پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال نوزدهم، شماره ۶، پی در پی ۱۰۲، صفحات ۲۹۴ تا ۳۰۳
بهمن و اسفند ۱۳۹۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۱/۱۳
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۸/۲۱

بهینه‌سازی اثر اعمال فراصوت و افزودن گلوکز بر میزان رشد سلولی *ساکارومایسس سرویزیه* (PTCC 5269) با روش پاسخ سطح (RSM)

محمد مهدی قلیان[*1]، *رضا رضائی‌مکرم*[2]، *محمد امین حجازی*[3]، *محمود صوتی‌خیابانی*[2]، *حامد همیشه‌کار*[4]، *فاطمه زنده‌بودی*[5]، *فیروزه صفائیان*[6]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد الیگودرز، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، الیگودرز، ایران
۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳. پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال غرب و غرب کشور، تبریز، ایران
۴. مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۵. گروه علوم و صنایع غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی مشهد، مشهد، ایران
۶. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *ساکارومایسس سرویزیه*، تخمیرکننده‌ی قوی است که کارایی بسیار بالایی در صنعت تخمیر و تولید محصولات تخمیری دارد. روش‌های متعددی برای افزایش میزان رشد و توده سلولی این مخمر وجود دارد، یکی از این روش‌ها استفاده از فراصوت می‌باشد. تحریک فراصوت با شدت پایین، باعث تحریک افزایش خروج آنزیم از دیواره‌ی سلولی شده و می‌تواند نفوذپذیری غشا و سرعت انتقال مواد را بهبود بخشد و رشد و تولید مثل سلول‌ها را بهینه کند. در نتیجه، کاربردی مناسب در افزایش رشد مخمر و تولید پروتئین تک سلولی خواهد داشت. هدف پژوهش حاضر، بهینه‌سازی اثر اعمال فراصوت با شدت پایین، بر رشد سلولی مخمر بود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* (PTCC 5269) استفاده شد. بهینه‌سازی توان (۲، ۶ و ۱۰ وات) و زمان (۱۰، ۲۰ و ۳۰ ثانیه) اعمال امواج فراصوت با شدت پایین و میزان غلظت گلوکز (۵، ۱۰ و ۱۵٪ حجمی- حجمی) در محیط کشت مخمر، بر راندمان رشد سلول، با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: شرایط عملکرد بهینه حاصل از روش RSM، توان فراصوت ۶ وات، زمان اعمال فراصوت ۲۰ ثانیه و افزودن ۱۰ درصد گلوکز بود. کمترین و بیشترین میزان وزن خشک مخمر، به ترتیب ۹/۱ و ۴۳/۳ میلی‌گرم مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که میزان وزن خشک با اعمال فراصوت افزایش می‌یابد. بیشترین توده‌ی سلولی مخمر پس از اعمال توان و زمان متوسط امواج فراصوت به‌دست آمد. نمونه‌ی تیمار شده با فراصوت، در مقایسه با نمونه‌های تیمار نشده با فراصوت، افزایش معنی‌داری را در وزن خشک مخمر، از خود نشان داد. با افزایش رشد سلولی، شرایط برای استفاده از مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* به عنوان پروتئین تک سلولی با توجه به خواص پروبیوتیکی این مخمر، بهینه شد.

واژگان کلیدی: توده‌ی زیستی، فراصوت، *ساکارومایسس سرویزیه*

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Gholian MM, Rezaei Mokarram R, Hejazi MA, Sowti Khiabani M, Hamishehkar H, Zendeboodi F, Safaeian F. Optimization of the effect of ultrasound and glucose added on the *Saccharomyces cerevisiae* PTCC 5269 biomass using response surface methodology (RSM). Pejouhandeh 2015;19(6):294-303.

مقدمه

روش‌های فرآیند و نگهداری غیرسنتی، به دلیل بهبود جنبه‌های تغذیه‌ای و حسی، سادگی استفاده، عدم نیاز به افزودنی‌های سنتزی، مصرف انرژی پایین و ایمنی زیست-محیطی، به سرعت در حال گسترش می‌باشند. به علاوه، تقاضای مصرف‌کننده برای غذای تازه‌تر، طبیعی‌تر و سالم‌تر که ایمنی بالاتری را فراهم کند، سبب افزایش علاقه به استفاده از روش‌های غیرحرارتی در فرآوری مواد غذایی شده است (۱). استفاده از فراصوت در فرآوری مواد غذایی، به سرعت در حال گسترش است. امواج فراصوت، به امواج با فرکانس بیش از ۲۰- ۱۸ کیلوهرتز اطلاق می‌شود که توسط انسان قابل

*نویسنده مسؤول مکاتبات: **محمد مهدی قلیان**؛ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد الیگودرز، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، الیگودرز، لرستان، ایران ؛ تلفن: ۰۹۱۶۳۶۴۶۴۳۱؛ **پست الکترونیک:** M.Mahdi.Gholian@gmail.com

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

شناسایی نیستند. این امواج، در دو محدوده‌ی امواج دارای فرکانس بالا و توان پایین و امواج دارای فرکانس پایین و توان بالا طبقه‌بندی می‌شوند (۲). شوک فراصوت توان بالا، سبب کاهش لگاریتمی مخمر شده و برای حذف میکروارگانیسم‌ها کاربرد دارد. فراصوت توان پایین، در محدوده‌ی فرکانس ۱ تا ۱۰ مگاهرتز می‌باشد که به آن فراصوت تشخیصی نیز می‌گویند. از امواج فراصوت با توان پایین، به عنوان روش تجزیه‌ای در تهیه اطلاعات مربوط به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مواد غذایی استفاده می‌شود. در این حالت، توان به‌کار رفته به حدی پایین است که پس از قطع امواج فراصوت، تغییری در خواص فیزیکی و شیمیایی موادغذایی ایجاد نمی‌شود. در نتیجه، به این تکنیک، غیرمخرب می‌گویند. به‌کارگیری شوک فراصوت توان پایین، می‌تواند سبب پیشرفت و تحریک افزایش خروج آنزیم از دیواره‌ی سلولی شده و پیش‌بینی می‌شود که از این طریق باعث افزایش بازدهی فرآیند تخمیری شود. با توجه به این تحقیقات، فراصوت توان پایین می‌تواند به عنوان یک ابزار مناسب برای بهبود فرآیندهای بیوتکنولوژیکی عمل کند (۳). فراصوت برای استخراج و افزایش خروج بسیاری از آنزیم‌های درون سلولی، از قبیل خروج انورتاز از *ساکارومایسس سرویزیه* (۵،۴)، خروج انورتاز از *Phaffia rhodozyma* (۶)، خروج انورتاز از *Aspergillus niger* (۷)، خروج آنزیم فسفاتاز اسیدی و ATP-ase از *ساکارومایسس سرویزیه* (۸) و خروج آنزیم بتاگالاکتوزیداز از لاکتوباسیلوس‌ها استفاده شده است. در تحقیق فرانکو و همکاران، تیمار فراصوت با فرکانس ۲۴ کیلوهرتز به مدت روزانه ۵ دقیقه، موجب افزایش نرخ رشد و میزان توده‌ی سلولی نهایی در *سیانوباکتریوم آنابنا* (*Anabaena flos-aquae* [*Cyanobacteria*]) شد (۹). همچنین در مطالعه‌ی چو و همکاران، اعمال فراصوت به مدت ۱۵۰ ثانیه با فرکانس ۲۵ کیلوهرتز روی *Micromonospora echinospora*، موجب افزایش ۷۶ درصدی تولید جنتامایسین درون سلولی شد (۱۰). مطالعات نشان می‌دهد اعمال فراصوت در شرایط مناسب، موجب تسریع در رشد سلولی و افزایش تولید محصولات تخمیر در بیشتر موارد شده است. مخمر را می‌توان قدیمی‌ترین میکروارگانیسم صنعتی شناخته شده توسط بشر در نظر گرفت. مخمرها یوکاریوت‌هایی تک‌سلولی هستند که در فرمانرو قارچ ها و شاخه‌ی آسکومیست‌ها دسته‌بندی می‌شوند (۱۱).

ساکارومایسس سرویزیه تخمیرکننده‌ی قوی است که کارایی بسیار بالایی در صنعت تخمیر دارد و در حین رشد، مقدار زیادی گاز دی‌اکسیدکربن تولید کرده و به سطح محیط کشت می‌آید و به همین دلیل به آن مخمر سطحی (top yeasts) نیز می‌گویند. شکل ظاهری آنها بیضوی، کروی و یا مستطیل کشیده است که در انتها، گرد به نظر می‌رسند. در بعضی شرایط، سلول‌ها به‌دنبال هم قرار گرفته و یک میسیلیوم کاذب ابتدایی، ایجاد می‌کنند. تولید مثل آنها، با ایجاد جوانه‌های قطبی در سلول‌ها و یا به صورت تولید آسکوسپور صورت می‌گیرد. این مخمر به دلیل خواص استراتژیک و قابلیت‌هایی که در تولید پروتئین تک‌سلولی دارد، هم‌رده‌ی پروبیوتیک‌ها قرار گرفته و افزایش تعداد و وزن خشک آنها، از اهمیت خاصی برخوردار است (۱۲). با توجه به مطالعات ذکر شده و ویژگی‌های مخمر، پژوهشی به جهت بهینه‌سازی اثر اعمال فراصوت شدت پایین بر رشد سلولی مخمر، انجام شد.

مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم مورد نظر، *ساکارومایسس سرویزیه* PTCC5269، انتخاب و به صورت آمپول لیوفلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، دریافت شد. مخمر جهت آماده‌سازی در شرایط استریل در ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع PDB (Potato dextrose broth) فعال‌سازی شد (۱۳). برای این منظور، از دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و لرزاننده‌ی ۱۰۰ دور در دقیقه استفاده شد. جهت نگهداری مخمرها، از محیط کشت جامد شیب‌دار PDA (slant) (Potato dextrose agar) و گرم‌خانه‌گذاری در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، استفاده گردید (۱۴). برای اثر افزودن قند، گلوکز D^+ تهیه و برحسب درصدهای مورد نظر، به تیمارهای مشخص شده، اضافه گردید. برای مشاهده‌ی نمونه‌ها، از میکروسکوپ نوری با دوربین دیجیتال استفاده شد. برای اعمال فراصوت، دستگاه فراصوت پروب با توان پایین انتخاب شد. به جهت سهولت کار و به حداقل رساندن احتمال آلودگی ثانویه، محیط کشت در درون لوله‌ی آزمایش تهیه شد. آزمایش با انتقال ۲٪ کشت آغازگر به لوله‌ها، آغاز شد. برای کاهش احتمال مرگ و میر مخمر در اثر افزایش دمای ناگهانی ناشی از اعمال فراصوت، کنترل شرایط دمایی و کاهش دمای نمونه طی اعمال فراصوت، با استفاده از حمام یخ انجام شده و دما در حدود درجه حرارت محیط تثبیت گردید (۱۵). پروب، در عمق یک سانتی‌متری محیط کشت، درون لوله قرار داده شد. یک نمونه به عنوان شاهد و شانزده تیمار (تعیین فرمولاسیون با روش سطح پاسخ)، تهیه و تیمار فراصوت با فرکانس ۲۴ کیلوهرتز، با توجه به توان فراصوت، زمان اعمال

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

فراصوت و افزودن گلوکز اعمال شد. به جهت اینکه سلول‌های اولیه‌ی مخمر، تحت فراصوت قرار گرفت و برای اینکه سلول‌های حاصل از رشد نیز تحت فراصوت قرار بگیرند و به منظور مشاهده‌ی نتیجه نهایی، هر سه ساعت یک‌بار به صورت مداوم تا پایان آزمایش، اعمال فراصوت انجام و تغییرات، مشاهده و ثبت شدند. کلیه‌ی آزمون‌ها سه بار تکرار شدند. دما و pH مایع به صورت متناوب اندازه‌گیری شدند (۱۶). آزمون تعیین وزن خشک، به جهت بررسی بقای مخمر بعد از اعمال فراصوت و همچنین برای بررسی اثر متغیرهای فراصوت و میزان گلوکز محیط بر رشد مخمر و تشکیل توده‌ی زیستی، انجام شد (۱۷). در مرحله‌ی قبل از اعمال فراصوت و بعد از تیمار با فراصوت، وزن خشک نمونه‌ها، اندازه‌گیری شد. میزان افزایش وزن خشک، نشان‌دهنده‌ی رشد مخمر و بقای آن، طی اعمال فراصوت می‌باشد. برای این منظور، ابتدا حجم مشخصی از محیط براث PDB حاوی میکروارگانیسم تخمیر شده، برداشته و به ظرف‌های سانتریفوژ منتقل و سه بار عمل سانتریفیوژ نمونه‌ها با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه انجام شد. سوپرناتانت فوقانی، جدا و پروتئین تک‌یاخته توسط افزودن آب مقطر، سه بار شستشو گردید. سپس برای رسوب‌دادن مجدد، در همان شرایط، سانتریفوژ گردید. پروتئین تک‌یاخته به ظرف‌های شیشه‌ای که از قبل وزن شده بودند، منتقل شده و در نهایت، در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در داخل آون قرار داده شده تا به وزن ثابت برسند. برای این منظور، توزین نمونه‌ها هر ۲ الی ۳ ساعت یک‌بار انجام شد تا زمانی که وزن نمونه‌ها در اثر حرارت و دما تغییر نکرده و ثابت بماند. تفاوت وزن اولیه و نهایی، میزان پروتئین تک‌یاخته را تعیین نمود (۱۸). برای بهینه‌سازی اثر فاکتورها بر افزایش راندمان رشد سلولی، از طرح آماری روش سطح پاسخ (Response surface methodology) استفاده شد (۱۹). در این تحقیق از طرح باکس- بنکن (Box-Behnken) با ۱۶ آزمایش که شامل ۴ آزمایش در نقطه‌ی مرکزی (central point) است، استفاده گردید (۲۰). تغییرات غیرقابل توجیه در پاسخ مشاهده شده ناشی از عوامل خارجی، به وسیله‌ی تصادفی کردن ترتیب آزمایش‌ها، کاهش داده شد (۲۲،۲۱). متغیرهای مستقل طرح در سه سطح (۱-، ۰، ۱+) شامل توان فراصوت (X_1,W) در سطوح (۲، ۶ و ۱۰ وات)، زمان اعمال فراصوت (X_2,Sec.) در سطوح (۱۰، ۲۰ و ۳۰ ثانیه) و افزودن گلوکز به عنوان منبع قند (X_3,%w/w) در سطوح (۵، ۱۰ و ۱۵ درصد) می‌باشند. متغیر وابسته (Y) میزان وزن خشک (میلی‌گرم) انتخاب شد (جدول۱).

جدول ۱. متغیرهای اصلی در سه سطح جهت تعیین میزان پاسخ.

نوع متغیر	واحد	نماد ریاضی متغیر	سطوح متغیر		
			۱+	۰	۱-
توان فراصوت	وات (W)	X_1	۱۰	۶	۲
زمان اعمال فراصوت	ثانیه (Sec.)	X_2	۳۰	۲۰	۱۰
افزودن گلوکز	درصد ٪ (w/w)	X_3	۱۵	۱۰	۵

نرم‌افزار SAS 9.1 (انگلستان) برای تجزیه و تحلیل داده‌های آماری، مورد استفاده قرار گرفت. داده‌های آزمایشی با معادله‌ی چند جمله‌ای درجه دوم، تطبیق داده شد و ضریب همبستگی محاسبه گردید (معادله ۱).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{\substack{i=1 \\ i<j}}^{k-1} \sum_{j=2}^{k} \beta_{ij} X_i X_j$$

معادله‌ی ۱. معادله چند جمله‌ای درجه دوم استفاده شده در تجزیه و تحلیل.

در این فرمول، Y متغیر وابسته یا پاسخ مدل، β_0 ، β_i ،β_{ii} و β_{ij} به ترتیب، ضرایب رگرسیون برای عامل‌های ضریب ثابت (عرض از مبدأ)، ضریب اثر خطی، ضریب اثر درجه‌ی دوم و ضریب اثر متقابل و X_i و X_j، متغیرهای مستقل هستند. نرم‌افزار آماری Statistica 10 برای ایجاد سطوح پاسخ و کنتور در حالی مورد استفاده قرار گرفت که یک متغیر در معادله‌ی چند جمله‌ای درجه دوم، ثابت نگه داشته شد. طرح آزمایشی مورد استفاده در این مرحله، در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲. طرح باکس- بنکن (Box-Behnken) برای تعیین میزان رشد سلولی.

فرمولاسیون	عامل		
	X_1	X_2	X_3
تیمار ۱	۱-	۱-	۰
تیمار ۲	۱-	۱+	۰
تیمار ۳	۱+	۱-	۰
تیمار ۴	۱+	۱+	۰
تیمار ۵	۰	۱-	۱-
تیمار ۶	۰	۱-	۱+
تیمار ۷	۰	۱+	۱-
تیمار ۸	۰	۱+	۱+
تیمار ۹	۱-	۰	۱-
تیمار ۱۰	۱+	۰	۱-
تیمار ۱۱	۱-	۰	۱+
تیمار ۱۲	۱+	۰	۱+
تیمار ۱۳	۰	۰	۰
تیمار ۱۴	۰	۰	۰
تیمار ۱۵	۰	۰	۰
تیمار ۱۶	۰	۰	۰

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

یافته‌ها

نتایج آزمایش‌های تأثیر توان فراصوت، زمان اعمال فراصوت و اثر افزودن گلوکز بر میزان وزن خشک مخمر در محیط کشت PDB، در جدول ۳ آورده شده است. کمترین و بیشترین وزن خشک مخمر، ۹/۱ و ۴۳/۳ میلی‌گرم (به ترتیب در نمونه‌ی شماره ۲ و ۱۱) مشاهده شد. نتایج تجزیه و تحلیل واریانس میزان وزن خشک مخمر در مرحله‌ی بهینه‌سازی، در جدول ۴ نشان داده شده است. مدل به دست آمده برای پیش‌بینی تأثیر توان فراصوت (X_1)، زمان اعمال فراصوت (X_2) و افزودن گلوکز (X_3) بر میزان وزن خشک مخمر با حذف عوامل غیرمعنی‌دار، از طریق معادله‌ی ۲ به‌دست می‌آید.

$$Y=-38.8656+4.6775X_3-0.3727X_1^2-0.5463\ X_1X_3-0.0576\ X_2^2$$

معادله ۲.

جدول ۳. نمایش تأثیر توان فراصوت، زمان اعمال فراصوت و افزودن گلوکز بر میزان وزن خشک مخمر در محیط کشت PDB.

فرمولاسیون	وزن خشک مخمر (میلی‌گرم) *	فرمولاسیون	وزن خشک مخمر (میلی‌گرم) *
تیمار ۱	۲۷/۳ ± ۰/۰۰۲	تیمار ۹	۱۰/۷ ± ۰/۰۰۲
تیمار ۲	۹/۱ ± ۰/۰۰۱۳	تیمار ۱۰	۲۴/۷ ± ۰/۰۰۲
تیمار ۳	۱۲/۲ ± ۰/۰۰۱	تیمار ۱۱	۴۳/۳ ± ۰/۰۰۳
تیمار ۴	۱۵/۹ ± ۰/۰۰۱۴	تیمار ۱۲	۱۳/۶ ± ۰/۰۰۱
تیمار ۵	۱۱/۱ ± ۰/۰۰۱۸	تیمار ۱۳	۳۲/۴ ± ۰/۰۰۱
تیمار ۶	۲۸/۹ ± ۰/۰۰۳	تیمار ۱۴	۲۸/۳ ± ۰/۰۰۲
تیمار ۷	۲۳/۸ ± ۰/۰۰۱	تیمار ۱۵	۲۵/۹ ± ۰/۰۰۲
تیمار ۸	۲۹/۳ ± ۰/۰۰۲	تیمار ۱۶	۲۴/۸ ± ۰/۰۰۳

* اعداد به صورت میانگین ± انحراف استاندارد آورده شده است.

مقادیر P برای مدل (P<۰/۰۵) و برای عدم تطابق داده‌ها با مدل (P=۰/۱۹)، تأییدی بر تطابق خوب مدل با داده‌های آزمایشی به دست آمده می‌باشد. همان‌طور که در جدول ۴ مشخص است، اجزای مدل (X3 P<۰/۰۵)، (X12 P<۰/۰۵)، (X1X3 P<۰/۰۱) و (X22 P<۰/۰۵)، معنی‌دار بودند. ضرایب و مقادیر P مدل نشان می‌دهد که میزان وزن خشک مخمر به مقدار زیادی به توان فراصوت، زمان اعمال فراصوت و میزان افزودن گلوکز بستگی داشت (P<۰/۰۵). اثر خطی متغیرها نشان می‌دهد که با افزایش توان فراصوت، زمان اعمال فراصوت و میزان افزودن گلوکز، میزان وزن خشک مخمر، افزایش می‌یابد (P<۰/۰۵). همچنین اثر متقابل متغیرها نشان می‌دهد که با افزایش متقابل توان فراصوت، زمان اعمال فراصوت و میزان افزودن گلوکز، میزان وزن خشک مخمر، افزایش می‌یابد (P<۰/۰۱، جدول ۴). مقدار عددی ضریب تبیین R^2_{adj} برای مدل رگرسیونی به دست آمده، ٪۷۵/۱۹ بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مدل رگرسیونی، توانسته است رابطه‌ی بین متغیرهای مستقل (توان فراصوت، زمان اعمال فراصوت و افزودن گلوکز) و متغیر وابسته (وزن خشک مخمر) را نشان داده و پیش‌بینی کند.

برای تعیین تغییرات میزان وزن خشک مخمر با تغییر متغیرهای مستقل، سه منحنی سطح-پاسخ سه بعدی که در آن متغیر وابسته (وزن خشک مخمر) بر محور Z در مقابل هر دو متغیر مستقل، در حالی که سایر متغیرها در مقادیر بهینه‌ی خود نگه‌داشته شده‌اند، ترسیم گردیدند.

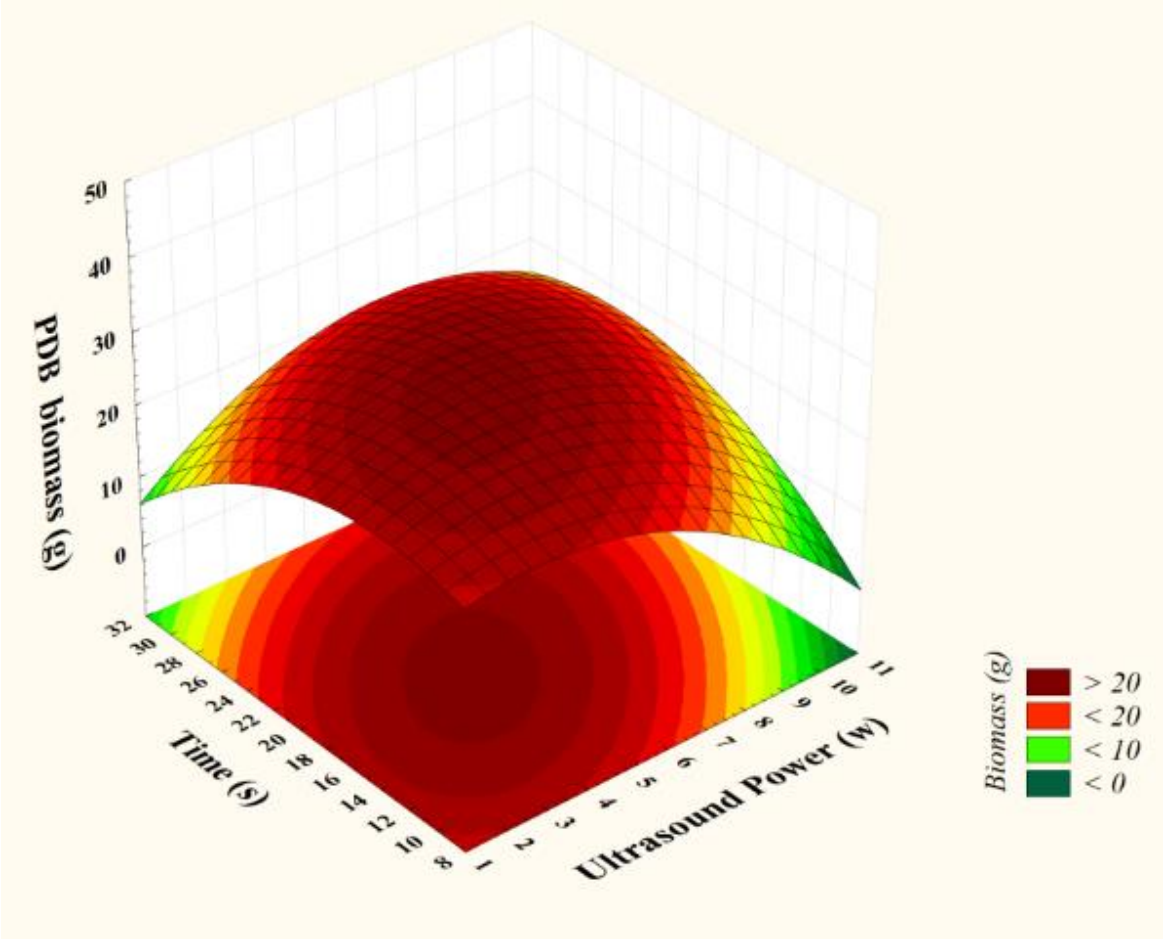
جدول ۴. نتایج تجزیه و تحلیل واریانس تأثیر توان فراصوت، زمان اعمال فراصوت و افزودن گلوکز بر میزان وزن خشک مخمر در محیط کشت PDB.

منبع تغییرات	ضرایب رگرسیون	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F	P
X_1	+ ۶/۴۴۶۹	۱	۷۲/۰۰۰۰	۷۲/۰۰۰۰	۳/۱۶۵۳	۰/۱۲۵۶
X_2	+ ۲/۰۸۱۳	۱	۰/۲۴۵۰	۰/۲۴۵۰	۰/۰۱۰۸	۰/۹۲۰۸
X_3	+ ۴/۶۷۷۵	۱	۲۵۰/۸۸۰۰	۲۵۰/۸۸۰۰	۱۱/۰۲۹۳	۰/۰۱۶۰*
X_1^2	- ۰/۳۷۲۷	۱	۱۴۲/۲۰۵۶	۱۴۲/۲۰۵۶	۶/۲۵۱۷	۰/۰۴۶۵*
X_1X_2	+ ۰/۱۳۶۹	۱	۱۱۹/۹۰۲۵	۱۱۹/۹۰۲۵	۵/۲۷۱۲	۰/۰۶۱۵
X_1X_3	- ۰/۵۴۶۳	۱	۴۷۷/۴۲۲۵	۴۷۷/۴۲۲۵	۲۰/۹۸۹	۰/۰۰۳۸**
X_2^2	- ۰/۰۵۷۶	۱	۱۳۲/۸۲۵۶	۱۳۲/۸۲۵۶	۵/۸۳۹۴	۰/۰۵۲۲*
X_2X_3	- ۰/۰۶۱۵	۱	۳۷/۸۲۲۵	۳۷/۸۲۲۵	۱/۶۶۲۸	۰/۲۴۴۸
X_3^2	+ ۰/۰۴۷۵	۱	۵/۶۴۰۷	۵/۶۴۰۷	۰/۲۴۸۰	۰/۶۳۶۳
مدل	-	۹	۱۲۳۸/۹۴۴۰	۱۳۷/۶۶۰۵	۶/۰۵۱۹	۰/۰۲۰۱*
اثر خطی	-	۳	۳۲۳/۱۲۵۰	۱۰۷/۷۰۸۳	۴/۷۳۵۲	۰/۰۵۰۵*
اثر درجه دوم	-	۳	۲۸۰/۶۷۱۹	۹۳/۵۵۷۳	۴/۱۱۳۰	۰/۰۶۶۵
اثر متقابل	-	۳	۶۳۵/۱۴۷۵	۲۱۱/۷۱۵۸	۹/۳۰۷۶	۰/۰۱۱۳*
باقی‌مانده	-	۶	۱۳۶/۴۸۰۰	۲۲/۷۴۶۷	-	-
عدم تطابق داده‌ها با مدل	-	۳	۱۰۲/۴۷۰۰	۳۴/۱۵۶۷	۳/۰۱۳۰	۰/۱۹۴۷
خطای خالص	-	۳	۳۴/۰۱۰۰	۱۱/۳۳۶۷	-	-
کل	-	۱۵	۱۳۷۵/۴۲۴۰	-	-	-

٪۹۰/۰۸ =R_2، ٪۷۵/۱۹ =R^2_{adj}، * نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪، ** نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، اثر متقابل افزایش توان و زمان فراصوت بر وزن خشک مخمر، به صورت درجه‌ی دوم می‌باشد. به این ترتیب که با افزایش توان و زمان تا مقادیر متوسط (۶ وات و ۲۰ ثانیه)، افزایش وزن خشک، در متوسط بیشترین (۴۳/۳ میلی گرم) و در مقادیر بالا، کمترین وزن خشک (۹/۱ میلی‌گرم) حاصل می‌شود.



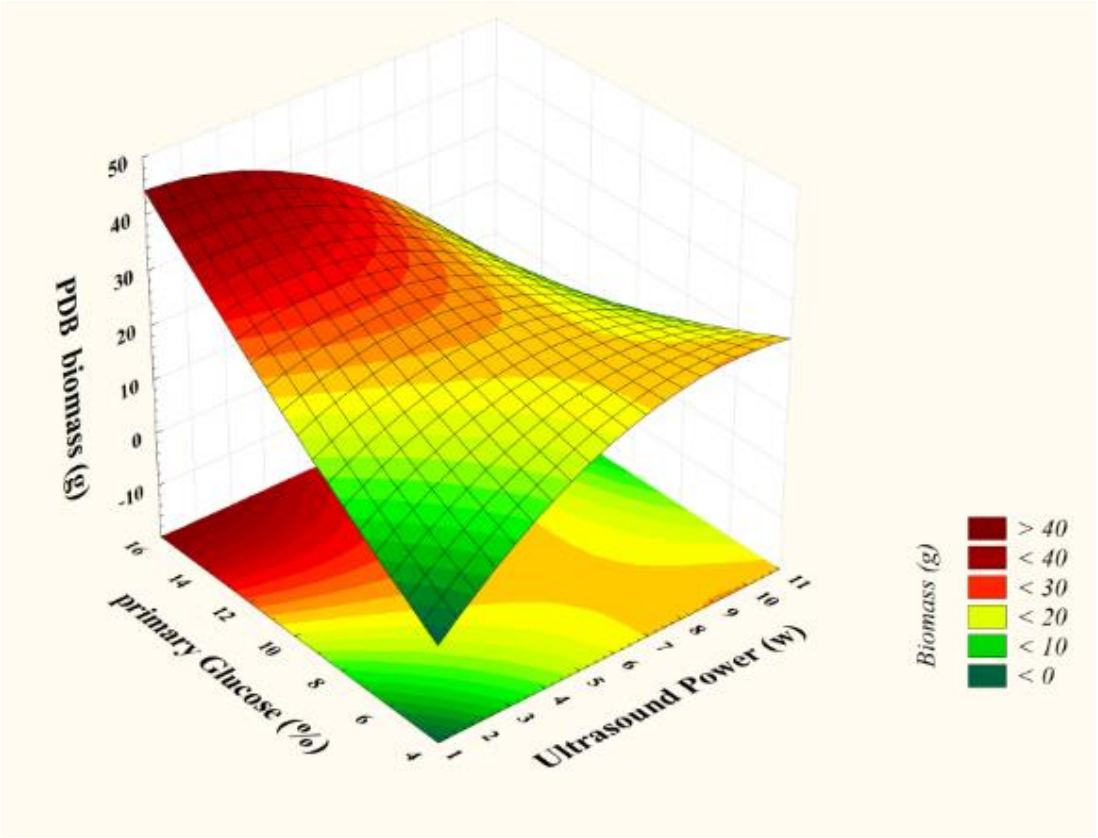
شکل ۱. نمودار سطح پاسخ تأثیر توان فراصوت و زمان اعمال فراصوت بر میانگین وزن خشک مخمر (گرم).

اثر متقابل افزایش توان فراصوت و افزودن گلوکز بر میزان وزن خشک، در مورد اثر توان به صورت درجه‌ی دوم و برای افزودن گلوکز، به صورت خطی می‌باشد. به این ترتیب که با افزایش توان تا مقادیر متوسط، افزایش وزن خشک در متوسط، بیشترین و در مقادیر بالا، کمترین وزن خشک حاصل می‌شود. همچنین با افزودن مقادیر بیشتر گلوکز، وزن خشک مخمر نیز افزایش می‌یابد (شکل ۲).

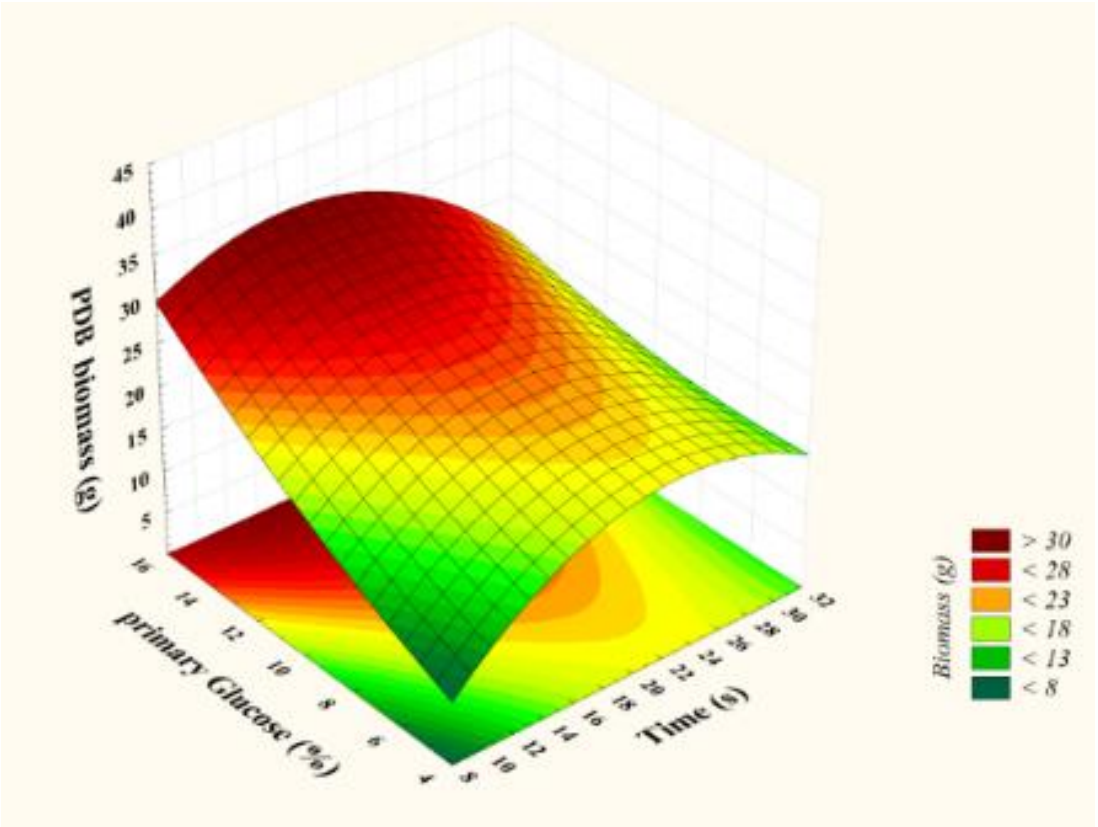
همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، اثر متقابل افزایش زمان فراصوت و افزودن گلوکز بر میزان وزن خشک، در مورد اثر زمان، به صورت درجه دوم و برای افزودن گلوکز، به صورت خطی می‌باشد. به این ترتیب که با افزایش زمان تا مقادیر متوسط، افزایش وزن خشک، در متوسط بیشترین و در مقادیر بالا کمترین وزن خشک حاصل می‌شود. همچنین با بالا رفتن میزان افزودن گلوکز، افزایش وزن خشک مشاهده می‌شود.

برای مشاهده‌ی رابطه بین مخمرها، از تصویر میکروسکوپی استفاده شد. برای این کار، قبل و بعد از اعمال فراصوت، از نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین دیجیتال، تصاویری تهیه گردید. با اعمال فراصوت، آگلومره‌های مربوط به تجمع مواد دفع شده توسط سلول در اطراف مخمر از هم باز شده و مخمرها از هم فاصله می‌گیرند. در نتیجه، ورود و خروج اکسیژن و دی‌اکسیدکربن و همچنین ورود مواد غذایی و خروج مواد دفعی، تسهیل شده و با اثر بر مصرف گلوکز و در نتیجه کاهش گلوکز باقیمانده در محیط، در نهایت سبب افزایش رشد مخمرها و افزایش وزن خشک آنها خواهد شد (شکل ۴).

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

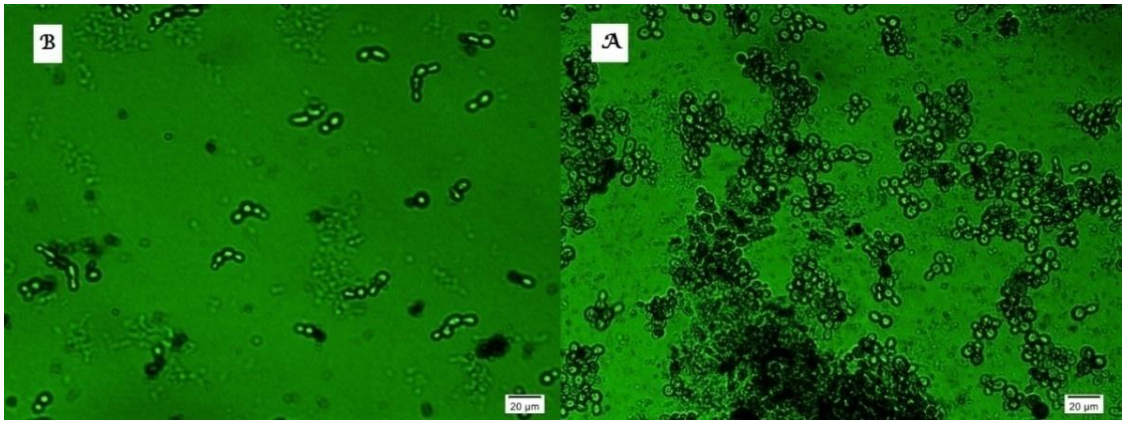


شکل ۲. نمودار سطح پاسخ تأثیر توان فراصوت و افزودن گلوکز بر میانگین وزن خشک مخمر (گرم).



شکل ۳. نمودار سطح پاسخ تأثیر زمان اعمال فراصوت و افزودن گلوکز بر میانگین وزن خشک مخمر (گرم).

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]



شکل ۴. تصویر میکروسکوپ نوری (X40) از *ساکارومایسس سرویزیه* قبل (A) و بعد (B) از اعمال فراصوت.

بحث

یکی از فاکتورهایی که می‌تواند تحت تأثیر فراصوت تغییر کند، رشد *ساکارومایسس سرویزیه* و تولید توده‌ی سلولی می‌باشد. این پدیده، بر میزان توده‌ی سلولی پروتئینی تولیدی تحت عنوان توده‌ی زیستی (biomass)، تأثیر زیادی گذاشته و سبب می‌شود که *ساکارومایسس سرویزیه*، هم به عنوان پروبیوتیک و هم به عنوان پروتئین تک سلولی (Single Cell Protein- SCP) مورد استفاده قرار گیرد (۱۲). بنابراین، بررسی میزان توده‌ی سلولی حاصل، یکی از فاکتورهای مهم در بررسی اثر فراصوت بر مخمر می‌باشد و برای این منظور، وزن خشک مخمر سنجیده می‌شود.

بررسی تغییرات میزان وزن خشک مخمر در سه منحنی سطح-پاسخ سه بعدی نشان می‌دهد که شرایط عملکرد بهینه میزان رشد سلولی حاصل از روش RSM، در محیط کشت PDB، مقدار ۴۳/۳ میلی‌گرم در توان فراصوت ۶ وات، زمان اعمال فراصوت ۲۰ ثانیه و افزودن ۱۰ درصد گلوکز بود. یافته‌های حاصل از این پژوهش با نتایج تحقیقات دانشمندان ذیل مقایسه و مشاهده گردیدکه نتایج به‌دست آمده، مشابه بوده است. Montalbo-Lomboy در دانشگاه ایالت آیووا، استفاده از پیش‌تیمار فراصوت، جهت افزایش تخمیر برای تولید اتانول از ذرت را بررسی کرد و نشان داد که این پیش‌تیمار، بر افزایش توده‌ی زیستی نیز مؤثر است (۲۳). Wongjewboot و همکاران، اثر پیش تیمار فراصوت را بر افزایش بازده‌ی تولید اتانول از برنج، بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد در ساختار برنج، با استفاده از امواج فراصوت، شکستگی لیگنین رخ داده و میزان سلولز را افزایش داده است. غلظت گلوکز نیز به میزان کاملاً معنی‌داری افزایش یافته و در نهایت، وزن خشک مخمر نیز افزایش یافته است (۲۴).

همچنین Silveira و همکاران در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که مقادیر بالای لاکتوز تا سطح ۱۷۰ گرم در لیتر در محیط کشت، سبب افزایش تخمیر توسط مخمر *Kluyveromyces marxianus* و در نتیجه، افزایش وزن خشک مخمر و افزایش تولید اتانول می‌شود. البته بالاتر از این مقدار اثر بازدارندگی بر رشد مخمر داشته و بر تولید اتانول تأثیرگذار خواهد بود (۲۵).

در مطالعه دیگری که توسط Li و همکاران انجام شد، مشخص گردید که اعمال فراصوت با توان پایین، موجب افزایش میزان تولید متابولیت توسط *ساکارومایسس سرویزیه* می‌گردد. این افزایش، به دلیل ایجاد منافذ در سلول و افزایش نفوذپذیری رخ داده و منجر به افزایش سرعت تولید متابولیت شده است (۲۶). همچنین Xiong و همکاران در مطالعات خود به این موضوع پی بردند که با افزایش مقدار زایلوز تا میزان ۱۱۰ گرم بر لیتر، میزان وزن خشک سلول بیشتر می‌شود (۲۷). Chuanyun و همکاران، تخمیر تحریک شده در اثر فراصوت را بر تولید ریبوفلاوین توسط مخمر بر *اسموئسیوم اشبای* بررسی کردند. فاکتورهای کلیدی مرتبط با رشد سلولی اندازه‌گیری شد. با اعمال فراصوت با فرکانس ۲۴ کیلوهرتز، بیشترین میزان رشد سلولی رخ داد. همچنین زمان تخمیر نیز در این تیمار کاهش یافت و میزان ریبوفلاوین تولیدی در نمونه‌ی تیمار شده، ۵ برابر نمونه‌های اولیه گزارش شد (۲۸).

اما از سوی دیگر، Laopaiboon و همکاران اثر منبع کربنی و نیتروژنی را بر میزان تولید اتانول (۲۹) و همچنین Lanchun و همکاران، تأثیر فراصوت با توان پایین را بر خصوصیات فیزیولوژیکی *ساکارومایسس سرویزیه* بررسی نمودند (۳۰). در این پژوهش‌ها، فراصوت با فرکانس ۲۴

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

کیلوهرتز، توان ۲ وات و به مدت ۳۰ دقیقه اعمال شد. اثر فراصوت بر قدرت تخمیر و فعالیت پروتئیناز این مخمر، بررسی گردید. براساس نتایج آنها، فعالیت آنزیمی افزایش یافت اما افزایشی در قدرت تخمیر مخمر مشاهده نشد و بدون تغییر باقی ماند. این نتایج، با یافته‌های پژوهش حاضر، همخوانی نداشت.

در بررسی اثر متقابل توان و زمان اعمال فراصوت (شکل ۱)، بیشترین میزان وزن خشک مخمر در مقادیر متوسط توان فراصوت و مقادیر متوسط زمان اعمال فراصوت حاصل می‌شود. این نتایج با نتایج Sulaiman و همکاران، مطابقت دارد. این محققان در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که با اعمال فراصوت با توان پایین ۱۱ وات، میزان وزن خشک *کلایورومایسس مارکسیانوس* افزایش می‌یابد اما در توان‌های بالاتر و زمان‌های طولانی‌تر اعمال فراصوت، به دلیل آسیب زدن به میکروارگانیسم، اثر بازدارندگی بر رشد داشته و درنتیجه، وزن خشک نهایی مخمر را نسبت به نمونه‌های با توان پایین‌تر، کاهش داده است (۳۱).

همچنین، Jomdecha و Prateepasen در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که با اعمال فراصوت با توان پایین حدود ۱ وات، میزان تولید سلول مخمر افزایش می‌یابد. در مطالعه‌ی مذکور، تحریک سلول مخمر و افزایش سرعت رشد و همچنین افزایش حلالیت اکسیژن در اثر تیمار با فراصوت، به عنوان دلایل افزایش تولید سلول مخمر، عنوان شده است (۳۲).

اثر متقابل توان فراصوت و افزودن گلوکز، در حد فاصل مقادیر پایین توان فراصوت و مقادیر بالای افزودن گلوکز (شکل ۲)، بیشترین میزان وزن خشک مخمر را نشان می‌دهد که با نتایج Chuanyun و همکاران مطابقت دارد. این محققان در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که اعمال فراصوت با فرکانس ۲۴ کیلوهرتز و با توان پایین، سبب افزایش میانگین وزن خشک *اسموئسیوم اشبای* می‌شود. بر اساس این تحقیقات، اعمال فراصوت به دلیل افزایش رشد سلول‌ها و همچنین، افزایش تقسیم سلولی و میزان متابولیسم تولیدی توسط این میکروارگانیسم، میزان وزن خشک نهایی سلول میکروارگانیسم، افزایش یافته است (۳۳).

Yalçin و Özbas در مطالعات خود به این موضوع پی بردند که با افزایش میزان سوبسترا تا میزان ۵۰ گرم بر لیتر، میزان وزن خشک نهایی سلول *ساکارومایسس سرویزیه* افزایش می‌یابد (۳۴). این موضوع احتمالاً به این دلیل است که با افزایش سوبسترای کربوهیدراتی، نیاز غذایی میکروارگانیسم جهت رشد و تولید نسل بعد، تأمین و در نتیجه، وزن خشک نهایی افزایش می‌یابد. اما با افزایش بیشتر سوبسترا، به دلیل افزایش فشار اسمزی، اثر بازدارندگی بر رشد دیده می‌شود.

بیشترین میزان وزن خشک مخمر در بررسی اثر متقابل توان فراصوت و افزودن گلوکز، در مقادیر متوسط زمان اعمال فراصوت و مقادیر بالای افزودن گلوکز حاصل شد (شکل ۳). این نتایج، با یافته‌های Sulaiman و همکاران (۳۱) و Yalçin و Özbas (۳۴)، مطابقت دارد. این پژوهشگران در طی تحقیقات خود نشان دادند که اعمال فراصوت با زمان‌های متوسط و مقادیر گلوکز نسبتاً بالا، افزایش رشد مخمر را در پی داشته و در نتیجه سبب افزایش میانگین وزن خشک می‌شود. به کارگیری فراصوت توان پایین در محیط‌های کشت میکروبی، موجب کاهش یا از بین رفتن بقای زیستی نمی‌شود. Jomdecha و Prateepasen، اثر فراصوت با توان پایین را بر فرآیند تخمیر و رشد سلولی مخمر بررسی نمودند. نتایج حاصل از پژوهش این گروه نشان داد که رشد سلول‌های مخمر در نمونه‌های تیمار شده با فراصوت، افزایش یافته است (۳۲).

Yalçin و Özbas، تأثیر سوبستراهای مختلف را بر رشد و سینتیک تولید گلیسرول در *ساکارومایسس سرویزیه*، ارزیابی نمودند. بر اساس این تحقیق، ساکارز در مقایسه با فروکتوز و گلوکز، به عنوان بهترین سوبسترا برای افزایش رشد و تولیدات این مخمر ذکر شده است (۳۴).

در یک مطالعه‌ی دیگر، حیات سلول‌های مخمر که تحت اعمال فراصوت با دامنه‌ی امواج مختلف و فرکانس ۲ مگاهرتز قرار گرفته بودند، بررسی و معلوم گردید که کاهشی در بقای زیستی و حیات سلولی ایجاد نشده ولی تغییراتی برحسب نوع سوسپانسیون و تیمار فراصوت در ویژگی‌های مورفولوژیکی مخمر ایجاد شده است (۳۵).

در مطالعه‌ی حاضر، بررسی تصاویر میکروسکوپی نشان داد که سلول میکروارگانیسم‌ها به طور کاملاً مشخص می‌توانند حساسیت متفاوتی نسبت به شوک فراصوت از خود نشان دهد، ولی در بسیاری از موارد می‌تواند موجب افزایش نرخ رشد و تولید شود. برای مثال در یک تحقیق، تیمار فراصوت با فرکانس ۲۴ کیلوهرتز به مدت ۵ دقیقه در روز، موجب افزایش نرخ رشد و میزان توده‌ی سلولی نهایی در *سیانوباکتریوم آنابنا* (*Anabaena flos-aquae* [*Cyanobacteria*]) شد، در صورتی که همین تیمار، موجب کاهش نرخ رشد میکروارگانیسم *میکروآلگا سلنا سترووم* (*Selenastrum capricornutum*) گردید. البته در هر دو میکروارگانیسم، تیمار فراصوت سبب افزایش محتویات پروتئینی گردید.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

اعمال فراصوت بـر آنابنـا موجـب افـزایش ۴۶ درصـدی در تولیـد توده‌ی سلولی نسبت به نمونه‌ی شـاهد شـد (۳۶). ایـن اثر مهم فراصوت در دوره‌های کوتاه اعمال فراصـوت، پتانسـیل تجاری خوب این تکنیک بـرای اسـتفاده از آن در فرآینـدهای زیستی را نشان می‌دهد. در مواد تراکم ناپـذیر، تـنش ناشـی از امواج فراصوت، سبب تسـهیل آب‌زدایـی از طریـق کانـال‌هـای موجود یا ایجاد کانال‌های جدید می‌گـردد. در دوره‌ی انقبـاض امواج، کانـال‌هـای میکروسـکوپی در مسـیر عبـور امـواج و در دوره‌ی انبساط موازی با آن به‌وجود می‌آیند. چنین سازوکاری، به کاهش گرادیان فشار منجر شـده و خـروج مـواد را تسـهیل می‌کند.

تحریک فراصوت با توان پایین، کـاربرد وسـیعی در صـنعت اسـتخراج مـواد دارویـی و گیـاهی دارد. فراصـوت مـی‌توانـد نفوذپذیری غشا و سرعت انتقال مواد را بهبود بخشیده و رشـد و تولید مثل سلول‌ها را بهینه کند. این موارد نشان می‌دهد که فراصوت، کاربرد مناسبی در صنعت تخمیر خواهد داشت (۳۷).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که فراصوت با توان پایین در فرکـانس ۳۰-۲۰ کیلوهرتز، در شرایط مناسب، موجب تسـریع در رشـد سـلولی از طریـق تحریـک کـارایی *ساکارومایسـس سـرویزیه* می‌شود. شرایط عملکـرد بهینـه حاصـل از روش RSM، تـوان فراصوت ۶ وات، زمان اعمال فراصـوت ۲۰ ثانیـه و افـزودن ۱۰ درصد گلـوکز بـود. کمتـرین و بیشـترین میـزان وزن خشـک مخمر، به ترتیب ۹/۱ و ۴۳/۳ میلی‌گرم مشاهده شد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از پرسنل محترم آزمایشگاه فرمولاسـیون مرکـز تحقیقات دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، پرسـنل محتـرم پژوهشکده‌ی بیوتکنولوژی غرب و شمال‌غرب کشور و همچنین پرسنل محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه تبریز که ما را در انجام آزمایشات یاری کردند، صمیمانه قدردانی می‌شود.

REFERENCES

1. Mason TJ. Developments in ultrasound- non-medical. Prog Biophys Mol Biol 2007; 93: 166-75.

2. Awad TS, Moharram HA, Shaltout OE, Asker D, Youssef MM. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. Food Res Int 2012; 48(2): 410-27.

3. Gogate PR, Kabadi AM. A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology. Biochem Eng J 2009; 44: 60-72.

4. Balasundaram B, Pandit AB. Selective release of invertase by hydrodynamic cavitation. Biochem Eng J 2001; 8(3): 251-6.

5. Larisa LMM, Batista JB, Pedrine MACC. Effect of raffinose and ultrasound pulses on invertase release by free and immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in loofa (*Luffa cylindrica*) sponge. Braz Arch Biol Technol 2006; 49(6): 873-80.

6. Persike DS, Bonfim TMB, Santos MHR, Lyng SMO, Chiarello MD, Fontana JD. Invertase and urease acivities in the carotenogenic yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous*. Bioresour Technol 2002; 82: 79-85.

7. Vargas LHM, Pião ACS, Domingos RN, Carmona EC. Ultrasound effects on invertase from *Aspergillus niger*. World J Microbiol Biotechnol 2004; 20(2): 137-42.

8. Bucalon AJ, Palma MS. Bioeffects of ultrasound in yeast cells suspensions. Rev Bras Eng 1990; 7: 265-72.

9. Francko DA, Taylor SR, Thomas BJ, McIntosh D. Effect of low-dose ultrasonic treatment on physiological variables in *Anabaena flos-aquae* and *Selenastrum capricornutum*. Biotechnol Lett 1990; 12: 219-24.

10. Chu J. On-line ultrasound stimulates the secretion and production of gentamicin by *Micromonospora echinospora*. Process Biochem 2000; 35: 569-72.

11. Bochu W, Lanchun S, Jing Z, Yuanyuan Y, Yanhong Y. The influence of Ca^{2+} on the proliferation of *S. cerevisiae* and low ultrasonic on the concentration of Ca^{2+} in the *S. cerevisiae* cells. Colloids Surf B Biointerfaces 2003; 32: 35-42.

12. Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. Modern food microbiology. Part II- Habitats, taxonomy, and growth parameters. Springer; 2005.

13. Mobini M, Nahvi I, Ghaedi K, Tavassoli M. Isolation of high resistant species of *Saccharomyces cerevisiae*. Res Pharm Sci 2007; 2: 10-28.

14. Ozmihci S, Kargi F. Fermentation of cheese whey powder solution to ethanol in a packed-column bioreactor: effects of feed sugar concentration. J Chem Technol Biotechnol 2009; 84: 106-11.

15. Mason TJ, Lormier JP. Applied sonochemistry. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2002.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]

16. Mendham M, Denney Y, Barnes JD, Thomas M. Vogel's textbook of quantitative chemical analysis. Paris: Prentice Hall; 2000.

17. Altinta M, Ulgen KO, Kırdar B, Onsan ZI, Oliver SG. Improvement of ethanol production from starch by recombinant yeast through manipulation of environmental factors. Enzyme Microb Technol 2002; 31: 640-7.

18. Damtew W, Emire SA, Aber AB. Evaluation of growth kinetics and biomass yield efficiency of industrial yeast strains. Appl Sci Res 2012; 4(5): 1938-48.

19. Myers RH, Montgomery DC. Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments. New York: John Wiley and Sons Inc.; 2002.

20. Box GEP, Behnken DW. Some new three level designs for the study of quantitative variables. Technometrics 1960; 2: 455-75.

21. Uncu ON, Cekmecelioglu D. Cost-effective approach to ethanol production and optimization by response surface methodology. Waste Manage 2011; 31: 636-43.

22. Singh A, Bishnoi NR. Optimization of ethanol production from microwave alkali pretreated rice straw using statistical experimental designs by *Saccharomyces cerevisiae*. Ind Crops Prod 2012; 37: 334-41.

23. Montalbo-Lomboy MT. Ultrasonic pretreatment for enhanced saccharification and fermentation of ethanol production from corn (PhD Dissertation, Publication Number: AAI3342275). Iowa State University; 2008.

24. Wongjewboot I, Kangsadan T, Sasithorn K. Ethanol production from rice straw using ultrasonic pretreatment. Paper presented at the International Conference on Chemistry and Chemical Engineering; 2011.

25. Silveira WB, Passos FJV, Mantovani HC, Passos FML. Ethanol production from cheese whey permeate by *Kluyveromyces marxianus* UFV-3: A flux analysis of oxido-reductive metabolism as a function of lactose concentration and oxygen levels. Enzyme Microb Technol 2005; 36(7): 930-6.

26. Li Y, Gao K, Tian S, Zhang S, Yang X. Evaluation of *Saccharomyces cerevisiae* Y5 for ethanol production from enzymatic hydrolysate of non-detoxified steam-exploded corn stover. Bioresour Technol 2011; 102(22): 10548-52.

27. Xiong M, Chen G, Barford J. Alteration of xylose reductase coenzyme preference to improve ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* from high xylose concentrations. Bioresour Technol 2011; 102(19): 9206-15.

28. Chuanyun D, Bochu W, Chuanren D, Sakanishi A. Low ultrasonic stimulates fermentation of riboflavin producing strain *Ecemothecium ashbyii*. Colloids Surf B 2003; 30(1-2): 37-41.

29. Laopaiboon L, Nuanpeng S, Srinophakun P, Klanrit P, Laopaiboon P. Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology: Effects of carbon and nitrogen supplementations. Bioresource Technol 2009; 100(18): 4176-82.

30. Lanchun S, Bochu W, Liancai Z, Jie L, Yanhong Y, Chuanren D. The influence of low-intensity ultrasonic on some physiological characteristics of *Saccharomyces cerevisiae*. Colloids Surf B 2003; 30(1-2): 61-6.

31. Sulaiman AZ, Ajit A, Yunus RM, Chisti Y. Ultrasound-assisted fermentation enhances bioethanol productivity. Biochem Eng J 2011; 54(3): 141-50.

32. Jomdecha C, Prateepasen A. The research of low ultrasounic energy affects to yeast growth in fermentation process. Paper presented at the 12th PCNDT 2006, Asia Pacific Conference on NDT, Auckland, New Zealand; 2006.

33. Chuanyun D, Bochu W, Huan Z, Conglin H, Chuanren D, Wangqian L, *et al*. Effect of low frequency ultrasonic stimulation on the secretion of riboflavin produced by *Ecemothecium ashbyii*. Colloids Surf B 2004; 34(1): 7-11.

34. Yalçin SK, Özbas ZY. Effects of different substrates on growth and glycerol production kinetics of a wine yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* Narince 3. Process Biochem 2004; 39(10): 1285-91.

35. Radel S, McLoughlin AJ, Gherardini L, Doblhoff-Dier O, Benes E. Viability of yeast cells in well controlled propagating and standing ultrasonic plane waves. Ultrasonics 2000; 38(1-8): 633-7.

36. Lanchun S, Bochu W, Liancai Z, Jie L, Yanhong Y, Chuanren D. The influence of low-intensity ultrasonic on some physiological characteristics of *Saccharomyces cerevisiae*. Colloids Surf B 2003; 30(1-2): 61-6.

37. Vilkhu K, Mawson R, Simons L, Bates D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry: A review. Innovative Food Sci Emerg Technol 2008; 9(2): 161-9.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-10-30]