تأثیر جیبرلیک اسید و سبوس برنج بر تولید اتانول از ملاس و شربت نیشکر

سعید آزاده*[1]، مسعود شعبانی[2]
کارشناس میکروبیولوژی ، شرکت توسعه نیشکر و صنایع جانبی ، اداره آموزش صنعت
کارشناس مهندسی شیمی ، شرکت توسعه نیشکر و صنایع جانبی ، اداره آموزش صنعت
sa498@yahoo.com

نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران
دانشگاه علم و صنعت ایران
۳-۵ آذر ماه ۱۳۸۳

چکیده

در این بررسی اثر محرک جیبرلیک اسید و سبوس برنج در تولید اتانول با استفاده از ملاس و شربت نیشکر بعنوان سوبسترا مورد مطالعه قرار گرفت.

ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا تروپیکالیس در این بررسی مورد استفاده قرار گرفتند. تخمیر ملاس و شربت نیشکر تکمیل شده با ۰/۸ – ۰/۴ ٪ سبوس برنج و ppm ۴-۱ جیبرلیک اسید که با ساکارومایسس سرویزیه آغشته شده اند ، بصورت مشخصی نسبت به کنترل بالاتر بوده و الکل بیشتری تولید گردید. این نتایج بدست آمده با یکدیگر قابل مقایسه بودند اما بطور قابل مقایسه ای با کنترل تفاوت دارند. تمامی این تیمارها حاکی از تولید الکل به میزان ۱٪ بالاتر از میزان مورد انتظار بود.

تولید الکل توسط ملاس تکمیل شده با ۰/۸ ٪ سبوس برنج که با ساکارومایسس سرویزیه آغشته گردیده است برابر ۱۰/۵ ٪ بود که راندمان تخمیر آن برابر ۹۴/۹۵ ٪ می باشد ، از طرف دیگر اضافه نمودن ۲ppm جیبرلیک اسید تولید ۹/۷ ٪ الکل با راندمان تخمیری برابر ۸۸/۳۰ ٪ می کند.

اضافه نمودن ۲ppm جیبرلیک اسید و ۰/۸ ٪ سبوس برنج ، تولید الکل را با استفاده از ملاس و شربت نیشکر بعنوان سوبسترا ، تسهیل نموده و تولید آن را افزایش میدهد. افزایش در میزان تولید الکل بیش از میزان کنترل (شاهد) با استفاده از سبوس برنج و جیبرلیک اسید به عنوان مکمل غذایی در ملاس و شربت نیشکر به ترتیب در حدود ۲۵-۱۰ ٪ ، ۲۹-۲۰ ٪ ، ۲۰-۱۵ ٪ و ۱۳-۷ ٪ می باشد.

کلمات کلیدی: جیبرلیک اسید، سبوس برنج، اتانول، ملاس و شربت نیشکر، ساکارومایسس سرویزیه، کاندیدا تروپیکالیس

مقدمه

همواره هدف هر شرکت تولید کنندهٔ مواد تقطیری این است که با اقتصادی ترین روش بـه بـازدهٔ بـالایی از الکل در هر فرآیند تخمیر دست پیدا کند. میزان راندمان الکل به مقدار زیادی به بازدهٔ تخمیر وابسته است. بازدهٔ تخمیر عبارت است از نسبت واقعی الکل تولید شده به میزان مورد انتظار مبنی بر محتوی شکر مـواد اولیه. از لحاظ تئوری میزان تولید الکل مورد نظر ۹۵ ٪ می باشد ، که این اختلاف ۵٪ به جهت شکر مـورد استفاده برای تولید و تکثیر سلولهای مخمر و تولیدات جانبی تخمیر می باشد. اما با این حـال بـازدهٔ اغلـب شرکت های تقطیر کنندهٔ محلی در مجموع بین ۸۰ تا ۹۰ درصد می باشد. با ۹۵ درصدی کـه بعنـوان حـد بالای تولید مطرح گردید ، تقطیر کننده ها برای ۵ تا ۱۰ درصد افزایش در راندمان تخمیر تلاش می کننـد ، اما این موضوع به سازماندهی عوامل مختلفی نظیر pH ، کنترل دما ، خصوصیات ژنتیکی سـویهٔ مخمـر ، جمعیت سلول ها ، غلظت شکر (قند) ، حضور فاکتورهای رشد و رانـدمان تقطیـر بـستگی دارد. بـر اسـاس ادعای اغلب تقطیر کننده های شهری بعد از سازماندهی صحیح اغلب فاکتورهای ذکر شده در فوق ، عامـل محدود کننده ، خصوصیات سویهٔ مخمر در حضور عوامل رشد می باشد. مطالعات انجام گرفته بر روی شکر و محصولات جانبی آن ، اغلب با استفاده از الکل تولیدی توسط مخمر ، که نتایج رضایت بخشی در راندمان تولید الکل دارد ، انجام می گیرد. یکی از راههای نگهداری قابلیت تخمیری این مخمرها جهت تولید الکـل خالص ، آزمایش برخی از عوامل رشد است که تخمیر اتانول را تسهیل می نماید. در نتیجه ایـن بررسـی بـا اهداف ذیل انجام گرفت :

۱- تحقیق در مورد اثر سبوس برنج و جیبرلیک اسید در تولید الکل از ملاس و شربت نیشکر.

۲- سنجش میزان راندمان تخمیر.

مروری بر نوشته ها

چندین روش به منظور بهبود در تخمیر اتانول انجام گردیده است که یکی از آنها تخمیر با استفاده از جمعیت بیشتری از سلولها به قصد تسریع در عمل تخمیر می باشد. تخمیر اتانول بطور گسترده ای تحت تأثیر غلظت قند در محیط ، توانایی تخمیر مخمر در تولید الکل و حضور فاکتورهای رشد می باشد. بسیاری از محققین مشاهده کردند که جیبرلیک اسید و سبوس برنج ، موادی هستند که اثرات محرکی بر تولید الکل دارند.

حال میدانیم که جیبرلیک اسید اثری محرک بر میزان تخمیر مخمر دارد و همچنین سبوس برنج نیز میزان تخمیر اتانول را افزایش داده و مواد غذایی را که رشد مخمر را در حین فرآیند تقویت می کند ، فراهم می آورد

Wenderkofler و Hickey در سال ۱۹۵۴ در مورد ساکارومایسس سرویزیه چنین گزارش دادند که قابلیت تحمل پذیری این سویه در دامنهٔ ۴/۸۲ تا ۱۱/۵۸ درصد الکل نسبت به وزن محیط کشت می باشد.

Sumiki و Yabuta در سال ۱۹۳۹ توانستند جیبرلیک اسید را به عنوان ماده ای کریستالی که موجب رشد زیادتر اجزای گیاهان می گردد ، جداسازی نمایند. جیبرلیک اسید همانند هورمون رشد در گیاهان نابالغ که بیشتر و بیشتر بصورت ویژه در اغلب اجزای مهم و اختصاصی گیاهان، همچون قسمت های گلدار، برگهای جوان و دانه های در حال رشد عمل می نماید.

از برخی مطالعات چنین می توان دریافت که اضافه کردن مقدار کمی از سبوس برنج ، میزان تخمیر اتانول را افزایش می دهد. اضافه نمودن ۰/۲ ٪ (W/V) سبوس برنج به ملاس حاوی ۲۰ ٪ (W/V) کل شکر ، باعث می گردد که در چنین محیطی پس از ۳۰ ساعت گرماگذاری در ۳۰ درجه سانتیگراد در مقایسه با محیطی که سبوس برنج در آن وجود ندارد ، ۱/۲ ٪ (W/V) اتانول بیشتری تولید می گردد. سبوس برنج به عنوان یک مادهٔ تسهیل کنندهٔ مؤثر در تخمیر اتانول می باشد.

بنظر می رسد که ملاس حاصل از فرآیند کربناسیون از لحاظ برخی مواد و عناصر مغذی همچون منگنز ، منیزیم ، فسفر محلول و ویتامین های گروه B دچار کمبود باشد و به اندازهٔ کافی نمی تواند از رشد مخمرها پشتیبانی نماید ، بنابراین راندمان تولید اتانول کاهش می یابد. اضافه کردن ۱٪ (W/V) سبوس برنج به محیط می تواند تعداد مخمرها را سه برابر نسبت به قبل از آن افزایش دهد .اضافه نمودن ۰/۴٪ (W/V)سبوس برنج ، جهت تقویت رشد مخمر تا بیش از $1/10^8$ cell/ml culture در محیط کافی می باشد.

بررسی روش ها

از میان پنج سویه مخمر غذایی که در قسمت تحقیقات آزمایشگاه شکر و محصولات جانبی آن نگهداری می شدند ، کاندیدا تروپیکالیس در فرآیند سازش با محیط از خود واکنش مثبت نشان داده و توانست با محیط سازگاری خوبی پیدا کند.

بنابراین کاندیدا تروپیکالیس ، در حالیکه سایر سویه ها تولید بیومس کرده بودند ، راندمان خوبی از الکل نشان داد. در یک بررسی بواسطهٔ Central Azucarera de La Carlota ، ساکارومایسس سرویزیه در برخی از فرآیندهای مشابه ، مورد مطالعه قرار گرفت و توانست مقادیر بالایی الکل تولید نماید. ساکارومایسس سرویزیه ، سویه ای است که اغلب توسط تقطیر کننده های محلی مورد استفاده قرار می گیرد.

آماده سازی مواد اولیه

۱- ملاس

نمونه ای از ملاس را وزن کرده و با آب مقطر رقیق می کنیم تا محلولی از ملاس با بریکس ۱۸ تهیه گردد. میزان درصد کلی شکر اولیه ملاس بر اساس دستور کار ICUMSA تعیین می گردد.

۲- شربت نیشکر

نمونه ای از شربت تازه نیشکر را از طریق استفاده از یک فیلتر پارچه ای (Cheesecloth) بخوبی فیلتر کرده تا آنکه ذرات جامد آن حذف شوند. بریکس در حدود ۱۶ تنظیم شده و سپس شربت نیشکر برای چند دقیقه جوشانده شده و سپس اجازه داده می شود تا در دمای اتاق سرد شود.

به هریک از سوبستراهای ذکر شده در فوق مواد غذایی همچون $(NH_4)_2SO_4$ ، KH_2PO_4 ، $MgSO_47H_2O$ اضافه شده و pH با استفاده از H_3PO_4 و NaOH و یا هر دوی آنها تا حدود ۴/۵ تنظیم می گردد.

سری الف : تکمیل با سبوس برنج

کارهای آزمایشگاهی جداگانه ای برروی ملاس و شربت نیشکر ، جهت بررسی تسهیل تخمیر اتانول بواسطهٔ اضافه نمودن سبوس برنج به عنوان تکمیل کننده انجام گرفت.

مقادیری از سوبسترای ملاس و شربت نیشکر اندازه گیری شده و پس از قرار دادن درون فلاسک های ارلن مایر به مدت ۴۰ دقیقه در فشار psi ۱۵ استریل می شوند. سپس به فلاسک ها اجازه داده می شود تا در دمای اتاق سرد شوند. سپس به هر یک از سوبسترا ها سبوس برنج با غلظت های ۰/۲٪ ، ۰/۴٪ ، ۰/۶ و ۰/۸٪ با نسبت ۱ به ۱۰ اضافه گردید و با هر یک از این غلظت ها ، آزمایشات سه بار تکرار شدند. لازم به ذکر است که به کنترل (شاهد) سبوس برنج اضافه نگردید. مخمرهای سازش یافته با ملاس تخمیر نشده و شربت نیشکر بصورت جداگانه به هر یک از فلاسک ها به میزان ۱۰ درصد به عنوان شروع کننده تلقیح گردید. پس آن تخمیر ملاس/ شربت نیشکر در فلاسک های لرزان (Shake-flasks) به مدت ۳۶ ساعت در دمای اتاق انجام گرفت.

سری ب: تکمیل با جیبرلیک اسید

مقادیری از ملاس و شربت نیشکر به عنوان سوبسترا اندازه گیری شده و پس از قرار دادن درون فلاسک های ارلن مایر به مدت ۴۰ دقیقه در فشار psi ۱۵ استریل می شوند. سپس به فلاسک ها اجازه داده می شود تا در دمای اتاق سرد شوند. سپس به هر یک از سوبسترا ها جیبرلیک اسید با غلظت های ppm ۴ و ۳ ، ۲ ، ۱ با نسبت ۱ به ۱۰ به سوبستراها اضافه گردید و با هر یک از این غلظت ها ، آزمایشات سه بار تکرار شدند. لازم به ذکر است که کنترل (شاهد) با جیبرلیک اسید آغشته نگردید. مخمرهای سازش یافته با ملاس تخمیر نشده و شربت نیشکر بصورت جداگانه به هر یک از فلاسک ها به میزان ۱۰ درصد به عنوان شروع کننده تلقیح گردید. پس آن تخمیر ملاس / شربت نیشکر در فلاسک های لرزان (Shake-flasks) به مدت ۳۶ ساعت در دمای اتاق انجام گرفت.

سازگاری سویهٔ مخمر / آماده کردن شروع کننده (Starter)

۵ میلی لیتر از آب مقطری که از قبل استریل شده است را به هر یک از کشت های خالص ساکارومایسس سرویزیه و مخمر غذایی کاندیدا تروپیکالیس بصورت جداگانه درون لوله آزمایش اضافه می کنیم. بعد از آن سویهٔ مخمر را با رعایت شرایط ضدعفونی بدرون ظرفی که از قبل حاوی ۱۰ میلی لیتر ملاس تخمیر نشدهٔ استریل با بریکس ۱۰ می باشد ، اضافه کرده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق جهت سازگاری و انطباق با محیط قرار داده می شود. متعاقب آن ، عملیات سازگاری به مدت چهار روز دیگر با همان تعداد ساعات اما این بار با استفاده از ملاس تخمیر نشدهٔ استریل با بریکس های ۱۲ ، ۱۴ ، ۱۶ و ۱۸ تکرار گردید و سازش مخمر به مدت پنج روز دیگر نیز ادامه یافت ، که با اضافه کردن بریکس ۱۸ بکار برده شده به عنوان شروع کننده ، تخمیر اتانول انجام گرفت.

فرآیند سازگاری مشابهی نیز با همان سویه های مخمر اما این بار در سوبسترایی شامل شربت نیشکر با بریکس های ۱۰ ، ۱۲ ، ۱۴ و ۱۶ انجام گرفت.

بررسی روش های کلی

فرآیند تخمیر در فلاسک های لرزان (Shake-flasks) در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و در یک شیکر با سرعت ۱۲۰rpm به مدت ۳۶ ساعت انجام گرفت.

پارامترهای تخمیر همچون ضریب شکست و درصد راندمان الکل محاسبه شدند ، و در شروع و انتهای فرآیند تخمیر ، درصد کل شکر ، شمارش کلی سلول ها و pH مورد ارزیابی قرار گرفتند و نمونه برداری دوره ای در خلال تخمیر در هر ۱۲ ساعت ، جهت تعیین شکست نور صورت گرفت. پس از ۳۶ ساعت تخمیر الکل بطریقهٔ تقطیر جداسازی شد. درصد الکل تقطیر شده توسط روش Gay-lussac با استفاده از سنجش چگالی الکل تعیین گردید.

شمارش کلی سلول ها (روش Hemacytometer)

۱- ۰/۱ میلی لیتر از نمونهٔ تخمیر شده را برداشته و به ۹/۹ میلی لیتر آب مقطر استریل در یک لوله آزمایش در پیچ دار منتقل می کنیم.

۲- سپس لوله را به شدت تکان می دهیم.

۳- مقدار کمی از سوسپانسیون را با استفاده از پیپت لامبدا (Sampler) برداشته و چند قطره از مایع را به یک انتهای لام اضافه کرده تا خط نشانهٔ هماسیتومتر را پوشش دهد.

۴- مقداری از مایع را بصورت پیوسته آنقدر خارج کنید تا آنجا که تمام آنچه را در زیر لامل می باشد ، از مایع پوشیده شود. باید مراقب بود تا از جریان یافتن مایع از طریق شکاف ها به طرف دیگر منطقهٔ شمارش ممانعت شود.

۵- هماسیتومتر را در زیر بالاترین قدرت عدسی شیئی میکروسکوپ مشاهده کنید.

۶- خط هایی را که به منطقهٔ خط کشی شده منتهی می شود ، مشخص کنید.

۷- ۲۵ مربع بزرگ را که هرکدام خود به ۱۶ مربع کوچک تقسیم می شوند ، پیدا کرده و تمامی سلول هایی را که در مربع های بزرگ کناری و مربع بزرگ مرکزی قرار دارند شمارش کنید (در مورد سلول هایی که روی خطوط قرار دارند ، تنها آنهایی را شمارش کنید که با خطوط بالایی و سمت چپ مربع های بزرگ تماس دارند).

۸- با تکرار مراحل ۵ و ۶ ، با بررسی انتهای دیگر منطقهٔ شمارش ، یک بار دیگر شمارش سلولی را انجام دهید.

۹- تعداد کل سلول های شمارش شده را مشخص کنید.

تعیین میزان الکل در آبجو (روش تقطیر)

ابتدا ۳۰۰ میلی لیتر از آبجو را در آزمایشگاه توسط تجهیزات تقطیری ، تقطیر می کنیم. ۱۲۵ میلی لیتر از ماده تقطیر شده را جمع آوری کرده و با آب مقطر سرد مخلوط می کنیم تا حجم آن به ۲۵۰ میلی لیتر برسد. سپس مخلوط را تکان داده و میزان الکل را با استفاده از الکل سنج در محدودهٔ ۱۰-۱ ٪ الکل ، از طریق حجم ، یک دما سنج و جدول تبدیلات جهت تصحیح دما مشخص می کنیم.

تعیین درصد کل شکر

درصد کل شکر در شربت شربت نیشکر بوسیلهٔ روش ICUMSA بواسطهٔ تعیین درصد میزان کل شکر مشخص می گردد.

راندمان تخمیر

راندمان تخمیر را می توان بر اساس کتاب Official chemical مربوط به صنایع نیشکری محاسبه می گردد.

ارزشیابی آماری

در آزمایشات مربوط به تخمیر ، میزان غلظت سبوس برنج و جیبرلیک اسید و شاهدی که برای روش کار مطرح گردیده بود ، هرکدام بصورت کاملا تصادفی سه با تکرار شدند. از طریق آنالیز و تجزیه و تحلیل تغییرات می توان به اطلاعاتی در مورد درصد الکل دست یافت. جهت مقایسهٔ توانایی های روش های کار از Duncans Multiple Rang Test (DMRT) استفاده گردید.

بحث و نتایج

جداول I-A و I-B به ترتیب راندمان تولید الکل را توسط ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا تروپیکالیس در سوبستراهای ملاس و شربت نیشکر تکمیل شده با جیبرلیک اسید و سبوس برنج نشان می دهد.

نتایج حاصل از جدول I-A مشخص می کند که تخمیر ملاسی که بصورت جداگانه با ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا تروپیکالیس آغشته شده اند، و سبوس برنج با غلظت ۰/۸-۰/۴٪ به آنها اضافه شده است ، بصورتی قابل توجه راندمان بیشتری از اتانول نسبت به شاهد دارند. درصد بازدهٔ الکل حاصل از ملاس های

تکمیل شده با ۰/۸– ۰/۴٪ سبوس برنج از لحاظ آماری با یکدیگر قابل مقایسه می باشند ولی بصورت قابل توجهی با شاهد تفاوت داشتند. فقط نتایج حاصل از ۰/۲ ٪ سبوس برنج از نظر آماری با شاهد قابل مقایسه بود.

تولید الکل حاصل از تخمیر ملاس تکمیل شده با ۰/۸ ٪ سبوس برنج که بصورت جداگانه با ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا تروپیکالیس آغشته شده بودند ، به ترتیب برابر ۱۰/۵٪ با راندمان تخمیر ۹۴/۹۵ ٪ و ۹/۵ ٪ با راندمان تخمیر ۸۶/۴۰ ٪ بود.

جدول I-B نشان می دهد که شربت نیشکر آغشته شده با کاندیدا تروپیکالیس و سبوس برنج با غلظت ۰/۸– ۰/۲٪ از لحاظ آماری با یکدیگر قابل مقایسه بوده ولی بطور قابل توجهی با شاهد تفاوت دارند. در شربت نیشکر آغشته شده با ساکارومایسس سرویزیه ، الکل تولید شده با استفاده از ۰/۸– ۰/۲٪ سبوس برنج نیز از لحاظ آماری با یکدیگر قابل مقایسه بودند. در تمامی آزمایشات انجام شده ، الکل تولید شده بالاتر از میزان شاهد بوده و بطور قابل ملاحظه ای با آن متفاوت بودند. درصد میزان تولید الکل ، حاکی از تولید در حدود ۱٪ بالاتر از میزان مورد انتظار بود.

جداول II-A و II-B به ترتیب میزان تولید الکل را توسط ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا تروپیکالیس در ملاس و شربت نیشکر تکمیل شده با جیبرلیک اسید را نشان می دهد.

الکل تولید شده در ملاس تیمار شده با ppm ۴-۱ جیبرلیک اسید که با ساکارومایسس سرویزیه آغشته شده است (جدول II-A) ، از نظر آماری با یکدیگر قابل مقایسه بوده اما بطور قابل توجهی با شاهد تفاوت دارند. در تمامی آزمایشات دیگر نیز الکل تولید شده نسبت به میزان شاهد بیشتر بود ، با این حال بالاترین میزان تولید الکل یعنی ۹/۷ ٪ و راندمان تخمیری برابر با ۸۸/۸۰ ٪ در غلظت ppm ۲ از جیبرلیک اسید بدست آمد.

الکل تولید شده توسط ملاس آغشته شده با کاندیدا تروپیکالیس که با ppm ۲ جیبرلیک اسید تکمیل شده است برابر با ۹/۶ ٪ با راندمان تخمیر۸۷/۰۹ ٪ بود. الکل تولید شده در غلظت ۲ppm ، توسط ملاس آغشته شده با همین سویه ، بصورت قابل توجهی با غلظت های ppm ۴ و ۳ ، ۱ جیبرلیک اسید و شاهد تفاوت داشت ، اگرچه میزان تولید در غلظت های ppm ۴ و۳ ، ۱ از لحاظ آماری با یکدیگر قابل مقایسه بودند، اما بطور قابل توجهی با شاهد متفاوت بودند. میزان الکل تولید شده در تمامی آزمایشات بیش از میزان شاهد بود.

میزان الکل تولید شده از شربت نیشکر تکمیل شده با ppm ۴-۱ جیبرلیک اسید که با ساکارومایسس سرویزیه آغشته شده (جدول II-B) ، از لحاظ آماری با یکدیگر قابل مقایسه بوده و لیکن بطور قابل توجهی با میزان شاهد تفاوت داشتند.

جداول III-A و III-B به ترتیب نتایج راندمان تخمیر ملاس تکمیل شده با سبوس برنج و جیبرلیک اسید را نشان می دهد در حالیکه جداول IV-A و IV-B بازدهی تخمیر هر دو سوبسترای تکمیل شده توسط جیبرلیک اسید بر اساس الکل تولید شده توسط دو سویهٔ مخمر را مشخص می کند.

راندمان تخمیر در تمامی تیمارهای تکمیل شده توسط سبوس برنج و جیبرلیک اسید بالاتر از میزان کنترل بود. جدول III-A نشان می دهد که سبوس برنج در غلظت ۰/۸٪ بالاترین بازدهی تخمیر را با ۹۴/۹۵ ٪ برای سوبسترای ملاس و ۸۵/۰۴ ٪ برای شربت نیشکر با استفاده از ساکارومایسس سرویزیه دارد.

همچنین مشخص گردید که در تیمار با استفاده از کاندیدا تروپیکالیس در ملاس و شربت نیشکر تکمیل شده با ppm ۲ جیبرلیک اسید ، تخمیر بالاترین راندمان را به ترتیب با ۸۷/۰۹ ٪ و ۷۴/۲۲ ٪ دارد. از طرف دیگر ، مشخص شد که سوبسترای حاوی شربت نیشکر با همان غلظت از تکمیل کننده ها ، دارای عوامل محرک بیشتری می باشد. به این ترتیب که جیبرلیک اسید در غلظت های ppm ۳/۷۵ – ۱/۰ دارای اثری محرک در توانایی تخمیر با راندمانی به ترتیب معادل ۹۷/۷۲ ٪ - ۹۵/۰۸ ٪ می باشد که مقایسه آنها با شاهد ، ۵ تا ۹ درصد افزایش را در راندمان تخمیر توسط نمونه های تیمار شده نشان می دهد.

اسید جیبرلیک با غلظت ppm ۲ بیشترین اثر محرک را در هر دو سوبسترای تلقیح شده توسط کاندیدا تروپیکالیس دارد. درصورتیکه برخی از محققین بر این عقیده اند که مکمل سازی مؤثر جیبرلیک اسید در شربت نیشکر در غلظت ppm ۱ می باشد.

جداول V-A و V-B به ترتیب بریکس خوانده شده در ۳۶ ساعت تخمیر حاصل از ملاس و شربت نیشکر تکمیل شده با سبوس برنج را نشان می دهد. بریکس خوانده شده از ملاس تکمیلی با ۰/۸٪ سبوس برنج تفاوت قابل توجهی را با غلظت های ۰/۲ ٪ ، ۰/۴٪ و ۰/۶٪ و همچنین نمونهٔ شاهد برای هر دو سویهٔ مخمر نشان می دهد. با این حال ، ملاس آغشته شده با ساکارومایسس سرویزیه در غلظت های ۰/۲ ٪ ، ۰/۴ ٪ و ۰/۶ ٪ از سبوس برنج نیز نتایج قابل مقایسه ای را نشان می دهند.

جداول VI-A و VI-B به ترتیب بریکس خوانده شده در ۳۶ ساعت تخمیر حاصل از ملاس و شربت نیشکر تکمیل شده با جیبرلیک اسید را نشان می دهد. نتایج حاصل از ملاس تکمیل شده با ppm ۲ جیبرلیک اسید برای هر دو سویهٔ مخمر بصورت قابل توجهی با شاهد و غلظت های ppm ۴ و۱،۳ تفاوت دارد. از طرف دیگر اگرچه نتایج حاصل از ملاسهای تکمیل شده با ppm ۴ و۱،۳ جیبرلیک اسید ، از لحاظ آماری با یکدیگر قابل مقایسه بودند ولی بریکس خوانده شده از ملاس آغشته شده با ساکارومایسس سرویزیه با ppm ۴-۳ جیبرلیک اسید از لحاظ آماری با یکدیگر قابل مقایسه بود ولی بصورت قابل ملاحظه ای نتایج حاصل از غلظت ppm۱ تفاوت دارند.

در تلقیح ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا تروپیکالیس بصورت جداگانه به شربت نیشکر تکمیل شده با جیبرلیک اسید ، مشخص گردید که در غلظت ppm ۲ ، نتایج بطور قابل ملاحظه ای با غلظت های ppm ۴ و۳ ،۱ و نیز شاهد تفاوت دارند. در کلیهٔ تیمارهای انجام شده توسط مخمر ، بریکس خوانده شده با پیشرفت فرآیند تخمیر کاهش می یابد. سبوس برنج و جیبرلیک اسید به ترتیب در غلظت های ۰/۸٪ و ppm ۲ ، زمانی بیشترین اثر محرک را دارند که بریکس خوانده شده در کمترین مقدار می باشد.از سوی دیگر، ثابت شد که تکمیل توسط این دو ماده، اثر محرکی نیز بر روی رشد جمعیت ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا تروپیکالیس دارند.

جداول VII-A و VII-B جمعیت کلی سلول های دو سویهٔ مخمر را در ابتدا و ۳۶ ساعت پس از تخمیر ملاس و شربت نیشکر تکمیل شده توسط سبوس برنج و جیبرلیک اسید را نشان می دهد. ورت های تکمیل شدهٔ تخمیر با ۰/۸ ٪ - ۰/۲ ٪ سبوس برنج و ppm ۴-۱ جیبرلیک اسید حتی پس از پایان فرآیند تخمیر ، از رشد مخمرها به اندازهٔ کافی پشتیبانی می کند که این موضوع بواسطهٔ افزایش جمعیت مخمرها پس از اتمام فرآیند نشان داده شد. هر چند که ظاهراً میزان جمعیت مخمرها در تکمیل با ۰/۸٪ - ۰/۲٪ سبوس برنج در مقایسه با تکمیل توسط ppm ۴-۱ جیبرلیک اسید ، رشد بهتری را نشان می دهد. ورت های تخمیری تیمار شده در مقایسه با شاهد رشد بیشتری برابر با ۲×۱۰^{۸}cell/ml culture نشان می دهند. این نتیجه ، فرضیهٔ قبلی را مبنی بر اینکه افزودن ۱٪ (W/V) سبوس برنج به محیط می تواند تعداد مخمرها را تا سه برابر نسبت به زمانی که در محیط وجود ندارد ، افزایش دهد ، اثبات نمود. افزودن ۰/۴٪ (W/V) سبوس برنج می تواند رشد مخمر را به میزان ۱×۱۰^{۸} cell/ml culture افزایش دهد. همچنین مشخص شد که در هر دو ورت های تخمیر، تکمیل با ۰/۸٪ سبوس برنج و ppm ۲ زمانی قابلیت تحریک بیشتری دارند که ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا تروپیکالیس بیشترین میزان رشد را داشته باشند.

جدول I-A درصد اتانول (V/V) حاصل از ملاس تکمیل شده با سبوس برنج

مخمر: ساکارومایسس سرویزیه		مخمر : کاندیدا تروپیکالیس	
تیمار(غلظت)	درصد اتانول	تیمار(غلظت)	درصد اتانول
٪ ۰/۲	۹/۰	٪ ۰/۲	۸/۹
٪ ۰/۴	۹/۹	٪ ۰/۴	۹/۴
٪ ۰/۶	۱۰/۳	٪ ۰/۶	۹/۳
٪ ۰/۸	۱۰/۵	٪ ۰/۸	۹/۵
شاهد	۸/۱	شاهد	۸/۰
ارزش تخمیر	۸/۶۵	ارزش تخمیر	۷/۱۵

نتایج ذکر شده حاصل میانگین سه با تکرار آزمایش می باشند

جدول I-B درصد اتانول (V/V) حاصل از شربت نیشکر تکمیل شده با سبوس برنج

مخمر: ساکارومایسس سرویزیه		مخمر : کاندیدا تروپیکالیس	
تیمار(غلظت)	درصد اتانول	تیمار(غلظت)	درصد اتانول
٪ ۰/۲	۴/۹	٪ ۰/۲	۴/۲
٪ ۰/۴	۵/۳	٪ ۰/۴	۴/۵
٪ ۰/۶	۵/۲	٪ ۰/۶	۴/۴
٪ ۰/۸	۵/۵	٪ ۰/۸	۴/۸
شاهد	۳/۹	شاهد	۳/۱
ارزش تخمیر	۴۵/۹۶	ارزش تخمیر	۱۳/۲۳

نتایج ذکر شده حاصل میانگین سه با تکرار آزمایش می باشند

جدول II-A : درصد اتانول(V/V) حاصل از ملاس تکمیل شده با جیبرلیک اسید

مخمر: ساکارومایسس سرویزیه		مخمر : کاندیدا تروپیکالیس	
تیمار(غلظت)	درصد اتانول	تیمار(غلظت)	درصد اتانول
۱ ppm	۹/۲	۱ ppm	۹/۰
۲ ppm	۹/۷	۲ ppm	۹/۶
۳ ppm	۹/۵	۳ ppm	۹/۰
۴ ppm	۹/۲	۴ ppm	۸/۹
شاهد	۷/۸	شاهد	۷/۲
ارزش تخمیر	۲۳/۵۹	ارزش تخمیر	۱۵۶/۳۲

نتایج ذکر شده حاصل میانگین سه با تکرار آزمایش می باشند

جدول II-B : درصد اتانول (V/V)حاصل از شربت نیشکر تکمیل شده با جیبرلیک اسید

مخمر: ساکارومایسس سرویزیه		مخمر : کاندیدا تروپیکالیس	
تیمار(غلظت)	درصد اتانول	تیمار(غلظت)	درصد اتانول
۱ ppm	۴/۵	۱ ppm	۹/۰
۲ ppm	۴/۶	۲ ppm	۹/۶
۳ ppm	۴/۵	۳ ppm	۹/۰
۴ ppm	۴/۳	۴ ppm	۸/۹
شاهد	۴/۰	شاهد	۷/۲
ارزش تخمیر	۵/۵	ارزش تخمیر	۳۱/۷۴

نتایج ذکر شده حاصل میانگین سه با تکرار آزمایش می باشند

جدول III-A :نتایج راندمان تخمیر حاصل از ملاس تکمیل شده با سبوس برنج

مخمر: ساکارومایسس سرویزیه		مخمر : کاندیدا تروپیکالیس	
تیمار(غلظت)	راندمان تخمیر ٪	تیمار(غلظت)	راندمان تخمیر ٪
٪ ۰/۲	۸۱/۳۴	٪ ۰/۲	۸۱/۰۴
٪ ۰/۴	۸۹/۵۰	٪ ۰/۴	۸۳/۴۶
٪ ۰/۶	۹۳/۱۳	٪ ۰/۶	۸۴/۳۳
٪ ۰/۸	۹۴/۹۵	٪ ۰/۸	۸۶/۴۰
شاهد	۷۳/۴۹	شاهد	۷۲/۵۷

نتایج ذکر شده حاصل میانگین سه با تکرار آزمایش می باشند

جدول III-B : نتایج راندمان تخمیر حاصل از شربت نیشکر تکمیل شده با سبوس برنج

مخمر: ساکارومایسس سرویزیه		مخمر : کاندیدا تروپیکالیس	
تیمار(غلظت)	راندمان تخمیر ٪	تیمار(غلظت)	راندمان تخمیر ٪
٪ ۰/۲	۷۵/۷۷	٪ ۰/۲	۶۰/۳۱
٪ ۰/۴	۸۱/۹۵	٪ ۰/۴	۶۸/۰۴
٪ ۰/۶	۸۰/۴۱	٪ ۰/۶	۶۹/۵۸
٪ ۰/۸	۸۵/۰۴	٪ ۰/۸	۷۱/۱۳
شاهد	۶۰/۳۱	شاهد	۴۷/۹۴

نتایج ذکر شده حاصل میانگین سه با تکرار آزمایش می باشند

جدول IV-A : نتایج راندمان تخمیر حاصل از ملاس تکمیل شده با جیبرلیک اسید

مخمر: ساکارومایسس سرویزیه		مخمر : کاندیدا تروپیکالیس	
تیمار(غلظت)	راندمان تخمیر ٪	تیمار(غلظت)	راندمان تخمیر ٪
۱ppm	۸۸/۴۶	۱ppm	۸۱/۶۵
۲ ppm	۸۸/۸۰	۲ ppm	۸۷/۶۹
۳ ppm	۸۵/۸۸	۳ ppm	۸۱/۹۵
۴ ppm	۸۳/۱۵	۴ ppm	۸۱/۰۴
شاهد	۷۰/۷۶	شاهد	۶۳/۵۰

نتایج ذکر شده حاصل میانگین سه با تکرار آزمایش می باشند

جدول IV-B : نتایج راندمان حاصل از شربت نیشکر تکمیل شده با جیبرلیک اسید

مخمر: ساکارومایسس سرویزیه		مخمر : کاندیدا تروپیکالیس	
تیمار(غلظت)	راندمان تخمیر ٪	تیمار(غلظت)	راندمان تخمیر ٪
۱ppm	۶۳/۴۰	۱ppm	۶۹/۵۸
۲ ppm	۷۴/۲۲	۲ ppm	۷۱/۱۳
۳ ppm	۶۴/۹۵	۳ ppm	۶۹/۵۸
۴ ppm	۶۳/۴۰	۴ ppm	۶۶/۴۹
شاهد	۴۶/۳۹	شاهد	۶۱/۸۵

نتایج ذکر شده حاصل میانگین سه با تکرار آزمایش می باشند

خلاصه و نتیجه گیری کلی

۱- افزودن جیبرلیک اسید و سبوس برنج به عنوان تکمیل کننده ، تخمیر ملاس و شربت نیشکر را جهت تولید اتانول تسهیل نموده و این دو تکمیل کنندهٔ یافت شده محرکی بسیار مؤثر جهت سوبستراهای ملاس و شربت نیشکر می باشند.

۲- در این تیمارها ۱۰/۵٪ و ۹/۵٪ اتانول به ترتیب با راندمان تخمیری معادل ۹۴/۹۵٪ و ۸۸/۸۹٪ تولید گردید. هرچند که در این تحقیق اثر محرک تکمیل کننده های سبوس برنج و جیبرلیک اسید در مقایسه با نتایج حاصل از نمونهٔ شاهد ، رضایتبخش بودند ولی از لحاظ تئوری بنا به انتظار بسیاری از کارخانه های تقطیری این بازده می بایست حداقل ۹۵٪ باشد.

۳- غلظت های مذکور از سبوس برنج و جیبرلیک اسید به عنوان تکمیل کننده های غذایی ، رشد ساکارومایسس سرویزیه و کاندیدا تروپیکالیس را تا ۲×۱۰^{۸} cell/ml culture در مقایسه با شاهد افزایش می دهد.

۴- در نهایت از این تحقیق می توان چنین نتیجه گرفت که ملاس تکمیل شده با سبوس برنج که با ساکارومایسس سرویزیه آغشته شده است ، بیشترین مقدار الکل را در مقابل تیمارهای دیگر تولید می نماید.

منابع و مراجع

1. Lai Ching Liang, Cheng, Shi-ling, Shiwe, Hsen-L. Some Undesirable Factors Affecting Ethanol Fermentation in Cane molasses from carbonation Process. Taiwan Sugar Research Institute, No. 94. pp. 41-63, 1981.

2. Hsie, M.C. The Efficient Utilization of Refinery Final Molasses in Ethanol Fermentation. Taiwan Sugar Research Institute. No. 144, P.43, 1994.

3. Cheng, Yik-shiew, Huang, Kpo-Ming, 1980. Biological Activity of Gibbarelln-lika Substance in Sugarcane Leaf Blade. Taiwan Sugar Research Institute, No. 89, pp 25-32, 1980.

4. Hsie, Ming Cheng , Studies on the Alcohol Production from Molasses by Fed-batch Fermentation – Examination of the optimum Condition. Taiwan Sugar research institute No.95, pp 34-40, 1982.

5. Samaniego R.L., Layoso, J.D. and Rola T.V. The Effect of Gibberllic Acid on Ethanol Fermentation Using Cane Juice 1981, Philippine Sugar Technologist 28th Annual Convention. August 4-7, IIoilo City. Pp 200-210, 1981.

6. Committee on Chemical Control, Philippines Sugar Technologists Association, Inc. Official Method of Chemical Control for Philippine Sugar Factories, Refineries and Distilleries, Bacolod City, 1999.

۷. میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی صنعتی ، ولف کروگر و آنالیز کروگر ، ترجمه دکتر سید علی مرتضوی ، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد ، ۱۳۸۱ .