‌سازی (الف) غلظت گلوکز و اتانول، (ب) غلظت زیست‌توده مخمر، (ج) سرعت رشد مخمر (μ) به ازای محصولات هیدرولیز ریزجلبک در سه غلظت اولیه (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم بر لیتر)

گونه‌های ریزجلبک در محیط کشت، در تصاویر میکروسکوپی در شکل (۱- الف و ج) همراه با افزایش ذخیره کربوهیدرات‌ها، در پاسخ به قحطی نیتروژن مشاهده شد. نهایتاً در روز ۳۷، بیوراکتورها تخلیه می‌شوند. سپس ریزجلبک، خشک شد و پودر جلبک برای تمام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت.

۳-۲- هیدرولیز آنزیمی زیست‌توده ریزجلبک: غلظت اولیه زیست‌توده ریزجلبک، پارامتر مهمی در فرآیند هیدرولیز آنزیمی است. با افزایش بیش از حد غلظت اولیه زیست‌توده ریزجلبک به دلیل افزایش ویسکوزیته محلول، فرآیند هیدرولیز متوقف خواهد شد^[19]. بنابراین، به منظور بررسی اثر غلظت اولیه زیست‌توده ریزجلبک در فرآیند هیدرولیز آنزیمی، مقادیر غلظت‌های گلوکز در محیط هیدرولیز آنزیمی، به ازای سه غلظت اولیه زیست‌توده ریزجلبک (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم بر لیتر) و مقادیر ثابت غلظت‌های آنزیم، با گذشت زمان اندازه‌گیری شدند. نمونه‌ها از محیط هیدرولیز آنزیمی ریزجلبک در بازه‌های زمانی ۲ ساعت برداشته و غلظت گلوکز اندازه‌گیری شد و با استفاده از رابطه ۱ بازده استخراج گلوکز به دست آمد (نمودار ۱).



نمودار ۱ بازده استخراج گلوکز از ریزجلبک، به ازای سه غلظت اولیه زیست‌توده ریزجلبک (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم بر لیتر)

با توجه به اینکه اکثر کربوهیدرات‌ها در ریزجلبک به طور عمدی به صورت سلولز و نشاسته هستند^[4]، بنابراین در این تحقیق، از آنزیم‌های سلولاز و آمیلاز استفاده شد. آنزیم‌های سلولاز و آمیلاز، به ترتیب سلولز و نشاسته موجود در ریزجلبک را به صورت قند گلوکز هیدرولیز می‌نمایند. نتایج نشان دادند که به ازای غلظت زیست‌توده ریزجلبک برابر ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم بر لیتر، بازده تولید گلوکز بعد از گذشت مدت زمان به ترتیب ۶، ۸ و ۱۲ ساعت، به مقادیر نهایی می‌رسند. براساس نتایج، وقتی غلظت زیست‌توده ریزجلبک از ۲۵ به ۵۰ گرم بر لیتر افزایش می‌یابد، بازده تولید گلوکز بعد از مدت زمان ۸ ساعت، از مقدار ۹۸/۶۶٪ به ۹۷/۱۴٪ کاهش می‌یابد، در حالی که افزایش غلظت زیست‌توده ریزجلبک از ۵۰ به ۱۰۰ گرم بر لیتر، بازده تولید گلوکز از ۹۷/۱۴٪ به ۸۵/۷۱٪ کاهش می‌یابد. بنابراین با توجه به مقادیر تقریباً یکسان بازده گلوکز در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ گرم بر لیتر و برای دستیابی به غلظت‌های بیشتری از قندهای قابل تخمیر در محیط هیدرولیز جلبک، غلظت زیست‌توده ۵۰ گرم بر لیتر را می‌توان به عنوان غلظت بهینه انتخاب نمود. افزایش غلظت قندهای قابل تخمیر در محیط هیدرولیز یکی از چالش‌های مهم برای اقتصادی نمودن فرآیند تولید بیواتانول است. در شرایطی که غلظت اتانول در نتیجه تخمیر قندها، مقادیر کمی باشد، انرژی

۴۷/۵۱ گرم بر لیتر^[14]، ۲۵ گرم بر لیتر^[28] و ۸۶/۸۶ گرم بر لیتر^[20] است. تفاوت در مقدار عددی K_S ممکن است به نوع سوبسترا و نوع گونه مخمر به کاررفته بستگی داشته باشد^[29].

مقدار ضریب $E_{X, max}$ برابر با ۸۳/۵ گرم بر لیتر به دست آمد، که این مقدار، به مقادیر عددی به دست آمده توسط تحقیقات دیگر بسیار نزدیک است^[21, 22]. از سوی دیگر، مقدار $E_{E, max}$ برابر با ۸۲/۱ گرم بر لیتر به دست آمد که این مقدار نیز نزدیک به مقادیر عددی گزارش شده توسط *آریاجارونوئنگ* و همکاران^[14] و جی و همکاران^[23] است. همچنین، مقدار ضریب تداوم حیات مخمر (m) برابر مقدار ثابت $0.001 h^{-1}$ به دست آمد، زیرا این پارامتر تاثیر اندکی بر پیش‌بینی مدل در رشد مخمر دارد. این مقدار، با مقادیر عددی به دست آمده توسط تحقیقات دیگر تطابق مناسبی دارد^[14, 23].

در نمودار ۲ (الف و ب) مقایسه مقادیر تجربی و مدل‌سازی غلظت‌های گلوکز، اتانول و زیست‌توده مخمر، به‌ازای محصولات هیدرولیز ریزجلبک در سه غلظت اولیه (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم بر لیتر) نشان داده شده است. همچنین شدت رشد مخمر (μ) به‌ازای محصولات هیدرولیز آنزیمی ریزجلبک در سه غلظت مذکور در نمودار ۲ (ج) نشان داده شده است.

چنان که در نمودار ۲ (الف) مشاهده می‌شود، سرعت مصرف گلوکز و تولید اتانول با افزایش غلظت اولیه سوبسترای گلوکز در محدوده مورد مطالعه، افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه مقدار عددی به‌دست آمده K_S زیاد بوده، و از سوی دیگر، غلظت‌های گلوکز در محیط تخمیر چندان بالا نیست. بنابراین، در شرایط مورد مطالعه، محدودیت سوبسترا وجود داشته و افزایش غلظت اولیه سوبسترا در محیط تخمیر، امری مطلوب است. این نتایج، با نتایج تحقیق جی و همکاران^[23] که از گلوکز خام به‌عنوان سوبسترای اولیه در محیط کشت تخمیری استفاده نمودند، تطابق مناسبی دارد. با این وجود، غلظت‌های خیلی بالاتر گلوکز، ممکن است موجب کاهش سرعت تولید اتانول شود، که این امر به‌دلیل اثر بازدارندگی سوبسترای گلوکز است^[23]. رابطه ضریب بازدارندگی (K_{IE}) با مجذور غلظت سوبسترا (S^2) در معادله ۴ نیز نشان می‌دهد که در غلظت‌های خیلی بالاتر سوبسترا، از تاثیر بازدارندگی سوبسترا بر سرعت مخصوص تولید اتانول (q_E)، نمی‌توان صرف نظر نمود.

همچنین، نمودار ۲ (ب و ج) نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اولیه سوبسترای گلوکز از مقدار ۵/۱۸ به ۲۰/۰۵ گرم بر لیتر در محیط تخمیر، سرعت رشد مخمر نیز افزایش می‌یابد. این امر نیز با توجه به شرایط محدودیت سوبسترا، که در محیط تخمیر وجود دارد، قابل توجیه است. این نتایج با تحقیقات پیشین انجام‌شده توسط *آریاجارونوئنگ* و همکاران^[14] و نیز *لاپاییون* و همکاران^[30] تطابق دارد. *لاپاییون* و همکاران^[30] تولید بیواتانول را از عصاره مخمر-عصاره مالت (YM) با استفاده از مخمر *ساکارومایسس سروزیا* بررسی نمودند. آنها به نتیجه رسیدند که وقتی غلظت گلوکز در محیط تخمیر از ۱۰ به ۲۴۰ گرم بر لیتر افزایش می‌یابد، سرعت رشد مخمر نیز افزایش می‌یابد. با این وجود غلظت‌های بالاتر گلوکز ممکن است باعث کاهش سرعت رشد مخمر شود، که این امر ممکن است، به‌دلیل فشار اسمزی یا اثر بازدارندگی سوبسترا باشد^[31]. همچنین، ارتباط ضریب بازدارندگی (K_{IS}) با مجذور غلظت سوبسترا (S^2) در رابطه ۶، نیز نشان می‌دهد که از تاثیر بازدارندگی سوبسترا بر سرعت رشد مخمر در غلظت‌های خیلی بالاتر سوبسترا، نمی‌توان چشم‌پوشی نمود.

همین‌طور با توجه به مقدار به‌دست آمده α ، می‌توان تاثیر غلظت

در این تحقیق، مدل‌سازی فرآیند تولید بیواتانول از محصولات هیدرولیز آنزیمی ریز جلبک، با استفاده از برنامه اکوسیم انجام شد و نتایج حاصل از آن با نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش‌ها مقایسه و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقادیر پارامترهای سینتیکی مدل، توسط نرم‌افزار اکوسیم با مینیمم‌نمودن مقدار $\chi^2(m)$ بین نتایج تجربی و پیش‌بینی مدل به دست آمد. در تحقیقات مقایسه‌شده با تحقیق حاضر، از موادی مانند گلوکز خام^[20-23]، عصاره نیشکر^[24]، عصاره ذرت خوشه‌ای شیرین^[14]، عصاره ساقه ذرت خوشه‌ای شیرین^[25] به‌عنوان سوبسترای اولیه برای تخمیر استفاده شده است.

همان‌طور در جدول ۱ مشاهده می‌شود که مقایسه پارامترهای سینتیکی به‌دست‌آمده در این تحقیق، با ضرایب به‌دست‌آمده در تحقیقات دیگر، تطابق قابل قبولی دارد. مقدار $\chi^2(m)$ با مقایسه مقادیر آزمایشگاهی و مقادیر حاصل از پیش‌بینی مدل برابر ۴/۲۵ محاسبه شد، بنابراین تطابق بسیار خوبی بین نتایج مدل و نتایج آزمایشگاهی وجود دارد. مخمر، گلوکز و سایر مواد مغذی موجود در محیط هیدرولیز آنزیمی ریزجلبک را، به‌منظور رشد و تولید بیواتانول مصرف می‌نماید. بازده تولید زیست‌توده مخمر از گلوکز ($Y_{X/S}$) برابر ۰/۴۸ گرم بیومس بر گرم گلوکز به دست آمد. این مقدار، برابر مقدار به‌دست‌آمده از تحقیق *آریاجارونوئنگ* و همکاران^[14] است. از سوی دیگر، این مقدار با مقدار به‌دست‌آمده از تحقیق *لاپاییون* و همکاران^[24] که از عصاره نیشکر به‌عنوان سوبسترای اولیه به‌منظور تخمیر استفاده نمودند، نیز تطابق قابل قبولی دارد.

جدول ۱ مقایسه پارامترهای سینتیکی به‌دست‌آمده از این تحقیق با مقادیر به‌دست‌آمده از تحقیقات دیگر

پارامترها	نتایج تحقیق حاضر	نتایج تحقیقات دیگر
حداکثر سرعت رشد مخصوص (h^{-1})	۰/۲۸۱	۰/۳۱۳ ^[14]
ضریب ثابت اشباع رشد (گرم بر لیتر)	۱/۸۰	۱/۸۶ ^[20] ، ۴۷/۵۱ ^[14]
بیشترین حد غلظت بیواتانول برای رشد مخمر (گرم بر لیتر)	۸۳/۵	۸۳/۵ ^[14] ، ۱۱۲ ^[21] ، ۱۰۷ ^[22]
بیشترین حد غلظت اتانول برای تولید اتانول (گرم بر لیتر)	۸۲/۱	۱۰۷/۷۹ ^[14] ، ۱۲۵ ^[23]
ضریب ثابت اشباع بیواتانول (گرم بر لیتر)	۲۸/۳۹	۲۸/۳۹ ^[14] ، ۲۰/۰۱۶ ^[26]
ضریب ثابت مهار گلوکز (گرم بر لیتر)	۳۰۸/۱۳	۳۰۸/۱۳ ^[14] ، ۲۹۰/۰۰۳ ^[26]
ضریب ثابت مهار بیواتانول (گرم بر لیتر)	۲۹۹/۶۷	۲۹۹/۶۷ ^[14] ، ۳۶۶/۷ ^[23]
ضریب تداوم حیات مخمر (h^{-1})	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱ ^[14] ، ۰/۰۳۱ ^[26]
بیشترین سرعت مخصوص تولید بیواتانول (گرم اتانول بر گرم گلوکز بر ساعت)	۵/۶۶	۳/۶۹ ^[14] ، ۱/۹۱۵۷ ^[25]
ضریب مهار	۱/۵۳	۱/۵۳ ^[14] ، ۳/۴۸ ^[23]
ضریب مهار	۱/۵۳	۱/۵۳ ^[14] ، ۱/۷۲ ^[23]
بهره رشد (گرم زیست‌توده مخمر بر گرم گلوکز)	۰/۴۸	۰/۴۸ ^[14] ، ۰/۵ ^[24]
بهره اتانول (گرم اتانول بر گرم گلوکز)	۰/۵۰	۰/۲۳۵ ^[26] ، ۰/۵۰ ^[14]

همچنین مقدار حداکثر سرعت رشد مخصوص (μ_{max}) برابر h^{-1} ۰/۲۸۱^۱ به دست آمد، که در بازه ($0.259-0.463 h^{-1}$) که در تحقیقات دیگر نیز^[24-27] گزارش شده است. ثابت اشباع رشد موند (K_S) مقدار ۱/۸ گرم بر لیتر به دست آمد که کمتر از مقادیر

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: هانیه شکرکار (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۷۰٪)؛ سیروس ابراهیمی (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی (۳۰٪)

منابع مالی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

منابع

- 1- He Y, Wang Sh, Lai KK. Global economic activity and crude oil prices: A cointegration analysis. *Energy Econ*. 2010;32(4):868-76.
- 2- Nigam PS, Singh A. Production of liquid biofuels from renewable resources. *Prog Energy Combust Sci*. 2011;37(1):52-68.
- 3- Stephenson AL, Dennis JS, Scott SA. Improving the sustainability of the production of biodiesel from oilseed rape in the UK. *Process Saf Environ Prot*. 2008;86(6):427-40.
- 4- Ho SH, Huang SW, Chen CY, Hasunuma T, Kondo A, Chang JS. Bioethanol production using carbohydrate-rich microalgae biomass as feedstock. *Bioresour Technol*. 2013;135:191-8.
- 5- Mata TM, Martins AA, Caetano NS. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew Sustain Energy Rev*. 2010;14(1):217-32.
- 6- Mitchell WJ, Slaughter JC. *Biology and biochemistry for chemists and chemical engineers*. Horwood: Ellis Horwood; 1989.
- 7- Harun R, Danquah MK. Influence of acid pre-treatment on microalgal biomass for bioethanol production. *Process Biochem*. 2011;46(1):304-9.
- 8- Harun R, Danquah MK, Forde GM. Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production. *J Chem Technol Biotechnol*. 2010;85(2):199-203.
- 9- Hassanpour M, Abbasabadi M, Ebrahimi S, Hosseini M, Sheikhabaglou A. Gravimetric enrichment of high lipid and starch accumulating microalgae. *Bioresour Technol*. 2015;196:17-21.
- 10- Mooij PR, Stouten GR, Tamis J, Van Loosdrecht MCM, Kleerebezem R. Survival of the fattest. *Energy Environ Sci*. 2013;6(12):3404-6.
- 11- Shokrkar H, Ebrahimi S, Zamani M. Bioethanol production from acidic and enzymatic hydrolysates of mixed microalgae culture. *Fuel*. 2017;200:380-6.
- 12- Shokrkar H, Ebrahimi S. Evaluation of different enzymatic treatment procedures on sugar extraction from microalgal biomass, experimental and kinetic study. *Energy*. 2018;148:258-68
- 13- Cataldo DA, Maroon M, Schrader LE, Youngs VL. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant-tissue by nitration of salicylic-acid. *Commun Soil Sci Plant Anal*. 1975;6(1):71-80.
- 14- Ariyajaroenwong P, Laopaiboon P, Salakkam A, Srinophakun P, Laopaiboon L. Kinetic models for batch and continuous ethanol fermentation from sweet sorghum juice by yeast immobilized on sweet sorghum stalks. *J Taiwan Inst Chem Eng*. 2016;66:210-6.
- 15- Wanner O, Reichert P. Mathematical modeling of mixed-culture biofilms. *Biotechnol Bioeng*. 1996;49(2):172-84.

اتانول بر سرعت رشد مخمر را مورد بررسی قرار داد. در این تحقیق، مقدار α ، $1/53$ به دست آمد، که مقداری بزرگ‌تر از یک است. با توجه به رابطه ۳، مقادیر بزرگ‌تر از یک α ، نشان‌دهنده یک افت آهسته در سرعت رشد مخمر با افزایش غلظت اتانول در محیط تخمیر و سپس در ادامه یک افت سریع در سرعت رشد مخمر به صفر، است [21]. در تحقیق لانگ و همکاران [21] تاثیر پارامتر α در سه حالت ($\alpha=1$ ، $\alpha>1$ و $\alpha<1$) بر سرعت رشد مخمر در برابر غلظت اتانول، نشان داده شده است.

اگر چه، مطالعات سینتیکی تولید اتانول در محیط‌های کشت متداول به‌منظور تخمیر، در تحقیقات زیادی قبلاً انجام شده است. اما در این تحقیق، رفتار سینتیکی مخمر در محیطی متفاوت با محیط‌های کشت متداول بررسی شده است. به‌منظور ایجاد این محیط، از قندهای قابل تخمیر که در نتیجه هیدرولیز آنزیمی گونه‌های مختلط ریزجلبک، به دست آمد، استفاده شد. مطالعات سینتیکی تخمیر محصولات هیدرولیز آنزیمی ریزجلبک، نشان داد که مدل سینتیکی به‌خوبی رفتار فرآیند را پیش‌بینی کرده است. مدل‌های سینتیکی به‌دلیل استفاده از معادلات سرعت، امکان پیش‌بینی غلظت‌ها در انواع راکتورها و نیز راکتورها با حجم‌های مختلف را به ما می‌دهند، که این از مزایای بررسی سینتیکی فرآیند است. همچنین، با توجه به مطالعه سینتیکی انجام‌شده در شرایط ناپیوسته در این تحقیق، می‌توان، با نوشتن معادلات موازنه جرم، از این مدل سینتیکی برای حالت‌های پیوسته، نیز استفاده نمود. بنابراین، استفاده از مدل سینتیکی به‌دست‌آمده، می‌تواند نقطه شروع مناسبی برای طراحی واحدهای صنعتی باشد. از محدودیت‌های مطالعه حاضر، عدم انجام مدل‌سازی فرآیند تخمیر در شرایط پیوسته است. بنابراین، پیشنهاد می‌شود تا در مطالعات آینده بعد از انجام شرایط آزمایشگاهی تخمیر در شرایط پیوسته، مدل‌سازی فرآیند نیز انجام شود.

۴- نتیجه‌گیری

در این تحقیق به‌منظور تولید بیواتانول از ریزجلبک، از گونه‌های مختلط ریزجلبک استفاده شد نتایج نشان داد تجمع کربوهیدرات در ریزجلبک در پاسخ به قحطی نیتروژن در طول ۷ روز به دو برابر مقدار اولیه خود افزایش می‌یابد. بعد از عملیات برداشت و خشک‌نمودن ریزجلبک‌ها، فرآیند استخراج قند از ریزجلبک با استفاده از هیدرولیز آنزیمی انجام شد. آنزیم‌های سلولاز و آمیلاز، به‌ترتیب سلولز و نشاسته موجود در ریزجلبک را به‌صورت قند گلوکز هیدرولیز نمودند. با توجه به تاثیر مهم غلظت اولیه زیست‌توده ریزجلبک در فرآیند هیدرولیز آنزیمی، مقادیر بازده استخراج گلوکز، به‌ازای سه غلظت اولیه زیست‌توده ریزجلبک (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم بر لیتر) بررسی شد. براساس نتایج غلظت زیست‌توده ۵۰ گرم بر لیتر به‌عنوان غلظت بهینه انتخاب شد. بعد از استخراج قندها از ریزجلبک، بررسی سینتیکی فرآیند تولید بیواتانول از محصولات هیدرولیز آنزیمی با استفاده از نرم‌افزار اکوسیم صورت گرفت. نتایج مدل‌سازی نشان داد که مدل سینتیکی به‌خوبی رفتار فرآیند را پیش‌بینی کرده است.

تشکر و قدردانی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

تاییدیه اخلاقی: اینجانب سیروس ابراهیمی مقاله با عنوان بررسی سینتیکی فرآیند تولید بیواتانول از محصولات هیدرولیز آنزیمی زیست‌توده ریزجلبک را برای چاپ به‌عنوان مقاله علمی- پژوهشی ارسال نموده و تعهد می‌نمایم مفاد علمی این مقاله تاکنون در هیچ

- Bioprocess Eng. 1999;20(6):525-30.
- 25- Jin H, Liu R, He Y. Kinetics of batch fermentations for ethanol production with immobilized *Saccharomyces cerevisiae* growing on sweet sorghum stalk juice. *Procedia Environ Sci.* 2012;12(Pt A):137-45.
- 26- Thangprompan P, Thanapimmetha A, Saisriyoot M, Laopaiboon L, Srinophakun P. Production of ethanol from sweet sorghum juice using VHG technology: A simulation case study. *Appl Biochem Biotechnol.* 2013;171(2):294-314.
- 27- Chen LJ, Xu YL, Bai FW, Anderson WA, Moo-Young M. Observed quasi-steady kinetics of yeast cell growth and ethanol formation under very high gravity fermentation condition. *Biotechnol Bioprocess Eng.* 2005;10(2):115-21.
- 28- Manikandan K, Saravanan V, Viruthagiri T. Kinetics studies on ethanol production from banana peel waste using mutant strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Indian J Biotechnol.* 2008;7(1):83-8.
- 29- Felix E, Clara O, Vincent AO. A kinetic study of the fermentation of cane sugar using *Saccharomyces cerevisiae*. *Open J Phys Chem.* 2014;4(1):26-31.
- 30- Laopaiboon L, Nuanpeng S, Srinophakun P, Klanrit P, Laopaiboon P. Selection of *Saccharomyces cerevisiae* and investigation of its performance for very high gravity ethanol fermentation. *Biotechnology.* 2008;7(3):493-8.
- 31- Ingledew WM. Alcohol production by *Saccharomyces cerevisiae*: A yeast primer. In: Jacques KA, Lyons TP, Kelsall DR, editors. *The alcohol textbook: A reference for the beverage, fuel and industrial alcohol industries.* 3rd Edition. Nottingham: Nottingham University Press; 1999. pp. 49-87.
- 16- Yao C, Ai J, Cao X, Xue S, Zhang W. Enhancing starch production of a marine green microalga *Tetraselmis subcordiformis* through nutrient limitation. *Bioresour Technol.* 2012;118:438-44.
- 17- Brányiková I, Maršálková B, Doucha J, Brányik T, Bišová K, Zachleder V, et al. Microalgae--novel highly efficient starch producers. *Biotechnol Bioeng.* 2011;108(4):766-76.
- 18- Markou G, Angelidaki I, Georgakakis D. Microalgal carbohydrates: An overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2012;96(3):631-45.
- 19- Harun R, Danquah MK. Enzymatic hydrolysis of microalgal biomass for bioethanol production. *Chem Eng J.* 2011;168(3):1079-84.
- 20- Wöhrer W. A horizontal bioreactor for ethanol production by immobilized cells. *Bioprocess Eng.* 1989;4(3):105-11.
- 21- Luong JH. Kinetics of ethanol inhibition in alcohol fermentation. *Biotechnol Bioeng.* 1985;27(3):280-5.
- 22- Thatipamala R, Rohani S, Hill GA. Effects of high product and substrate inhibitions on the kinetics and biomass and product yields during ethanol batch fermentation. *Biotechnol Bioeng.* 1992;40(2):289-97.
- 23- Ge XM, Bai FW. Intrinsic kinetics of continuous growth and ethanol production of a flocculating fusant yeast strain SPSC01. *J Biotechnol.* 2006;124(2):363-72.
- 24- Oliveira SC, De Castro HF, Visconti AES, Giudici R. Continuous ethanol fermentation in a tower reactor with flocculating yeast recycle: Scale-up effects on process performance, kinetic parameters and model predictions.