

مقاله مروری

مروری بر ترکیبات بازدارنده و روش‌های کاهش آن در تولید زیست‌اتانول از مواد لیگنوسلولزی

علی اصغر تاتاری*، محمدرضا دهقانی فیروزآبادی

دانشکده مهندسی چوب و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
* نویسنده مسئول: a.tatari@gau.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۵ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۵

چکیده

کاهش تدریجی منابع فسیلی باعث نگرانی فزاینده‌ای در مورد تامین آنها و انتشار گازهای گلخانه‌ای و گرم شدن زمین شده و در این زمینه سوخت‌های زیستی می‌توانند نقش مهمی را در حل این مشکلات داشته باشند. در این میان، اتانول تولید شده از نشاسته ذرت، ملاس نیشکر، مواد لیگنوسلولزی و زیست‌دیزل تولید شده از روغن کلزا مهم‌ترین موارد استفاده تجاری در سال‌های اخیر است. تولید اتانول یک فرآیند زیست‌شیمیایی پیچیده است که طی آن مخمرها، قارچ‌ها و برخی باکتری‌ها قادرند قندهای قابل تخمیر را به اتانول، دی‌اکسید کربن و سایر فرآورده‌های متابولیکی که به ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های حسی مواد غذایی تخمیر شده کمک می‌کنند، تبدیل کنند. تولید اتانول در طیف وسیعی از محصولات ثانویه (مانند بهداشتی، درمانی و صنعتی) حائز اهمیت است. کنترل فرآیند تخمیر معمولاً یک پیش‌نیاز برای تعیین کیفیت محصول نهایی است. در این زمینه، پایش فرآیند تخمیر، یک نیاز اساسی به منظور اطمینان از کنترل مؤثر عوامل متغیر در تمامی مراحل فرآیند تولید اتانول است. کاهش میزان تخمیر در فرآیند تولید زیست‌اتانول به دلیل ترکیبات بازدارنده یک مشکل اساسی و قابل توجه در اقتصاد فرآیند محسوب می‌شود. در این مقاله مروری، ضمن اشاره به جنبه‌های اصلی تخمیر اتانول، ترکیبات بازدارنده و روش‌های کاهش آن در فرآیند تولید زیست‌اتانول از مواد لیگنوسلولزی پرداخته شده است.

کلید واژگان: اتانول، ترکیبات بازدارنده، تخمیر، مواد لیگنوسلولزی، سوخت‌های زیستی

A Review on inhibitory compounds and its reducing methods in bio-ethanol production from lignocellulose materials

A. Tatari*, M. Dehghani Firouzabadi

Department of Wood and Paper Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

*Corresponding author: a.tatari@gau.ac.ir

Received: 16-09-2022

Accepted: 26-06-2023

Abstract

The gradual reduction of fossil resources has caused increasing concern about their supply and the emission of greenhouse gases and global warming, and in this context, biofuels can play an important role in solving these problems. Meanwhile, ethanol produced from corn starch, sugarcane molasses, lignocellulosic materials and biodiesel produced from rapeseed oil are the most important commercial uses in recent years. Ethanol production is a complex biochemical process in which yeasts, fungi, and certain bacteria are able to convert fermentable sugars into ethanol, carbon dioxide, and other metabolic byproducts. These byproducts contribute to the chemical composition and sensory properties of fermented foods. Ethanol production is important in a wide range of secondary products (such as health, medical and industrial). Controlling the fermentation process is usually a prerequisite for determining the quality of the final product. In this regard, monitoring the fermentation process is a basic need to ensure effective control of variable factors at all stages of the ethanol production process. Reducing the rate of fermentation in the process of ethanol production due to inhibitory compounds is considered a fundamental and significant problem in the economics of the process. In this review paper, the main aspects of ethanol fermentation and inhibitory compounds and their reduction methods in the ethanol production process from lignocellulosic materials have been discussed.

Keywords: Ethanol, Inhibitory composition, Fermentation, Lignocellulose materials, Biofuels

۱- مقدمه

در طی سال‌های آینده، انتظار می‌رود زیست‌اتانول به‌عنوان انرژی تجدیدپذیر برای حمل و نقل به‌طور تجاری مورد استفاده قرار بگیرد [۱-۲]. بنابراین، توسعه سیستم‌های سوختی که مبتنی بر منابع تجدیدپذیر هستند همواره مورد بحث و توجه جامعه بین‌المللی بوده است. سوخت‌های زیستی به‌دلایل مختلف به‌طور عمده از منابع زیست‌توده تولید می‌شوند: (۱) این منابع تجدید پذیر هستند، (۲) از طرفی، تأثیرات مثبت و مطلوبی بر محیطی داشته و سبب کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای شده، گوگرد بسیار کمی داشته و چرخه کربن بسته را به همراه دارند و (۳) با توجه به اینکه در آینده قیمت سوخت فسیلی افزایش خواهد داشت از پتانسیل اقتصادی قابل توجهی برخوردار خواهند شد و سبب افزایش امنیت انرژی می‌شوند. سوخت‌های زیستی، سوخت‌های جامد، مایع یا گازی شکل هستند که از مواد گیاهی و پسماندهای آن‌ها مانند محصولات کشاورزی، زباله‌های شهری، و بقایای کشاورزی و جنگلی و ... تولید می‌شوند [۳-۵].

زیست‌اتانول به‌عنوان ماده جایگزین بالقوه برای سوخت‌های حاصل از نفت خام شناخته شده است و دارای مزایای زیادی مانند عدد اکتان زیاد، عدد ستان کم و گرمای زیاد تبخیر است. مواد اولیه زیستی مورد استفاده در تولید زیست‌اتانول را می‌توان به سه نوع طبقه‌بندی کرد: (۱) مواد لیگنوسلولزی مانند زیست‌توده چوبی، گیاهان علفی چندساله و ضایعات مختلف. (۲) محصولات غنی از نشاسته مانند ذرت و سورگوم. و (۳) محصولات غنی از ساکاروز مانند نیشکر و چغندر قند. در سال ۲۰۱۶، تولید جهانی زیست‌اتانول به ۲۶/۶ میلیارد گالن رسیده است. کشورهای برزیل و ایالات متحده آمریکا بزرگ‌ترین تولیدکنندگان زیست‌اتانول در جهان هستند و در مجموع ۸۵ درصد از تولید زیست‌اتانول جهان را تشکیل می‌دهند [۶].

در کشورهای مختلف جهان، از فرآیند تخمیر به‌طور گسترده برای تولید زیست‌اتانول از منابع مختلف قندی، نشاسته، لیگنوسلولزی و جلبک‌ها استفاده می‌شود [۵، ۷ و ۸]. تخمیر اتانول یک فرآیند زیستی پیچیده 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 و دی‌اکسید کربن تبدیل می‌شوند [۹]. به‌طور کلی در طول فرآیند تخمیر اتانول،

دوگروه از میکروارگانیسم‌ها دخالت دارند. گروه اول، میکروارگانیسم‌هایی هستند که سوبستراهای تخمیرپذیر را به زیست‌اتانول تبدیل می‌کنند و گروه دوم شامل میکروارگانیسم‌های تولیدکننده آنزیم‌های کاتالیزکننده (مثل آنزیم آمیلاز و گلیکو آمیلاز) هستند که در واقع واکنش شیمیایی تجزیه سوبسترا به ترکیبات ساده‌تر مانند گلوکز را کاتالیز می‌کنند [۱۰].

به‌طور کلی تولید اتانول از مواد نشاسته‌ای یک فرآیند دو مرحله‌ای است، مرحله اول فرآیند قندسازی نام دارد که در طی آن نشاسته به کمک آنزیم یا اسید به قندهای ساده‌تر مانند گلوکز تبدیل می‌شود. در مرحله دوم (فرآیند تخمیر)، قندهای حاصل از مرحله اول توسط میکروارگانیسم‌های مناسب به اتانول تبدیل می‌شوند [۹].

برای افزایش کارایی یک کارخانه سوخت زیستی زیست‌اتانول، یکی از پیشرفت‌های بالقوه می‌تواند استفاده از غلظت زیاد قند برای تخمیر برای تولید مقادیر زیاد اتانول باشد. با این حال، از بین رفتن قابلیت زنده‌مانی مخمر یک مشکل اساسی در تخمیر با استفاده از غلظت‌های قند زیاد است [۱۱].

مواد لیگنوسلولزی حاوی قندهای پلیمریزه شده به سلولز و همی‌سلولزها است که با هیدرولیز مواد می‌توان آنها را آزاد کرد و متعاقباً توسط میکروارگانیسم‌ها، مانند ساکارومایسس سروریزه، به اتانول تخمیر کرد. اتانول مشتق از مواد لیگنوسلولزی می‌تواند به‌عنوان سوخت مایع سازگار با محیط زیست استفاده شود. با این حال، تخمیر سریع و کارآمد هیدرولیزها محدود است، زیرا علاوه بر قندهای مونومر، طیف وسیعی از ترکیبات سمی در طول پیش تصفیه بخار و هیدرولیز مواد لیگنوسلولزی تولید می‌شود [۱۲].

یکی از مهم‌ترین مباحث مربوط به تولید زیست‌اتانول از مواد مختلف مانند نشاسته، مواد لیگنوسلولزی و سایر مواد پلی‌ساکاریدی، تشکیل ترکیبات بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌ها مانند اسیدهای کربوکسیلیک، فوران‌ها، ترکیبات فنلی و هیدروکسی متیل فورفورال در مرحله هیدرولیز و به‌ویژه در هنگام هیدرولیز اسیدی است. در زمان هیدرولیز، ترکیبات پلی‌ساکاریدی شامل نشاسته، سلولز و همی‌سلولزها این مواد در ابتدا به قندهای ساده ۵ و ۶ کربنه تبدیل می‌شوند و سپس این ترکیبات به سایر اشکال مانند فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال تبدیل می‌شوند که برای

². Saccharification

³. *Saccharomyces cerevisiae*

¹. Lignocellulosic

۳- اهمیت نوع فرآیندهای پیش تیمار مواد

لیگنوسلولزی در کنترل ترکیبات بازدارنده

انتخاب روش پیش تیمار یا هیدرولیز اسیدی مواد لیگنوسلولزی ممکن است منجر به تشکیل انواع بازدارنده‌ها در تولید اتانول شود. فوران‌ها، اسیدهای کربوکسیلیک و ترکیبات فنلی از مهم‌ترین بازدارنده‌ها در تولید اتانول از مواد لیگنوسلولزی می‌باشد [۱۳-۱۴]. بنابراین، انتخاب یک روش پیش تیمار با شرایط بهینه از شروط اصلی کنترل موفقیت‌آمیز عوامل بازدارنده در فرآیند تخمیر اتانول است [۱۶].

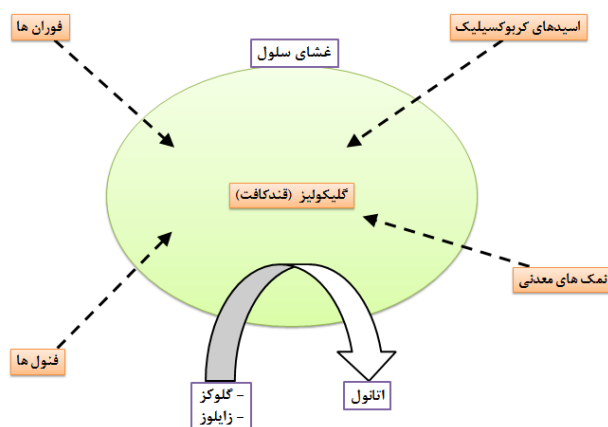
فرآیندهای مختلف پیش تیمار به دلیل ساختار پیچیده و ماهیت سخت زیست‌توده لیگنوسلولزی، یک مرحله ضروری در فرآوری این مواد است [۱۷-۱۸]. هنگامی که تولید سوخت‌های زیستی مدنظر است، پیش تیمار در بهبود دست‌یابی به سلولز و همی‌سلولزها متمرکز شده که منجر به افزایش عملکرد مراحل فرآوری‌های بعدی مانند قندسازی می‌شود. در نتیجه پیش تیمار، ساختارهای پیچیده لیگنوسلولزی را به اجزای ساده (سلولز، همی‌سلولزها و لیگنین) تبدیل می‌کند که عموماً موجب حذف لیگنین، حفظ همی‌سلولزها، کاهش تبلور سلولز و افزایش تخلخل مواد می‌شود [۱۹-۲۰]. بیش‌ترین استفاده از فرآیندهای پیش تیمار در شکل ۲ نشان داده شده است. ترکیبی از این روش‌ها برای تولید زیست‌اتانول استفاده شده است. این پیش تیمارها زمانی کارآمد تلقی می‌شود که تشکیل قندها در مرحله هیدرولیز آنزیمی در فرآوری زیست‌توده افزایش یافته و همچنین تخریب کربوهیدرات‌ها و تشکیل ترکیبات بازدارنده به حداقل برسد. لذا، پیش تیمار زیست‌توده لیگنوسلولزی برای توسعه کارآمد فرآیندهای مختلف، امکان استخراج محصولات با ارزش از زیست‌توده، یعنی طی فرآیند تخمیر یک مرحله ضروری است. روش‌های پیش تیمار باید از نظر اقتصادی مقرون به صرفه بوده و نباید منجر به تشکیل مواد سمی یا ترکیبات شیمیایی بازدارنده فرآیندهای آنزیمی و تخمیر شود. روش‌های پیش تیمار فیزیکی، شیمیایی، فیزیکی- شیمیایی و زیستی زیست‌توده لیگنوسلولزی به شرح زیر ذکر و توضیح داده شده‌اند [۲۱].

میکروارگانیزم‌های تخمیر به‌ویژه مخمرها سمی و مضر هستند. تشکیل این ترکیبات در محیط کشت، مانع رشد و متابولیسم میکروارگانیزم‌ها شده و در نتیجه آن، میزان اتانول تولیدی توسط میکروارگانیزم‌های تخمیرکننده کاهش می‌یابد [۱۳-۱۵]. کاهش میزان تخمیر در نتیجه عدم کنترل بهینه و مناسب ترکیبات بازدارنده در فرآیند تولید اتانول یک مشکل اساسی و قابل توجه در اقتصاد تولید و عملکرد محصول تولیدی است. از این رو، استفاده از فناوری‌های بهینه در جهت کنترل ترکیبات بازدارنده می‌تواند عملکرد میکروارگانیزم‌ها را به‌طور قابل توجهی افزایش داده و میزان تولید زیست‌اتانول را به‌حداکثر ممکن برساند.

در این مقاله مروری، نقش فرآیندهای پیش تیمار در تشکیل بازدارنده‌های اصلی در فرآیندهای مختلف تولید زیست‌اتانول و همچنین روش‌های مختلف کاهش اثرات بازدارندگی آنها بررسی شده است.

۲- ترکیبات بازدارنده

به‌طور خلاصه، مواد اولیه مورد استفاده برای تولید اتانول و همچنین مراحل قبل از تخمیر می‌توانند حاوی برخی ترکیبات شیمیایی باشند که توانایی تولید اتانول توسط میکروارگانیزم‌ها را کاهش می‌دهد (شکل ۱). این "بازدارنده‌ها" ممکن است باعث کاهش بازده اتانول، کاهش زنده ماندن میکروارگانیزم‌ها یا متوقف کردن فرآیند تخمیر شوند. علاوه بر این، منبع کربن فرآیند تخمیر، یعنی قندها، یا محصول اصلی تخمیر، یعنی اتانول، همچنین می‌تواند به عنوان بازدارنده عمل کند [۱۵].



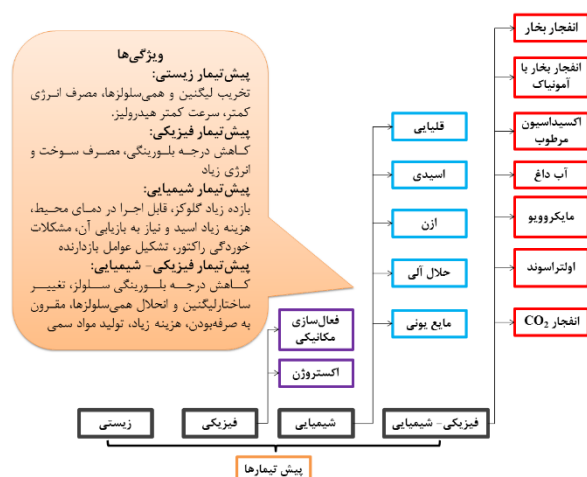
شکل ۱- مکانیسم بازدارنده‌ها در تخمیر زیست‌اتانول [۲]

اکسایش، مایعات یونی و حلال‌های آلی قبل از هیدرولیز استفاده می‌شوند [۲۶].

استفاده از پیش‌ تیمار شیمیایی منجر به افزایش غلظت قندهای مونومری در مقایسه با غلظت اولیه در زیست‌توده می‌شود. اسیدسولفوریک یا اسید هیدروکلریک معمولاً برای هیدرولیز در غلظت‌های مختلف بین ۱۰-۵ درصد حجمی/حجمی استفاده می‌شوند. هنگامی که زیست‌توده به صورت ساقه یا شاخه‌های کوچک باشد، قبل از هیدرولیز اسیدی، خرد کردن مواد الزامی نمی‌باشد. هیدرولیز اسیدی با افزایش فشار (بیشتر از ۲ بار) و درجه حرارت امکان‌پذیر می‌باشد. هیدرولیز اسیدی ممکن است به‌عنوان یک فرآیند پیوسته در دماهای بیش‌تر از ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد (غلظت اسید ۱۰-۵ درصد حجمی/حجمی) یا به‌عنوان یک فرآیند دوره‌ای در دماهای زیر ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد (غلظت اسید ۴۰-۱۰ درصد حجمی/حجمی) محقق شود. هیدرولیز اسید شامل تخریب ساختار لیگنین، انحلال همی‌سلولزها و کمک به تجزیه سلولز به قندهای ساده‌تر است. هیدرولیز اسیدی کارآمد باید با افزایش درجه حرارت تحقق یابد. اما دمای بیش‌تر از ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد باعث تشکیل ترکیبات سمی مانند فورفورال و ۵- هیدروکسی‌متیل فورفورال می‌شود. مواد ذکر شده هیدرولیز آنزیمی و میکروبی را کنترل می‌کنند و لذا باید از بین بروند [۲۱]. پیش‌ تیمار قلیایی موجب تجزیه و تورم ذرات لیگنوسولزی می‌شود، که به فرآیندهای هیدرولیز و تخمیر کمک می‌کند. در نتیجه پیش‌ تیمار قلیایی، شاخص بلورینگی کاهش می‌یابد و سطح ویژه زیست‌توده افزایش می‌یابد [۲۶]. در نتیجه، ساختار لیگنین تغییر یافته و از هم گسیخته می‌شود. برخی از معرف‌های قلیایی معروف که به‌عنوان مواد پیش‌ تیمار کننده مورد استفاده قرار می‌گیرند، هیدروکسید سدیم یا هیدروکسید کلسیم و همچنین آمونیاک هستند. استفاده از این معرف‌ها باعث تخریب و انحلال لیگنین شده و سلولز را در معرض عوامل هیدرولیز قرار می‌دهد [۲۹-۳۱].

۳-۳- پیش تیمار زیستی

هدف از روش‌های زیستی، تیمار همی‌سلولزها و لیگنین با استفاده از پوسیدگی قارچ‌ها، باکتری‌ها و آنزیم‌ها است. در این زمینه، قارچ‌های آریکولاریا آگریکولا و تریکودرما ریسی به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲۱]. روش‌های



شکل ۲- انواع روش‌های پیش‌ تیمار برای تولید زیست‌تانول [۱]

۳-۱- پیش تیمار فیزیکی

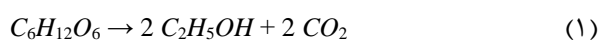
هدف اصلی از پیش تیمار فیزیکی، کاهش اندازه ذرات بسپارهای زیستی با استفاده از برش‌دادن، خرد کردن، آسیاب کردن و برهمکنش‌های مکانیکی است [۲۱-۲۲]. همچنین، پیش تیمار فیزیکی شامل روش‌هایی مانند اشعه ماکروویو [۲۳]، فراصوت [۲۴]، خشک کردن اسپری اشعه گاما [۲۱] و اولتراسوند [۲۵] است. استفاده از پیش تیمار فیزیکی بر بازده هیدرولیز و تجزیه بی‌هوازی زیست‌توده گیاهان به سوخت‌های مایع و گازی و سایر محصولات آلی با ارزش تأثیر مثبت دارد. هنگامی که مواد خرد می‌شوند، بازده هیدرولیز افزایش می‌یابد، چون ذرات کوچک‌تر شده و سطح دسترسی مواد شیمیایی با سطح پلیمری افزایش می‌یابد و موجب کاهش درجه دی‌پلمریزه شدن و تبلور مواد لیگنوسولزی می‌گردد. با این حال، پیش تیمار مکانیکی نیاز به انرژی زیادی دارد و کاربرد آن باید متناسب با تولید نهایی انرژی باشد [۲۶].

۳-۲- پیش تیمار شیمیایی

روش‌های شیمیایی به دلیل واکنش‌های شیمیایی در محلول‌های آبی اسید و قلیایی، اکسایش، اوزون‌دار کردن (اوزون‌کافت) و همچنین انحلال در مایعات یونی یا حلال‌های آلی باعث تجزیه زیست توده لیگنوسولزی به ترکیبات ساده‌تر می‌شوند [۲۷-۲۸]. همان‌طور که اشاره شد هدف از انجام عملیات مکانیکی و فیزیکی- شیمیایی تهیه مواد اولیه زیست‌توده برای پیش تیمارهای بعدی است. مراحل بعدی فرآوری زیست توده لیگنوسولزی، پیش تیمارهای شیمیایی یا آنزیمی است. هیدرولیز قلیایی یا اسیدی بهترین و متداول‌ترین روش پیش تیمار شیمیایی است. علاوه بر این، روش‌های

1. Auricularia auricula
2. Trichoderma reesei

این حال، برای داشتن هیدرولیز کارآمد، معمولاً پیش تیمار شیمیایی، حرارتی یا زیستی لازم و ضروری است [۱۵]. زیست توده هیدرولیز شده، توسط انواع میکروارگانیسم‌ها برای تخمیر مورد استفاده قرار می‌گیرند؛ اما در استفاده صنعتی از مواد لیگنوسلولزی برای تولید زیست‌اتانول موانعی مانند عدم وجود میکروارگانیسم‌های مناسب که می‌توانند به‌طور مؤثر قندهای پنتوز و هگروز را تخمیر کنند وجود دارد. برای تولید تجاری اتانول با بازده تجاری مناسب، یک میکروارگانیسم مناسب باید از طیف وسیع مواد اولیه، بازده عملکرد و بهره‌وری زیاد اتانول برخوردار باشد. همچنین، باید توانایی تحمل در برابر غلظت زیاد اتانول، درجه حرارت زیاد و نیز ترکیبات بازدارنده موجود در ماده هیدرولیز شده را داشته باشد. بهترین میکروارگانیسم‌های شناخته‌شده برای تولید اتانول از هگروزها مخمر ساکارومایسس سرویزیه و باکتری زایموموناس موبیلیس هستند که بازده اتانول زیادی دارند (۹۷-۹۰ درصد بازده تئوری) و همچنین تحمل زیاد اتانول تا حدود ۱۰ درصد وزنی/حجمی در محیط تخمیر دارا هستند [۳۲] که رابطه استوکیومتری تخمیر آن به‌صورت زیر است [۷]:



۵- انواع فرآیندهای تولید اتانول

۵-۱- هیدرولیز و تخمیر جداگانه (SHF)^۶

در فرآیند هیدرولیز و تخمیر جداگانه، مواد لیگنوسلولزی از طریق هیدرولیز آنزیمی به قندهای مونومری تجزیه شده که سبب تبدیل بیشتر به زیست‌اتانول می‌شوند. این روش نوعی تولید متداول زیست‌اتانول است که در آن فرآیندهای قندسازی و تخمیر به‌طور جداگانه انجام می‌شود، که بسیار زمان‌بر و پرهزینه است (شکل ۳). مهم‌ترین مزیت این فرآیند هیدرولیز است و تخمیر می‌تواند در شرایط واکنش بهینه شده خاص خود عمل کند. محدودیت اصلی فرآیند هیدرولیز و تخمیر جداگانه (SHF)، کنترل فعالیت سلولاز توسط قندهای آزاد شده در فاز هیدرولیز است. در سال‌های اخیر، تکنیک‌های مختلف جهت بهینه‌سازی هیدرولیز و تخمیر جداگانه انجام شده است [۶ و ۳۳].

پیش تیمار زیستی زیست توده بر پایه قارچ‌های تجزیه‌کننده چوب است. این قارچ‌ها آنزیم‌هایی را تولید می‌کنند که قادر به دی‌پلیمریزه کردن یا جداسازی لیگنین، سلولز و همی‌سلولزها هستند. قارچ‌های تجزیه‌کننده چوب از طریق تجزیه شیمیایی دیواره‌های سلول‌های گیاهی عمل می‌کنند و منجر به تغییر رنگ و تخریب چوب می‌شوند. قارچ‌ها ممکن است به تمام اشکال چوب، یعنی درختان در حال رشد، الوار و همچنین تجهیزات و تأسیسات چوبی حمله کنند [۲۶].

عوامل زیستی مخرب چوب که موجب تغییر در ترکیبات شیمیایی و همچنین شکل ماکروسکوپی چوب می‌شوند به سه گروه اصلی یعنی پوسیدگی چوب قهوه‌ای (تجزیه سلولز و پنتوزان‌ها)، پوسیدگی سفید (تجزیه لیگنین) و پوسیدگی کامل (تجزیه همه اجزای چوب) تقسیم‌بندی می‌شوند. پوسیدگی می‌تواند چندین آنزیم، به‌عنوان مثال، لیگنین پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز وابسته به منیزیم تولید کند. بررسی‌های مربوط به کاربرد پوسیدگی تولید شده توسط فانروچات کریسوسپوریوم^۱، فلبیا رادیات^۲، دیشمیتوس^۳ اسکوالنز^۴، ریجیدوسپوروس لیگنوسوس و جانگوا سپارابیلیما نشان می‌دهد که پوسیدگی می‌تواند به‌طور انتخابی باعث هیدرولیز ماده لیگنوسلولزی و دی‌پلیمریزه شدن شود. با این حال، این روش زمان‌بر است و حداقل یک هفته طول به‌طول می‌انجامد. مهم‌ترین مزیت کاربرد قارچ‌ها تجزیه لیگنین با کارایی زیاد است. متأسفانه پیش تیمار زیستی از نظر اقتصادی و زمان بسیار پرهزینه است و اغلب در مقیاس صنعتی مورد استفاده قرار نمی‌گیرد [۲۱].

۴- فرآیند تخمیر

تخمیر قلب یک فرآیند تولید اتانول است که در آن قندها با انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها به اتانول تبدیل می‌شوند. مواد اولیه یا بستر ویژه تخمیر، عموماً یک محلول حاوی قندهای طبیعی مانند محصول جانبی عملیات استخراج قند از چغندر قند، ملاس، یا سایر ضایعات یا محصولات کم ارزش مانند محصولات جانبی صنایع آب میوه است. دسته دیگر مواد اولیه برای تخمیر، محلول قند حاصل از فرآیند هیدرولیز اولیه، به‌عنوان مثال، دانه‌ها یا مواد لیگنوسلولزی است. این مراحل هیدرولیز به‌طور کلی توسط آنزیم‌ها یا اسیدها انجام می‌شود. با

¹. Phanerochaete chrysosporium

². Phlebia radiata

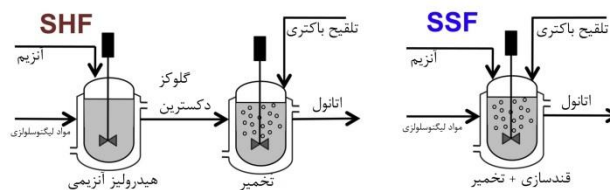
³. Dichmitus squalens

⁴. Rigidosporus lignosus

⁵. Jungua separabilima

⁶. Zymomonas mobilis

⁷. Separated Hydrolysis and Fermentation (SHF)



شکل ۳- مقایسه دو فرآیند تخمیر SHF و SSF [۳]

اتانول یک محصول تخمیر و همچنین یک ترکیب سمی شناخته شده برای میکروارگانیسم‌های متداول و حتی میکروارگانیسم‌های تولید کننده زیست‌اتانول است. اتانول ترکیب ضد میکروبی مهم با عملکرد گسترده و غیر خاص است. اتانول می‌تواند به راحتی از طریق غشای سلولی پخش شود و متابولیسم‌های گلوکز را کاهش دهد. اتانول می‌تواند فعالیت میکروبی را کاهش دهد و حتی آنزیم‌های تجزیه‌کننده گلوکز را نادیده بگیرد. دلیل اثرات بازدارندگی اتانول به احتمال زیاد با کاهش فعالیت آبی (wa)^۲، نسبت فشار بخار آب در ماده و فشار بخار آب خالص در همان دما مرتبط است. فعالیت آبی خالص ۱ است و اغلب باکتری‌ها و قارچ‌ها به ترتیب به فعالیت آبی بیشتر از ۰/۹۱ و ۰/۷ احتیاج دارند و برای رشد مقدار ۰/۹۹ درصد را ترجیح می‌دهند. مخمر ساکارومایسس سرویزیه^۳ می‌تواند تنها در یک محیط با فعالیت آبی بین ۰/۹-۰/۹۹ و محدوده بهینه ۰/۹۷۵-۰/۹۹۹ رشد کند. اثرات فعالیت آبی نیز بر رشد به دما، pH، میزان مواد مغذی و سایر عوامل بستگی دارد. دمای زیاد منبع تنش است که با تنش آب هم افزایی می‌کند. سویه‌های صنعتی برای تولید اتانول باید تحمل به اتانول زیادی داشته باشند. در غلظت‌های کم اتانول، به‌عنوان مثال، کمتر از ۲ درصد، اثر بازدارندگی معمولاً ناچیز است، اما در غلظت‌های بیش‌تر می‌تواند به سرعت افزایش یابد [۱۵]. خطوط تولید فعلی، اتانول را با غلظت حدود ۱۰-۹ درصد تولید می‌کنند، در حالی که غلظت اتانول از لیگنوسلولزها ممکن است ۴-۵ درصد برسد [۱۱]. تعداد محدودی از میکروارگانیسم‌ها وجود دارند که می‌توانند اتانول را در غلظت بیش از ۱۱ درصد تحمل کنند [۳۴].

۲-۶- بازدارندگی کاتابولیتی یا قند

غلظت زیاد قندها می‌تواند بازده اتانول و بهره‌وری را کاهش دهد. غلظت زیاد قند به‌عنوان بازدارنده کاتابولیتی یا قند می‌باشد که فعالیت آنزیم‌ها را در مسیر تخمیر می‌تواند کاهش دهد. بازدارنده قند بستگی به سویه باکتری دارد و به‌طور معمول در غلظت ۱۵۰ گرم در لیتر گلوکز شروع می‌شود. با این حال، سویه‌هایی وجود دارد که می‌توانند به‌خوبی در غلظت‌های بیشتر (۲۵۰-۵۰۰ گرم در لیتر) رشد کنند. از طرف دیگر، غلظت قند بیش از ۵۰۰ گرم در لیتر منجر به رشد خیلی کم و شرایط بسیار سخت برای رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شود. یک کاربرد صنعتی از این واقعیت

۵-۲- هیدرولیز و تخمیر همزمان (SSF)

در سال‌های اخیر، روش هیدرولیز و تخمیر همزمان که در آن هیدرولیز زیست‌توده با تخمیر همزمان قندها، در یک راکتور انجام می‌شود. به‌عبارت ساده‌تر، در فرآیند SSF، زیست‌توده لیگنوسلولزی به‌طور همزمان تجزیه و تخمیر می‌شود. در این استراتژی از آنزیم‌ها حداکثر استفاده می‌شود، به‌گونه‌ای که غلظت قند محلول به میزان کنترل میکروارگانیسم‌های تخمیر نمی‌رسد. تولید کلی زیست‌اتانول در SSF معمولاً از SHF بهتر است. مزیت SSF این است که هیدرولیز مواد یعنی واحدهای گلوکز و سلوبیوز به دلیل تخمیر فوری و همزمان، فعالیت سلولز را کنترل نمی‌کنند. محدودیت اصلی SSF این است که درجه حرارت مطلوب مورد نیاز برای فعالیت آنزیم سلولاز بیشتر از دمای مورد نیاز برای فعالیت مخمر و سویه‌های باکتریایی تخمیر سوخت‌های زیستی است [۶] و [۳۳]. در جدول ۱، مزایا و محدودیت‌های فرآیندهای اصلی تخمیر انجام شده است.

جدول ۱- مزایا و محدودیت‌های فرآیندهای تخمیر SHF و SSF [۴]

فرآیند تخمیر	ویژگی‌ها و مزایا	محدودیت‌ها
هیدرولیز و تخمیر جداگانه (SHF)	- هر مرحله را می‌توان تحت شرایط بهینه خودش اجرا کرد.	- بازدارنده‌های نهایی، بازده اتانول را به حداقل می‌رساند.
هیدرولیز و تخمیر همزمان (SSF)	- مراحل جداگانه تعامل بین مراحل را به حداقل می‌رساند.	- احتمال آلودگی به دلیل فرآیند طولانی مدت
هیدرولیز و تخمیر همزمان (SSF)	- کم‌هزینه - بازده بیشتر زیست اتانول - به دلیل حذف بازدارنده‌های انتهایی مرحله قندسازی - نیاز کمتر به تعداد راکتور	- تفاوت در شرایط دمای مطلوب آنزیم برای هیدرولیز و تخمیر

۶- بازدارنده‌های تولید اتانول

۶-۱- اتانول به‌عنوان بازدارنده تولید "اتانول"

². Water activity (wa)
³. *Saccharomyces cerevisiae*
⁴. Strain

¹. Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

باکتری‌های اشرشیا کولی بر روی مخلوطی از گلوکز و لاکتوز کشت می‌شوند، ابتدا گلوکز و سپس لاکتوز را جذب می‌کنند. اغلب میکروارگانیسم‌ها گلوکز و فروکتوز را ترجیح می‌دهند و نمی‌توانند شروع به جذب قندهای دیگر کنند، در حالی که این قندها به مقدار قابل توجهی در دسترس هستند. بنابراین، وقتی یک بخش هیدرولیز شده سلولزی وجود دارد که حاوی گلوکز است، میزان تولید زیست‌اتانول ممکن است بیشتر از هیدرولیزهای همی سلولزها باشد، حتی اگر به طور عمده حاوی هگزوزها باشد [۱۵ و ۳۷]. یک مزیت بالقوه از تبدیل قندهای مخلوط ثبات فرآوری در فرآیند است. برای بهینه‌سازی بهره‌وری حجمی، فرآیندهای صنعتی به طور مطلوب باید زیست‌توده مخمر را بازیافت کنند، نه اینکه هر چرخه دسته‌ای جدید را با یک تلقیح جدید از زیست‌توده مخمر آغاز کنند. لذا، چنین سیستم بازیافت زیست‌توده مخمر نیاز به ثبات سینتیکی تخمیر از طریق تعداد زیادی چرخه کشت دارد [۳۸].

۵-۶- مشتقات فوران

مواد لیگنوسلولزی، از جمله چوب، ضایعات جنگل و پسماندهای کشاورزی، به طور بالقوه می‌توانند برای تولید اتانول مورد استفاده قرار گیرند [۴۰-۳۹]. قبل از تخمیر، سلولز و همی سلولزها با ترکیبی از فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی به قندهای مونومری تبدیل می‌شوند [۲۰-۱۹]. در این فرآیندها عوامل بازدارنده، از جمله اسیدهای کربوکسیلیک، فوران و ترکیبات فنلی تشکیل می‌شوند [۴۱ و ۴۲]. ترکیبات بازدارنده می‌توانند سرعت رشد و بازده اتانول را کاهش دهند [۴۳]. اثر بازدارندگی مشتقات فوران بر میکروارگانیسم‌ها به طور گسترده در تولید اتانول مورد مطالعه قرار گرفته است [۴۴-۴۵].

فورفورال به عنوان یکی از مهم‌ترین بازدارنده‌های تخمیر بسیاری از میکروارگانیسم‌ها شناخته شده است. در صورت وجود اسیدها در دماهای زیاد، قند پنج کربن مانند زایلوز می‌تواند تحت اثر آب‌زدایی قرار بگیرند و سه مولکول آب را برای تشکیل فورفورال از دست دهند. اثرات فورفورال در تخمیر توسط میکروارگانیسم‌های مختلف موضوع بسیاری از تحقیقات به‌ویژه در تخمیر هیدرولیزهای اسیدی لیگنوسلولزها بوده است. در حالی که غلظت فورفورال یک گرم در لیتر و بیش‌تر، اثرات منفی واضحی در بسیاری از باکتری‌ها، مخمرها

ملاس است که تفاله متمرکز صنایع قند با غلظت قند حدود ۵۰ درصد است [۱۵]. استفاده از تخمیر در حضور اکسیژن و در غلظت‌های زیاد گلوکز به عنوان اثر کرابتری گفته می‌شود [۳۵]. این بدین معنی است که اثر کرابتری مشاهداتی را توصیف می‌کند که وقتی غلظت‌های زیاد گلوکز یا فروکتوز به محیط کشت اضافه می‌شود، تنفس اغلب کنترل می‌شود.

۶-۲- غلظت کم قند

مدل‌های ریاضی برای تعیین تعامل کمی پارامترهای محیطی و سینتیک سلول توسعه داده شده است. به طور کلی، از معادله مونود (رابطه ۲) برای توصیف رابطه بین سرعت رشد و غلظت سوبسترا استفاده می‌شود. با این حال، این مدل بازدارندگی ناشی از غلظت زیاد سوبسترا و محصول را تشکیل نمی‌دهد [۳۶]. میزان تولید اتانول در شرایط بی‌هوازی با غلظت قند توسط معادله مونود مرتبط است. با این حال، غلظت بسیار کم قند، به عنوان مثال، کمتر از حدود ۳ گرم در لیتر، موجب از بین رفتن میکروارگانیسم‌های تولیدکننده اتانول شده و از این طریق بازده اتانول را کاهش می‌دهد [۱۵ و ۳۶].

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S} \quad (2)$$

μ ، تولید اتانول (گرم اتانول / گرم زیست توده در ساعت)، μ_{\max} حداکثر سرعت رشد مخصوص (h^{-1}) ، S ، غلظت سوبسترای قند (گرم در لیتر)، K_s ، ثابت اشباع، به طور معمول بین ۰/۲ تا ۰/۴ گرم در لیتر است که برای کاربردهای صنعتی بسیار کمتر از S است. بنابراین، بازده اتانول بسیار نزدیک به μ_{\max} و مستقل از غلظت قند در فرآیندهای تخمیر معمولی است.

۶-۴- برهمکنش قندهای مخلوط در تخمیر

هنگامی که یک مخلوط قند (همی سلولزهای هیدرولیز شده) که عموماً حاوی گلوکز، زایلوز، مانوز و گالاکتوز هستند، تخمیر می‌شود، بازدارندگی کاتابولیت می‌تواند تولید اتانول را کاهش دهد. سرکوب کاتابولیت که در بیشتر میکروارگانیسم‌ها مشاهده شده است، به آن‌ها اجازه می‌دهد تا سریعاً با یک قند ترجیحی سازگار شوند و آن را متابولیزه کنند. از طرف دیگر، این پدیده می‌تواند سنتز آنزیم‌های درگیر در کاتابولیس قندها به غیر از مادون قرمز را کنترل کند. به عنوان مثال، وقتی

¹. Crabtree effect
². Monod

³. Escherichia coli

• هنگام استفاده مجدد از فاضلاب یا پساب، برای جلوگیری از تجمع بازدارنده‌ها، ترکیب آن با آب تازه باید در یک نسبت مناسب باشد [۱۵ و ۳۷].

۷-۲- اصلاح میکروارگانسیم‌ها

نقطه ضعف اصلی اکثر مخمرهای ساکارومایسس سروویزه و باکتری زایموموناس موبیلیس، عدم توانایی آن‌ها در استفاده از زایلوز به‌عنوان قند اصلی C_5 حاصل از همی سلولزهای مواد لیگنوسلولزی است. سایر میکروارگانسیم‌های شناخته‌شده برای تخمیر زایلوز به اتانول، مانند باکتری‌های روده‌ای و مخمرهای پیچیا استیپیتیس، کاندیدا شهاتا و پاچیسولن تانوفیلوس با بازده اتانول کم و تمایل آن‌ها به جذب مجدد اتانول تولیدی شناخته می‌شوند. برای برطرف کردن این مشکل، گونه‌های ژنتیکی اصلاح‌شده از گونه‌های ساکارومایسس سروویزه که قادر به تخمیر هگزوزها و پنتوزها هستند، تولید و کشت شده‌اند [۳۲]. بنابراین، میکروارگانسیم‌های اصلاح‌شده یا مهندسی‌شده ژنتیکی برای دستیابی به مصرف کامل قندها در زیست‌توده هیدرولیز شده و تولید بهینه‌تر استفاده می‌شوند. فرآیندهایی که معمولاً در تخمیر زیست‌توده لیگنوسلولزی هیدرولیز شده به‌کار می‌روند هیدرولیز و تخمیر همزمان (SSF) و هیدرولیز و تخمیر جداگانه (SHF) هستند [۴]. سازگاری میکروارگانسیم‌ها در کنترل هیدرولیزها به‌عنوان یک جایگزین یا بهبود سم‌زدایی پیشنهاد شده است. این سازگاری می‌تواند باعث افزایش نرخ تخمیر و عملکرد تولید اتانول از محیط بازدارنده شود. در برخی موارد، پیشرفت‌های بسیار خوبی گزارش شده است. ممکن است از سازگاری برای بهبود مصرف همزمان قندهای مختلف استفاده شود. به‌عنوان مثال، چندین گونه از گونه مخمر ساکارومایسس سروویزه قادر به استفاده از گالاکتوز در حضور گلوکز نمی‌باشند. با این حال، سویه سازگار ممکن است قادر به استفاده همزمان از گلوکز و گالاکتوز در حضور اسید استیک باشد. بهترین روش برای سازگاری ارگانسیم‌های تخمیر احتمالاً فرآیند تخمیر پیوسته است. این فرآیند به‌طور طبیعی میکروارگانسیم‌ها را با بازدارنده‌ها تطبیق می‌دهد، علاوه بر این مزایای دیگری مانند بازده بیشتر زیست‌اتانول، هزینه و زمان کاری کمتر برای تمیزکردن و پر کردن را نیز در اختیار قرار می‌دهد. هدف بررسی و مقایسه خواص میکروارگانسیم‌های مختلف و تلاش‌های تحقیقاتی فعلی برای ایجاد یک میکروارگانسیم قابل اعتماد برای تبدیل کارآمد لیگنوسلولزها به اتانول می‌باشد [۱۵].

و قارچ‌های رشته‌ای بر روی حیات، زنده‌مانی، سرعت رشد خاص، فاز تاخیر، بازده و بهره‌وری اتانول دارد. با این حال، اثرات بازدارندگی فورفورال به غلظت آن و سویه باکتری مورد استفاده بستگی دارد. فورفورال سرعت تولید اتانول را کاهش می‌دهد، اما به‌طور معمول بر عملکرد اتانول‌نهایی تأثیر نمی‌گذارد [۱۵].

مخمر ساکارومایسس سروویزه میکروارگانسیم غالب در صنعت تخمیر اتانول است. این گونه مخمر نسبت به سایر میکروارگانسیم‌های منتخب مانند اشرشیا کولی، زایموموناس موبیلیس، پیچیا استیپیتیس و کاندیدا شهاتا نسبت به سایر بازدارنده‌ها مانند اسید استیک، فورفورال و ۵-هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) تحمل بیشتری دارد. گونه‌های ساکارومایسس سروویزه اختلاف معنی‌داری در ظرفیت تخمیر و تحمل به بازدارنده‌ها مشتق از لیگنوسلولزی دارند. تحمل نسبت به ترکیبات آلدئید به احتمال زیاد به دلیل توانایی میکروارگانسیم‌ها در تبدیل این ترکیبات به الکل‌های کم بازدارنده مربوطه است. هیدرولیزهای اسید رقیق اغلب به‌شدت بازدارنده می‌شوند و نمی‌توانند در حالت دسته‌ای تخمیر شوند، اما ممکن است توسط مخمر ساکارومایسس سروویزه بدون سم‌زدایی قبلی در حالت تغذیه دسته‌ای تخمیر شوند [۴۶].

۷-۲- روش‌های کاهش عوامل بازدارنده

۷-۱- غلظت بازدارنده‌ها

غلظت قندها، اتانول، نمک‌ها و سایر بازدارنده‌ها باید کمتر از آستانه تحمل میکروارگانسیم‌های مورد استفاده باقی بمانند. بنابراین، نکات زیر باید در نظر گرفته شود:

- غلظت مناسب قندها باید به اندازه کافی زیاد باشد تا بتواند حداکثر میزان جذب قندها را تحریک کند و کمتر از غلظت بازدارنده مربوطه باشد. اگر از غلظت قند بسیار زیاد استفاده می‌شود، کشت نیمه پیوسته یا کشت پیوسته برای حفظ غلظت قند مناسب است.
- با انتخاب غلظت قند مناسب، یا از بین بردن اتانول تولید شده به‌عنوان مثال، تبخیر خلاء یا جداسازی غشاء از غلظت زیاد اتانول جلوگیری گردد.
- اگر سوبسترا به دلیل قند یا نمک زیاد موجب تنش اسمزی بسیار زیادی گردد، باید آن را تا حد قابل قبول و مناسب برای میکروارگانسیم مورد استفاده رقیق کرد.

¹. *Zymomonas mobilis*

². *Pichia stipitis*

³. *Candida shehatae*

۳-۷- مهندسی ژنتیک

برای حل مشکلات بازدارنده‌ها می‌توان از مهندسی متابولیک استفاده کرد. ژن‌های بسیار فعال‌کننده رمزگذاری کننده آنزیم‌ها برای مقاومت در برابر بازدارنده‌ها مانند همسانه‌سازی ژن‌های لاکاز و تغییر تعادل کوفاکتور از جمله راهکارهای تخمیر هیدرولیزهای سمی است. ژن‌های بیان کننده رمزگذاری ردوکتاز فورفورال، لاکاز و فنیل آکرلیک اسید دکربوکسیلاز از جمله متداول‌ترین روش‌ها هستند. برای تولید یک سویه برای تبدیل مؤثر هیدرولیزها، این ماده باید مخلوط قند را به اتانول تخمیر کرده و در بازدارنده‌های مقاوم در برابر متابولیزه شدن در هیدرولیزهای لیگنوسولزی استفاده گردد. این سویه ترجیحاً نباید اسید لاکتیک و زایلیتول را به‌عنوان محصول فرعی تولید کند [۱۵].

۴-۷- روش تخمیر برای غلبه بر بازدارنده‌ها

فرآیند تخمیر می‌تواند به‌صورت ناپیوسته، نیمه پیوسته یا پیوسته مداوم انجام شود. در حالی که تمام مواد یک بار در فرآیند ناپیوسته به راکتور تغذیه می‌شوند، در فرآیند نیمه پیوسته و پیوسته، آنها با مقدار کمی از محیط کشت به‌طور مداوم تغذیه می‌شوند. بنابراین، قندها و همچنین بازدارنده‌ها در ابتدای تخمیر در یک راکتور ناپیوسته از غلظت زیادی برخوردار هستند، در حالی که می‌توان غلظت آنها را در حالت نیمه پیوسته و پیوسته در حداقل مقدار ممکن نگه داشت. ترکیبی از این واقعیت‌ها، و همچنین توانایی تبدیل برخی از بازدارنده‌ها "در غلظت کم آنها" توسط میکروارگانیسم‌های تخمیر منجر به موفقیت در فرآیندهای نیمه پیوسته و پیوسته می‌شود، در حالی که این مکانیسم ممکن است در تخمیرهای ناپیوسته از همان هیدرولیزها امکان‌پذیر نباشد [۱۲ و ۱۵].

۵-۷- سم‌زدایی ماده زمینه (حذف یا کاهش ترکیبات بازدارنده)

تاکنون روش‌های مختلفی برای سم‌زدایی از هیدرولیزهای لیگنوسولزی مطالعه و پیشنهاد شده است. با این حال، نیاز به

سم‌زدایی و روش مورد استفاده به نوع بازدارنده و تحمل میکروارگانیسم تخمیر بستگی دارد. سم‌زدایی معمولاً با تجهیزات اضافی، تولید ضایعات اضافی و از اتلاف قندها همراه است. بنابراین، تجهیز فرآیند تولید اتانول به سیستم سم‌زدایی فقط باید زمانی در نظر گرفته شود که تخمیر بدون انجام آن امکان‌پذیر نباشد [۱۲].

از جمله روش‌های پیشنهادی برای سم‌زدایی سوبسترا می‌توان به روش آنزیمی، فیزیکی و شیمیایی اشاره کرد. در روش آنزیمی، از برخی آنزیم‌های ویژه مانند لاکاز استفاده می‌شود که می‌توانند با استفاده از دی‌پلمریزه کردن اکسایشی، ترکیبات فنلی با وزن مولکولی کم را سم‌زدایی نماید [۴۶]. در روش فیزیکی از هیچ نوع ماده شیمیایی یا آنزیمی استفاده نمی‌شود، بلکه با استفاده از روش‌های تبخیر خلاء و تقطیر با بخار آب، مقادیر ترکیبات فرار مانند فورفورال، اسیداستیک و وانیلین کاهش می‌یابد. بهبود فرآیند تخمیر پس از کاربرد تبخیر خلاء در برخی موارد مشاهده و گزارش شده است [۵۰-۴۸]. در روش شیمیایی سم‌زدایی، برخی مواد شیمیایی موجب تغییر درجه سمیت از طریق رسوب و یون‌سازی برخی بازدارنده‌ها می‌گردند. موادی مانند رزین‌های تبادل یون [۴۷]، کربن فعال [۵۱] و خاک دیاتومه [۹] برای جذب این بازدارنده‌ها بررسی شده است. همچنین، تیمار با هیدروکسید کلسیم (آهک) و اکسید کلسیم از جمله روش‌های شیمیایی متداول است که در آن ترکیبات فنلی، فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال حذف می‌شوند و قابلیت تخمیر قندها افزایش می‌یابد [۵۲]. در جدول ۲، عملکرد برخی مواد پرکاربرد در سم‌زدایی جهت حذف ترکیبات بازدارنده در تخمیر اتانول و بهبود بازده ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تیمار تبادل یونی در حذف فوران‌ها (۶۳/۴ درصد) و ترکیبات فنلی (۷۵/۸ درصد) مؤثرتر می‌باشد. تیمار با کربن فعال بهترتیب ۳۸/۷ درصد و ۵۷ درصد کاهش در فوران‌ها و ترکیبات فنلی ایجاد می‌کند. تیمار با آنزیم لاکاز ۷۷/۵ درصد ترکیبات فنلی را بدون تاثیر بر فوران‌ها کاهش داد.

جدول ۲- بازده حذف ترکیبات بازدارنده در تخمیر زیست‌اتانول [۴۷].

ماده	حذف ترکیبات (%)	
	فوران‌ها	ترکیبات فنلی
آنزیم لاکاز	بدون تاثیر	۷۷/۵
رزین‌های تبادل یون	۶۳/۴	۷۵/۸
کربن فعال	۳۸/۷	۵۷/۵

۵. Vacuum evaporation
۶. Steam stripping

۱. Cloning
۲. Batch
۳. Fed-Batch
۴. Continuous

۸- نتیجه‌گیری

عوامل بازدارنده در تولید زیست‌تانول می‌تواند توسط بسیاری از ترکیبات ایجاد شود، که به‌طور طبیعی در مواد لیگنوسلولزی وجود دارند یا در طی فرآیند تخمیر و / یا پیش تیمار تولید می‌شوند. عملکرد بسیاری از روش‌ها برای برطرف کردن عوامل بازدارنده به منبع بازدارنده بستگی دارد. اگر بازدارنده‌ها به‌طور طبیعی در ماده زمینه ایجاد می‌شوند، تکنیک‌های سم‌زدایی، تخمیر نیمه پیوسته و تثبیت سلول ممکن است روش‌های مناسبی باشد. در ضمن، اگر بازدارنده‌ها در طول تخمیر یا پیش تیمار تشکیل شوند؛ سم‌زدایی با استفاده از تقطیر با بخار آب یا تبخیر خلاء، استفاده از برخی مواد مانند آنزیم لاکاز، کرین فعال زئولیت‌ها و رزین‌های تبادل یون می‌تواند اقدامات مناسب و تاثیرگذاری باشد. بنابراین، انتخاب روش صحیح سم‌زدایی از اهمیت برخوردار است. علاوه بر این، بهینه‌سازی مراحل پیش تیمار و هیدرولیز می‌تواند تشکیل عوامل بازدارنده را کاهش دهد.

منابع

- straw: an overview. *Bioethanol Production from Food Crops*. 2019: 213-31.
- [7] Wyman CE, Kumar R, Cai CM. *Bioethanol from lignocellulosic biomass*. New York: Springer; 2017.
- [8] Xia A, Jacob A, Tabassum MR, Herrmann C, Murphy JD. Production of hydrogen, ethanol and volatile fatty acids through co-fermentation of macro-and micro-algae. *Bioresource Technology*. 2016; 205:118-25.
- [9] Pandey A, editor. *Handbook of plant-based biofuels*. Florida: CRC press; 2008.
- [10] Lin Y, Tanaka S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2006; 69:627-42.
- [11] Gnansounou E, Dauriat A. Techno-economic analysis of lignocellulosic ethanol: a review. *Bioresource Technology*. 2010; 101(13):4980-91.
- [12] Palmqvist E, Hahn-Hägerdal B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*. 2000; 74(1):25-33.
- [13] Gu H, Zhu Y, Peng Y, Liang X, Liu X, Shao L, Xu Y, Xu Z, Liu R, Li J. Physiological mechanism of improved tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* to lignin-derived phenolic acids in lignocellulosic ethanol fermentation by short-term adaptation. *Biotechnology for Biofuels*. 2019; 12:1-4.
- [14] Kim SK, Westpheling J. Engineering a spermidine biosynthetic pathway in *Clostridium thermocellum* results in increased resistance to furans and increased ethanol production. *Metabolic Engineering*. 2018; 49:267-74.
- [15] Taherzadeh MJ, Karimi K. Fermentation inhibitors in ethanol processes and different strategies to reduce their effects. In *Biofuels 2011* (pp. 287-311). Academic Press.
- [16] Toquero C, Bolado S. Effect of four pretreatments on enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation of wheat straw. Influence of inhibitors and washing. *Bioresource Technology*. 2014; 157:68-76.
- [17] Zuccaro G, Pirozzi D, Yousuf A. Lignocellulosic biomass to biodiesel. In *Lignocellulosic Biomass to Liquid Biofuels 2020* (pp. 127-167). Academic Press.
- [18] Soltanian S, Aghbashlo M, Almasi F, Hosseinzadeh-Bandbafha H, Nizami AS, Ok YS, Lam SS, Tabatabaei M. A critical review of the effects of pretreatment methods on the exergetic aspects of lignocellulosic biofuels.
- [1] Taghizadeh-Alisaraei A, Motevali A, Ghobadian B. Ethanol production from date wastes: Adapted technologies, challenges, and global potential. *Renewable Energy*. 2019; 143:1094-110.
- [2] Klinke HB, Thomsen AB, Ahring BK. Inhibition of ethanol-producing yeast and bacteria by degradation products produced during pre-treatment of biomass. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2004; 66:10-26.
- [3] Nazarpour M, Taghizadeh-Alisaraei A, Asghari A, Abbaszadeh-Mayvan A, Tatari A. Optimization of biohydrogen production from microalgae by response surface methodology (RSM). *Energy*. 2022; 253:124059.
- [4] Taghizadeh-Alisaraei A, Tatari A, Khanali M, Keshavarzi M. Potential of biofuels production from wheat straw biomass, current achievements and perspectives: a review. *Biofuels*. 2023; 14(1):79-92.
- [5] Zabed H, Sahu JN, Boyce AN, Faruq G. Fuel ethanol production from lignocellulosic biomass: an overview on feedstocks and technological approaches. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2016; 66:751-74.
- [6] Swain MR, Singh A, Sharma AK, Tuli DK. Bioethanol production from rice-and wheat

- the digestion process. *Journal of Cleaner Production*. 2020; 267:121721.
- [29] Ho MC, Ong VZ, Wu TY. Potential use of alkaline hydrogen peroxide in lignocellulosic biomass pretreatment and valorization—a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2019; 112:75-86.
- [30] Kim JS, Lee YY, Kim TH. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 2016; 199:42-8.
- [31] Maryana R, Ma'rifatun D, Wheni AI, Satriyo KW, Rizal WA. Alkaline pretreatment on sugarcane bagasse for bioethanol production. *Energy Procedia*. 2014; 47:250-4.
- [32] Talebnia F, Karakashev D, Angelidaki I. Production of bioethanol from wheat straw: an overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. *Bioresource Technology*. 2010; 101(13):4744-53.
- [33] Toor M, Kumar SS, Malyan SK, Bishnoi NR, Mathimani T, Rajendran K, Pugazhendhi A. An overview on bioethanol production from lignocellulosic feedstocks. *Chemosphere*. 2020; 242:125080.
- [34] Breisha GZ. Production of 16% ethanol from 35% sucrose. *Biomass and Bioenergy*. 2010; 34(8):1243-9.
- [35] Pfeiffer T, Morley A. An evolutionary perspective on the Crabtree effect. *Frontiers in molecular biosciences*. 2014; 1:17.
- [36] 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. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2016; 66:210-6.
- [37] Wikandari R, Sanjaya AP, Millati R, Karimi K, Taherzadeh MJ. Fermentation inhibitors in ethanol and biogas processes and strategies to counteract their effects. In *Biofuels: alternative feedstocks and conversion processes for the production of liquid and gaseous biofuels 2019* (pp. 461-499). Academic Press.
- [38] Verhoeven MD, de Valk SC, Daran JM, van Maris AJ, Pronk JT. Fermentation of glucose-xylose-arabinose mixtures by a synthetic consortium of single-sugar-fermenting *Saccharomyces cerevisiae* strains. *FEMS Yeast Research*. 2018; 18(8): foy075.
- [39] Frankó B, Galbe M, Wallberg O. Bioethanol production from forestry residues: A *Energy Conversion and Management*. 2020; 212:112792.
- [19] Tatari AA, Zeynali F. Hemicelluloses: effects, types and their applications as dry strength polymers of paper. *Basparesh*. 2014; 3(4):13-25. (In Persian)
- [20] Tatari A, Dehghani Firouzabadi M, Yadollahi R, Ghaffari M. A brief review on biorefinery of natural polymers (hemicelluloses and lignin) in pulp and paper industry. *Basparesh*. 2015; 4(4):32-43. (In Persian)
- [21] Kucharska K, Rybarczyk P, Hołowacz I, Łukajtis R, Glinka M, Kamiński M. Pretreatment of lignocellulosic materials as substrates for fermentation processes. *Molecules*. 2018; 23(11):2937.
- [22] Sankaran R, Cruz RA, Pakalapati H, Show PL, Ling TC, Chen WH, Tao Y. Recent advances in the pretreatment of microalgal and lignocellulosic biomass: A comprehensive review. *Bioresource Technology*. 2020; 298:122476.
- [23] Shahnouri SA, Taghizadeh-Alisarai A, Abbaszadeh-Mayvan A, Tatari A. Catalytic microwave pyrolysis of mushroom spent compost (MSC) biomass for bio-oil production and its life cycle assessment (LCA). *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2022: 1-7.
- [24] Luo J, Fang Z, Smith Jr RL. Ultrasound-enhanced conversion of biomass to biofuels. *Progress in Energy and Combustion Science*. 2014; 41:56-93.
- [25] Kumar AK, Sharma S. Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review. *Bioresources and bioprocessing*. 2017; 4(1):1-9.
- [26] Saratale GD, Saratale RG, Banu JR, Chang JS. Biohydrogen production from renewable biomass resources. In *Biohydrogen 2019* (pp. 247-277). Elsevier.
- [27] Deng LZ, Mujumdar AS, Zhang Q, Yang XH, Wang J, Zheng ZA, Gao ZJ, Xiao HW. Chemical and physical pretreatments of fruits and vegetables: Effects on drying characteristics and quality attributes—a comprehensive review. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2019; 59(9):1408-32.
- [28] Sołowski G, Konkol I, Cenian A. Production of hydrogen and methane from lignocellulose waste by fermentation. A review of chemical pretreatment for enhancing the efficiency of

- stover prehydrolyzate. In 2009 International Conference on Energy and Environment Technology 2009 (Vol. 3, pp. 240-243). IEEE.
- [49] Santos Bernardes MA. Biofuel Production-Recent Developments and Prospects. *Figure*. 2011; 4:330.
- [50] Díaz VH, Tost GO. Butanol production from lignocellulose by simultaneous fermentation, saccharification, and pervaporation or vacuum evaporation. *Bioresource Technology*. 2016; 218:174-82.
- [51] Lee JM, Venditti RA, Jameel H, Kenealy WR. Detoxification of woody hydrolyzates with activated carbon for bioconversion to ethanol by the thermophilic anaerobic bacterium *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*. *Biomass and Bioenergy*. 2011; 35(1):626-36.
- [52] Ahmed F, Yan Z, Bao J. Dry biot detoxification of acid pretreated wheat straw for cellulosic ethanol fermentation. *Bioresources and Bioprocessing*. 2019; 6(1):1-5.
- comparative techno-economic analysis. *Applied Energy*. 2016; 184:727-36.
- [40] Yadav D, Wati L. Bioconversion of Rice Straw into Ethanol: Fungi and Yeasts are the Backbone Microbiota of the Process. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2019; 8(9):913-20.
- [41] Larsson S, Palmqvist E, Hahn-Hägerdal B, Tengborg C, Stenberg K, Zacchi G, Nilvebrant NO. The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood. *Enzyme and Microbial Technology*. 1999; 24:151-9.
- [42] Larsson S, Quintana-Sáinz A, Reimann A, Nilvebrant NO, Jönsson LJ. Influence of lignocellulose-derived aromatic compounds on oxygen-limited growth and ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. In *Twenty-First Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals: Proceedings of the Twenty-First Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals, Colorado 2000* (pp. 617-632). Humana Press.
- [43] Díaz VH, Willis MJ. On the economic optimisation of ethanol production using corn stover feedstock: A new kinetic model, a green recovery system and a de-acetylation step. *Energy Conversion and Management*. 2019; 202:112200.
- [44] Flores-Cosio G, Arellano-Plaza M, Gschaedler A, Amaya-Delgado L. Physiological response to furan derivatives stress by *Kluyveromyces marxianus* SLP1 in ethanol production. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 2018; 17(1):189-202.
- [45] Lin R, Cheng J, Ding L, Song W, Zhou J, Cen K. Inhibitory effects of furan derivatives and phenolic compounds on dark hydrogen fermentation. *Bioresource Technology*. 2015; 196:250-5.
- [46] Nilsson A, Gorwa-Grauslund MF, Hahn-Hägerdal B, Lidén G. Cofactor dependence in furan reduction by *Saccharomyces cerevisiae* in fermentation of acid-hydrolyzed lignocellulose. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005; 71(12):7866-71.
- [47] Chandel AK, Kapoor RK, Singh A, Kuhad RC. Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by *Candida shehatae* NCIM 3501. *Bioresource Technology*. 2007; 98(10):1947-50.
- [48] Zhu JJ, Yong Q, Xu Y, Yu SY. Comparative detoxification of vacuum evaporation/steam stripping combined with overliming on corn