

فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها  
سال پنجم، شماره ۱۸، تابستان ۱۳۹۵، صفحه ۱۶۸-۱۵۳  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۰۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۰۲

## بهینه‌سازی تولید قند زایلیتول توسط یک سویه مخمر کندیدا/ تروپیکالیس با استفاده از روش سطح پاسخ

امید زاهد: دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران، ozahed@ut.ac.ir  
غلامرضا صالحی جوزانی\*: دانشیار بیوتکنولوژی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، کرج، ایران، gsalehi@abrii.ac.ir  
فرامرز خدایان: دانشیار صنایع غذایی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران، khodaiyan@ut.ac.ir

### چکیده

**مقدمه:** زایلیتول یکی از قندهای رژیمی پرمصرف در صنایع غذایی و بهداشتی است. روش معمول تولید این قند، شیمیایی و بسیار پرهزینه و انرژی‌بر است. درحالی‌که تولید آن با استفاده از فناوری زیستی یک روش دوستدار محیط زیست و با صرفه اقتصادی است. هدف از اجرای پژوهش حاضر بهینه‌سازی شرایط تولید زایلیتول از قند زایلوز توسط یک سویه مخمر کندیدا/ تروپیکالیس با استفاده از طرح مرکب مرکزی و روش سطح پاسخ بود.

**مواد و روش‌ها:** چهار فاکتور متغیر مستقل شامل دما (۲۷، ۳۲ و ۳۷ درجه سلسیوس)، اسیدیته (۳، ۵ و ۷)، غلظت قند زایلوز (۳۰، ۵۰ و ۷۰ گرم در لیتر) و غلظت عصاره مخمر (۳، ۷/۵ و ۱۲ گرم در لیتر) انتخاب شد و در نهایت میزان بازده تولید قند زایلیتول (نسبت میزان گرم تولیدشده زایلیتول به گرم زایلوز اولیه  $Y_{p/s}$ ) محاسبه شد.

**نتایج:** براساس مدل به‌دست آمده بیشترین میزان بازده زایلیتول ( $Y_{p/s}=0.73$ ) توسط سویه مخمر مطالعه‌شده در دمای ۳۲/۷ درجه سلسیوس، اسیدیته ۴/۷، غلظت قند زایلوز ۵۴/۲ و غلظت عصاره مخمر ۱۲ گرم در لیتر برآورد شد. به‌منظور ارزیابی مدل به‌دست آمده، آزمایش تولید زایلیتول در شرایط بهینه توسط سویه انجام شد و در آن بازده تولید زایلیتول، میزان تولید زایلیتول و میزان تولید زیست‌توده در شرایط ذکرشده، به ترتیب ۰/۶۹ و ۳۶/۷ گرم در لیتر و ۱۱/۱ گرم در لیتر بود و با مدل به‌دست آمده مطابقت داشت.

**بحث و نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج به‌دست آمده، فاکتورهای محیطی شامل نوع منبع ازت، دما، اسیدیته، غلظت زایلوز و غلظت منبع نیتروژن برای تولید زایلیتول توسط سویه مطالعه‌شده بهینه‌سازی شد که در نتیجه آن زایلیتول با غلظت ۳۶/۷ گرم در لیتر با بازده ۰/۶۹ تولید شد.

**واژه‌های کلیدی:** بهینه‌سازی، روش سطح پاسخ، زایلوز، زایلیتول، کندیدا/ تروپیکالیس

\* نویسنده مسئول مکاتبات، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

(AREEO)، کرج، ایران

## مقدمه

زایلیتول<sup>۱</sup> به‌عنوان یک قند الکلی ۵ کربنه طبیعی در صنایع مختلف از قبیل صنایع غذایی، داروسازی و دندان‌پزشکی استفاده می‌شود. شیرینی زایلیتول برابر با ساکارز است؛ اما میزان کالری و جذب آن در بدن حدود یک‌سوم ساکارز است و به همین دلیل، بیماران دیابتی می‌توانند آن را به‌عنوان یک قند رژیمی مصرف کنند. علاوه بر این، زایلیتول در فرمولاسیون مواد غذایی دارای مزیت‌ها و خواص فراوانی است و از این‌رو در محصولاتی مانند انواع آبنبات، نوشیدنی‌ها، بستنی و آدامس استفاده می‌شود. این قند الکلی در واکنش میلارد شرکت نمی‌کند و به همین دلیل در فرمولاسیون‌های مواد غذایی بدون اینکه در طول دوره نگهداری این مواد باعث تغییراتی در آن‌ها شود، به بهبود رنگ و طعم مواد غذایی کمک می‌کند (۱ و ۲).

زایلیتول از سال ۱۹۷۰ به‌روش شیمیایی از راه هیدروژن‌دار کردن قند زایلوز در حضور کاتالیست و در فشار بالای ۵۰ اتمسفر هیدروژن و دمای بین ۸۰-۱۴۰ درجه سلسیوس تولید می‌شود (۳). تولید زایلیتول با این روش نیاز به قند زایلوز خالص دارد و مراحل خالص‌سازی و رنگ‌بری آن انرژی‌بر و پرهزینه است؛ بنابراین تولید شیمیایی زایلیتول از لحاظ اقتصادی گران تمام می‌شود (۲ و ۴). روش دیگر تولید زایلیتول، استفاده از فناوری زیستی به کمک باکتری‌ها و مخمرهای مختلف (۵) و همچنین دستکاری ژنتیکی ژن‌های دخیل در فرایند تولید آن در میکروارگانیسم‌های مختلف است که اخیراً بسیار به آن توجه شده است (۶).

میکروارگانیسم‌هایی مانند *پیشیا اس‌پی*<sup>۲</sup>، *دیبارو مایسس اس‌پی*<sup>۳</sup>، و *کندیدا اس‌پی*<sup>۴</sup> قابلیت تبدیل زایلوز

به زایلیتول را دارند و میکروارگانیسم‌هایی دیگر مانند *ساکارومایسس سرویزیه*<sup>۵</sup> توانایی تولید اتانول از هگزوزها را دارند (۷ و ۸). به‌طور کلی از بین میکروارگانیسم‌ها، به مخمرها به‌عنوان بهترین تولیدکنندگان زایلیتول توجه شده است؛ بنابراین، بیشتر مقالات منتشر شده درباره آن‌ها بوده و تلاش‌های زیادی هم جهت انتخاب بهترین تولیدکنندگان زایلیتول انجام شده است. بهترین تولیدکنندگان زایلیتول عمدتاً گونه‌های *کندیدا گویلیرموندی*<sup>۶</sup> و *کندیدا تروپیکالیس*<sup>۷</sup> هستند (۹-۱۱). تعداد کمی از باکتری‌ها مانند *کورینه باکتریوم اس‌پی*<sup>۱</sup>، *ایتروباکتر لیکیفیسینس*<sup>۹</sup>، و *مایکوباکتریوم اسمیگماتیس*<sup>۱۰</sup> نیز به‌عنوان تولیدکننده زایلیتول گزارش شده‌اند (۱۰ و ۱۲). همچنین تعداد کمی از قارچ‌ها از قبیل *پترومایسس آلبرتینسیس*<sup>۱۱</sup>، *پنی‌سیلیوم*<sup>۱۲</sup>، *آسپرژیلوس*<sup>۱۳</sup>، و *نوروسپورا اس‌پی*<sup>۱۴</sup> نیز توانایی تولید زایلیتول را به‌میزان کمی نشان داده‌اند (۱۳-۱۵). البته باید توجه کرد که اخیراً از باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌های نو ترکیب مثل *اشرشیا کلای*<sup>۱۵</sup> (۱۶)، *پیشیا پاستوریز*<sup>۱۶</sup> (۱۷) و *تریکودرما ریسه ای*<sup>۱۷</sup> (۱۸) نیز به‌عنوان منبع تولید زایلیتول استفاده شده است.

از جمله عوامل تأثیرگذار در تولید زایلیتول توسط میکروارگانیسم‌ها، شرایط و عوامل مختلفی مانند نوع و گونه میکروارگانیسم، دما، نوع و غلظت منبع نیتروژنی، غلظت منبع کربنی و قند موجود در محیط کشت، اسیدیته محیط کشت، و میزان اکسیژن موجود در محیط است (۵ و ۸ و ۱۹). هنگامی که عوامل زیادی در تولید یک محصول دخالت داشته باشند، روش پاسخ سطح<sup>۱۸</sup> (آر. اس. ام) یک ابزار مناسب برای بهینه‌کردن شرایط است. این طرح می‌تواند با آزمایش‌های کمتر و در حداقل زمان مناسب‌ترین اطلاعات را تأمین کند؛

به مدت ۲۴ ساعت در داخل انکوباتور در دمای ۲۹ درجه سلسیوس قرار داده شدند. مخمر ذکر شده پس از کشت در محیط حاوی ۴۰ درصد گلیسرول قرار داده شد و در ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

#### بررسی قابلیت سویه کندید/ تروپیکالیس در تولید

**زایلیتول:** برای بررسی قابلیت سویه مخمر در تولید زایلیتول، سویه ذکر شده در ۴۰ میلی لیتر محیط کشت حاوی قند زایلوز (۲۰ گرم در لیتر) و عصاره مخمر (۸ گرم در لیتر) به مدت ۹۶ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و اسیدیته ۵ در انکوباتور و در دور ۲۰۰ آر پی ام کشت داده شد. در نهایت میزان زایلیتول تولید شده با اچ پی ال سی اندازه گیری شد. حجم مایه تلقیح اولیه در این سیستم ۳ درصد بود.

#### وزن خشک سلولی: برای تعیین وزن خشک سلولی،

مقدار مشخصی از سوسپانسیون میکروبی از فیلترهای ۰/۲ میکرومتر که قبلاً به مدت ۴ ساعت در دمای ۶۵ درجه سلسیوس خشک شده بودند، عبور داده شدند. سپس سلول‌ها با آب مقطر شست و شو داده شده و به مدت ۴۸ ساعت تا رسیدن به یک وزن ثابت در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. در نهایت با توزین آن، مقدار زیست توده بر حسب گرم در لیتر ماده خشک سلولی گزارش شد.

#### بررسی اثر عوامل محیطی بر تولید زایلیتول: برای

تولید زایلیتول از ارلن‌های ۱۵۰ میلی لیتری که هر کدام حاوی ۴۰ میلی لیتر از محیط کشت حاوی غلظت‌های مختلف قند زایلوز و عصاره مخمر طبق طرح مورد نظر بود، استفاده شد. به هر ارلن به میزان ۳ درصد از مایه تلقیح اضافه شد. ارلن‌ها در اسیدیته و دماهای مختلف (طبق طرح تعریف شده) به مدت ۵ روز در انکوباتور و در دور ۲۰۰ آر پی ام کشت داده شدند. برای بررسی اثر

بنابراین، در بسیاری از فرایندهای بهینه‌سازی تولید، انواع فرآورده‌های زیستی مبتنی بر فناوری زیستی از قبیل آنزیم‌ها (۲۰)، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (۲۱)، پروبیوتیک‌ها (۲۲)، ترکیبات ضد میکروبی (۲۳)، سوخت‌های زیستی (۲۴)، پالایش زیستی (۲۵) و... استفاده شده است. با وجود پژوهش‌های متعدد صورت گرفته در دنیا برای تولید زایلیتول توسط میکروارگانیسم‌های مختلف، در کشور ما پژوهش‌های بسیار اندکی در این خصوص انجام شده است (۲۶)؛ بنابراین، هدف از اجرای پژوهش حاضر، بررسی آثار و بهینه‌سازی فاکتورهای مختلف در تولید مبتنی بر فناوری زیستی زایلیتول مانند نوع منبع ازت، دما، اسیدیته، غلظت زایلوز و غلظت منبع نیتروژنی انتخاب شده بود که برای رسیدن به این اهداف از روش سطح پاسخ استفاده شد.

## مواد و روش‌ها

### مواد مصرفی: منابع نیتروژنی شامل عصاره مخمر و

سولفات آمونیوم از کمپانی مرک (آلمان) و قند زایلوز و استاندارد آن برای کروماتوگرافی (اچ. پی. ال. سی) از کمپانی سیگما (آلمان) تهیه شد.

### میکروارگانیسم استفاده شده و کشت و نگهداری

آن: در پژوهش حاضر از مخمر کندید/ تروپیکالیس سویه NCIM 3119 (تخمیر کننده قند زایلوز) که در پژوهش‌های قبلی نویسنده‌گان (۲۷) از بین سویه‌های متعدد به عنوان سویه برتر تولید کننده زایلیتول انتخاب شده بود استفاده شد. سویه ذکر شده در محیط کشت حاوی گلوکز (۱۰ گرم در لیتر)، قند زایلوز (۳ گرم در لیتر)، سولفات آمونیوم (۵ گرم در لیتر)، عصاره مخمر (۳ گرم در لیتر)، پپتون (۵ گرم در لیتر) و آگار (۱۵ گرم در لیتر) کشت شد. سپس نمونه‌های کشت داده شده

**روش‌های اندازه‌گیری:** غلظت قند زایلوز و قند الکل زایلیتول با استفاده از روش اچ‌پی‌ال‌سی (کناور<sup>۲۱</sup>) با مشخصات: پمپ k1001، دتکتور RI مدل K-2301، ستون یوروکت اچ<sup>۲۲</sup>، حلال آب اسیدی با اسیدیته ۲ و نرم‌افزار کروم‌گیت<sup>۲۳</sup> اندازه‌گیری شد. میزان ۲۰ میکرولیتر از نمونه با جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه از ستون یوروکت اچ به قطر ذرات ۱۰ میکرومتر عبور داده شد. مدت‌زمان هر تجزیه ۱۰ دقیقه بود.

جدول ۱- متغیرها و سطوح هر یک در طرح مرکب مرکزی برای بهینه‌سازی تولید زایلیتول

نشانه	کدهای میزان متغیر			متغیرها
	-۱	۰	۱	
X <sub>1</sub>	۲۷	۳۲	۳۷	دما (سلسیوس)
X <sub>2</sub>	۳۰	۵۰	۰	غلظت زایلوز (گرم در لیتر)
X <sub>3</sub>	۳	۵	۷	اسیدیته
X <sub>4</sub>	۳	۷/۵	۱۲	غلظت عصاره مخمر (گرم در لیتر)

دیگر مدل ریاضی به‌دست آمده در طرح یک مدل قابل‌اطمینان بود (R<sup>2</sup>=94.6%) و این بدین معنا است که ۹۴/۶ درصد داده‌ها با این مدل مطابقت دارند و تنها ۵/۳۹ درصد داده‌ها با آن در تطابق نیستند. مدل ریاضی به‌دست آمده به شرح زیر است (معادله ۱):

$$Y=0.646 + 0.004 X_1 - 0.031X_2 - 0.013 X_3 + 0.109 X_4 - 0.118(X_1)^2 - 0.059(X_2)^2 - 0.126(X_3)^2 - 0.059(X_4)^2 - 0.001 X_1X_2 + 0.0755 X_1X_3 + 0.031 X_1X_4 + 0.0529 X_2X_4 - 0.025 X_3X_2 - 0.027 X_3X_4$$

در این فرمول Y، X<sub>1</sub>، X<sub>2</sub>، X<sub>3</sub>، X<sub>4</sub> به ترتیب معادل بازده زایلیتول (میزان گرم زایلیتول تولیدشده نسبت به گرم زایلوز اولیه)، دما (درجه سلسیوس)، غلظت قند زایلوز (گرم در لیتر)، اسیدیته و غلظت عصاره مخمر (گرم در لیتر) هستند. اثر سطوح مختلف متغیرها بر تولید زایلیتول را می‌توان از طریق حل معادله ۱ به دست آورد. معادله حاضر میزان تأثیرگذاری هر کدام از فاکتورهای محیطی مطالعه‌شده را نشان می‌دهد و براساس آن

چهار متغیر دما (X<sub>1</sub>)، غلظت زایلوز (X<sub>2</sub>)، اسیدیته (X<sub>3</sub>) و غلظت منبع نیتروژنی (X<sub>4</sub>) بر رشد و تولید زایلیتول از طرح مرکب مرکزی<sup>۱۹</sup> و روش سطح پاسخ<sup>۲۰</sup> استفاده شد. در این طرح هر یک از متغیرها در سه سطح به کار رفتند (جدول ۱). طبق ماتریس طرح مرکب مرکزی تعداد واحدهای آزمایشی ۲۷ و تعداد سطوح مرکزی متغیرها جهت تعیین خطای خالص نیز ۳ بود که در سه تکرار انجام شد.

## نتایج

نتایج نشان داد که سویه NCIM 3119 در شرایط کشت پایه اولیه، توانایی تولید ۹/۹ گرم در لیتر زایلیتول با بازده زایلیتول ۰/۴۹ را دارند. برای بهینه‌کردن ۴ فاکتور دما (X<sub>1</sub>)، غلظت زایلوز (X<sub>2</sub>)، اسیدیته (X<sub>3</sub>) و غلظت عصاره مخمر به عنوان منبع نیتروژنی (X<sub>4</sub>) برای رشد و تولید زایلیتول توسط سویه مطالعه‌شده از طرح مرکب مرکزی و روش سطح پاسخ استفاده شد که نتیجه مدل سطح پاسخ به صورت آنالیز واریانس در جدول ۲ آورده شده است.

نتایج مدل به‌دست آمده در فرم آنالیز واریانس بر این نکته اشاره دارد که در تولید زایلیتول، معادله درجه دوم به‌دست آمده معنی‌دار است (جدول ۳). همچنین در تست عدم تطابق<sup>۲۴</sup> مشخص شد که داده‌های آزمایشگاهی در وضعیت مناسبی قرار دارند؛ زیرا داده‌های این تست معنی‌دار نیست (P=0.322). از طرف

معنی داری بر تولید زایلیتول دارند؛ در حالی که در بین آثار متقابل چهار فاکتور، اثر متقابل غلظت عصاره مخمر و غلظت قند زایلوز و همچنین اثر دما و اسیدیته معنی دار است ( $p < 0.05$ ).

می‌توان پیش‌بینی کرد که در اثر تغییرات هر کدام از فاکتورها چه بازده تولید زایلیتولی می‌توان انتظار داشت. براساس t تست (t-test) و مقدار p در جدول ۳ مشخص شد که غلظت عصاره مخمر و غلظت قند زایلوز تأثیر

جدول ۲- ماتریس طرح مرکب مرکزی بر راندمان تولید زایلیتول

ردیف	دما ( $X_1$ )	غلظت زایلوز ( $X_2$ )	اسیدیته ( $X_3$ )	غلظت عصاره مخمر ( $X_3$ )	میزان پیش‌بینی بازده زایلیتول (گرم بر لیتر)	میزان مشاهده بازده زایلیتول (گرم بر لیتر)
۱	-۱	-۱	۰	۰	۰/۴۹	۰/۵۴
۲	۱	-۱	۰	۰	۰/۳۴	۰/۳۴
۳	-۱	۱	۰	۰	۰/۳۱	۰/۳۴
۴	۱	۱	۰	۰	۰/۴۷	۰/۴۴
۵	۰	۰	-۱	-۱	۰/۵۴	۰/۵۴
۶	۰	۰	۱	-۱	۰/۳۷	۰/۳۸
۷	۰	۰	-۱	۱	۰/۶۵	۰/۶۷
۸	۰	۰	۱	۱	۰/۶۹	۰/۷۲
۹	-۱	۰	۰	-۱	۰/۴۲	۰/۳۹
۱۰	۱	۰	۰	-۱	۰/۳۷	۰/۳۷
۱۱	-۱	۰	۰	۱	۰/۵۸	۰/۵۶
۱۲	۱	۰	۰	۱	۰/۶۵	۰/۶۶
۱۳	۰	-۱	-۱	۰	۰/۴۸	۰/۵۱
۱۴	۰	۱	-۱	۰	۰/۵۰	۰/۵۰
۱۵	۰	-۱	۱	۰	۰/۴۷	۰/۴۵
۱۶	۰	۱	۱	۰	۰/۳۹	۰/۳۴
۱۷	-۱	۰	-۱	۰	۰/۴۹	۰/۴۵
۱۸	۱	۰	-۱	۰	۰/۵۱	۰/۵۰
۱۹	-۱	۰	۱	۰	۰/۴۳	۰/۴۳
۲۰	۱	۰	۱	۰	۰/۴۴	۰/۴۶
۲۱	۰	-۱	۰	-۱	۰/۳۷	۰/۳۵
۲۲	۰	۱	۰	-۱	۰/۴۰	۰/۴۳
۲۳	۰	-۱	۰	۱	۰/۶۵	۰/۵۹
۲۴	۰	۱	۰	۱	۰/۵۶	۰/۵۶
۲۵	۰	۰	۰	۰	۰/۶۵	۰/۶۶
۲۶	۰	۰	۰	۰	۰/۶۵	۰/۶۶
۲۷	۰	۰	۰	۰	۰/۶۵	۰/۶۲

جدول ۳- آنالیز واریانس داده‌ها برای تولید زایلیتول

منابع	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F	احتمال (P)
رگرسیون	۱۴	۰/۳۳	۰/۰۲	۱۵/۰۵	۰/۰۰۰
خطی	۴	۰/۱۶	۰/۰۴	۲۵/۰۰	۰/۰۰۰
درجه دوم	۴	۰/۱۳	۰/۰۳	۲۰/۷۲	۰/۰۰۰
اثر متقابل	۶	۰/۰۴	۰/۰۰۷	۲/۴۷	۰/۰۱۲
تست عدم تطبیق	۱۰	۰/۰۱	۰/۰۰۱		۰/۳۲
خطای خالص	۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰		
کل	۲۶	۰/۳۴			
فاکتورها	درجه آزادی	ضریب	خطای استاندارد	میزان t	میزان P
ثابت	۱	۰/۶۵	۰/۰۲	۲۸/۲۳	۰/۰۰
X <sub>1</sub> *	۱	۰/۰۰	۰/۰۱	۰/۳۵	۰/۷۳
X <sub>2</sub>	۱	-۰/۰۳	۰/۰۱	-۲/۷۵	۰/۰۲
X <sub>3</sub>	۱	-۰/۰۱	۰/۰۱	-۱/۲	۰/۲۵
X <sub>4</sub>	۱	۰/۱۱	۰/۰۱	۹/۵۳	۰/۰۰
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	۱	-۰/۱۲	۰/۰۲	-۶/۹۱	۰/۰۰
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	۱	-۰/۰۶	۰/۰۲	-۳/۴۷	۰/۰۱
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	۱	-۰/۱۳	۰/۰۲	-۷/۳۹	۰/۰۰
X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	۱	-۰/۰۲	۰/۰۲	-۱/۳۷	۰/۲۰
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	۱	-۰/۰۰۱	۰/۰۲	-۰/۰۷	۰/۹۴
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	۱	۰/۰۸	۰/۰۲	۳/۸۲	۰/۰۰
X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	۱	۰/۰۳	۰/۰۲	۱/۵۷	۰/۱۴
X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	۱	۰/۰۵	۰/۰۲	۲/۶۷	۰/۰۲
X <sub>3</sub> X <sub>2</sub>	۱	-۰/۰۳	۰/۰۲	-۱/۳۰	۰/۲۱
X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	۱	-۰/۰۳	۰/۰۲	-۱/۴۰	۰/۱۹

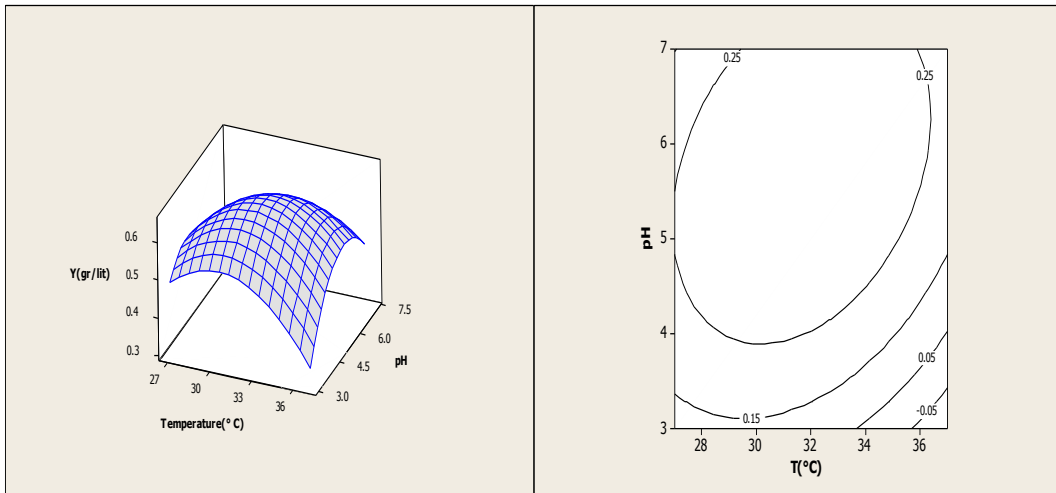
\* دما (X<sub>1</sub>)، غلظت زایلوز (X<sub>2</sub>)، اسیدیته (X<sub>3</sub>) و غلظت عصاره مخمر (X<sub>4</sub>)

در شکل ۱ (الف-و) اثر مختلف متغیرها بر تولید زایلیتول به دو صورت نمودارهای کانتور و سطح پاسخ آمده است. در نمودارهای کانتور، پاسخ برای دو متغیر مستقل به تصویر کشیده می‌شود. این در حالی است که متغیرهای دیگر ثابت هستند (معمولاً در سطوح صفر در نظر گرفته می‌شوند). شکل ۱ (الف) نشان می‌دهد که افزایش دما تا حدود ۳۲ درجه سلسیوس مقدار زایلیتول را افزایش می‌دهد، ولی در دماهای بالاتر از آن تولید زایلیتول کاهش می‌یابد. این شکل همچنین نشان می‌دهد

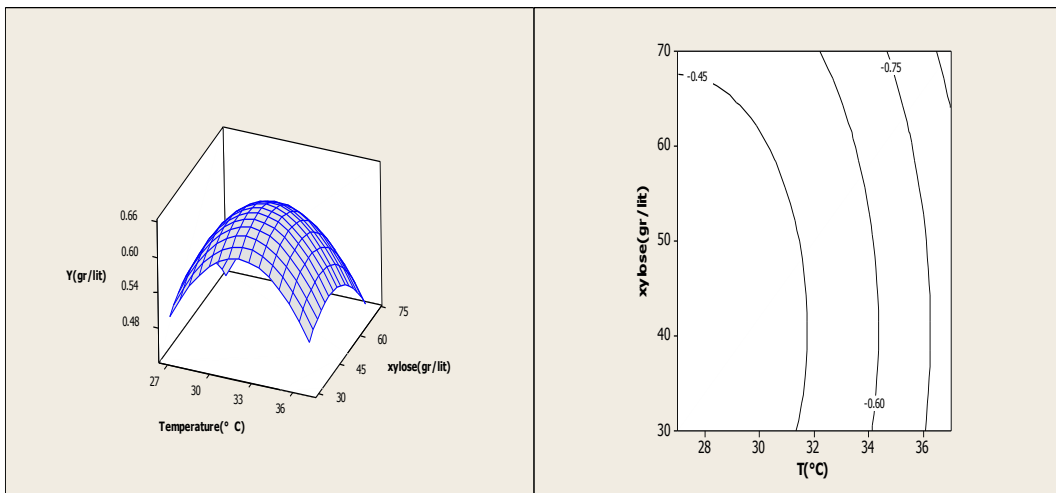
که اسیدیته بالا اثر منفی بر روی رشد میکروارگانیسم داشته و تولید زایلیتول کاهش می‌یابد. دلیل کاهش میزان تولید زایلیتول در اسیدیته‌های بالاتر، دور شدن از اسیدیته مطلوب رشد مخمر مطالعه شده می‌تواند باشد. همان‌طور که شکل ۱ (ب) دیده می‌شود با افزایش غلظت زایلوز تا حدود ۵۵ گرم در لیتر و افزایش دما تا حدود ۳۲ درجه سلسیوس، میزان بازده زایلیتول افزایش می‌یابد ولی در مقادیر بالاتر تولید زایلیتول کاهش می‌یابد.

(ه) نشان داده شده است. با مشاهده شکل می‌توان دریافت که میزان غلظت عصاره مخمر با بازده تولید زایلیتول رابطه خطی دارد؛ این در حالی است که این رابطه در مورد اسیدیته رابطه‌ای درجه دوم است. در نهایت تأثیر دو فاکتور غلظت زایلوز و عصاره مخمر بر بازده زایلیتول در شکل ۱ (و) مشاهده می‌شود و همان‌طور که از شکل دیده می‌شود رابطه غلظت زایلوز با تولید و بازده زایلیتول رابطه‌ای درجه دوم است؛ در حالی که رابطه غلظت عصاره مخمر با بازده زایلیتول رابطه‌ای خطی است و با افزایش غلظت عصاره مخمر میزان بازده زایلیتول نیز افزایش می‌یابد.

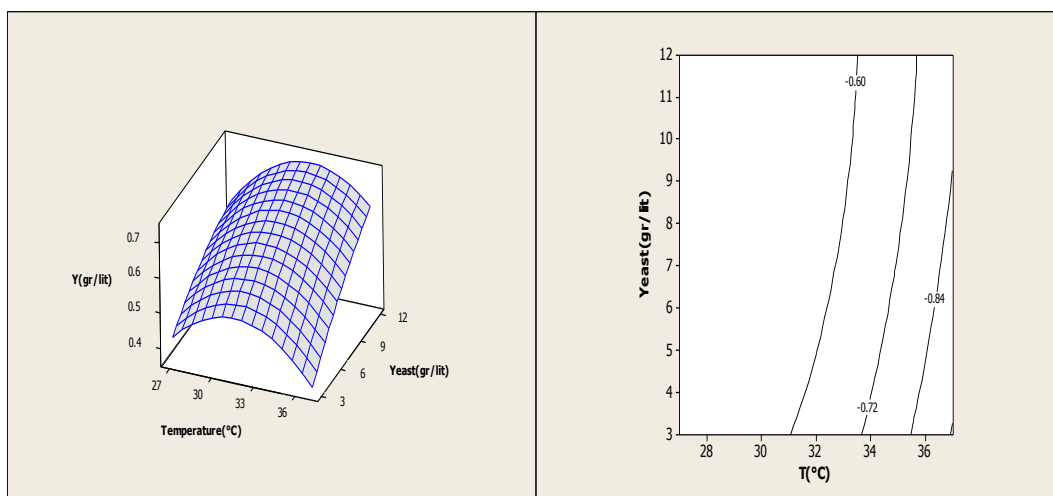
شکل ۱ (ج) نشان می‌دهد که در یک دمای ثابت، با افزایش غلظت عصاره مخمر، تولید زایلیتول و بازده آن افزایش می‌یابد؛ این در حالی است که در غلظت ثابت عصاره مخمر با افزایش دما تا ۳۲ درجه سلسیوس، میزان زایلیتول افزایش می‌یابد و پس از آن کاهش می‌یابد. شکل ۱ (د) تأثیر دو فاکتور غلظت زایلوز و اسیدیته را بر بازده زایلیتول بیان می‌کند و همان‌گونه که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت زایلوز تا حدود ۵۵ گرم در لیتر و افزایش اسیدیته تا حدود ۴/۵ میزان بازده زایلیتول افزایش می‌یابد. تأثیر دو فاکتور اسیدیته و عصاره مخمر در شکل ۱



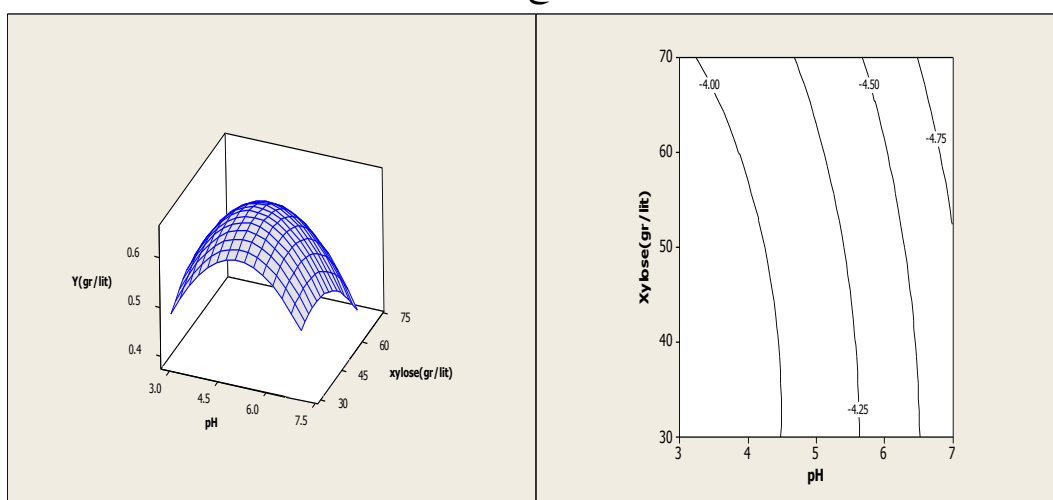
(الف)



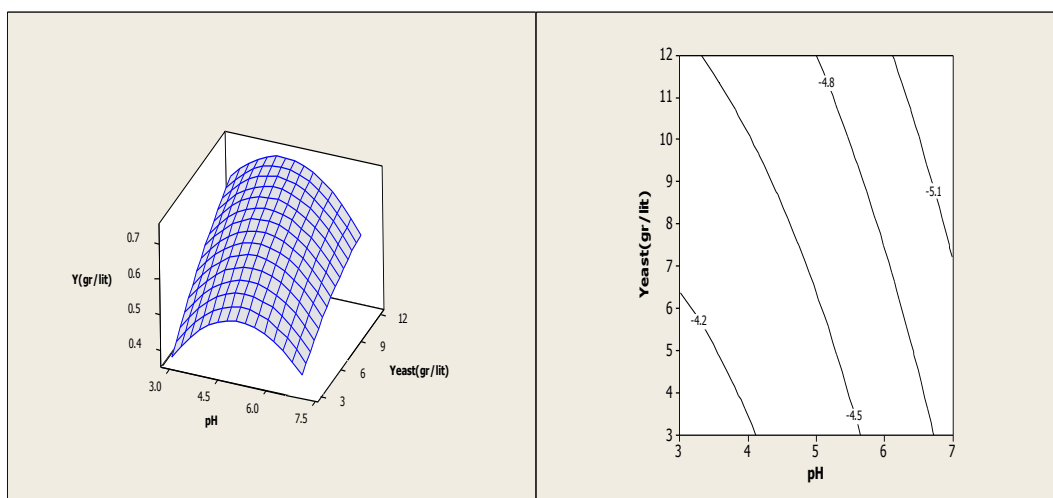
(ب)



(ج)

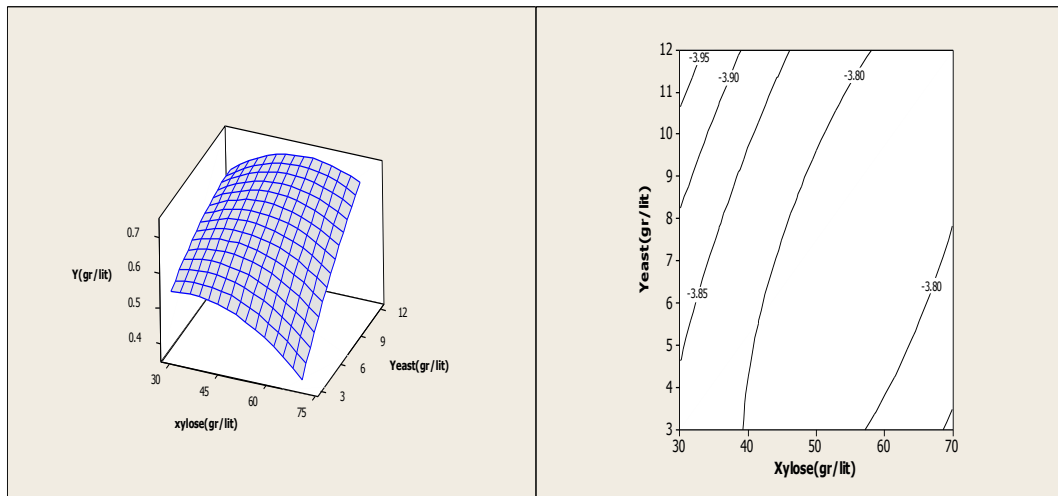


(د)



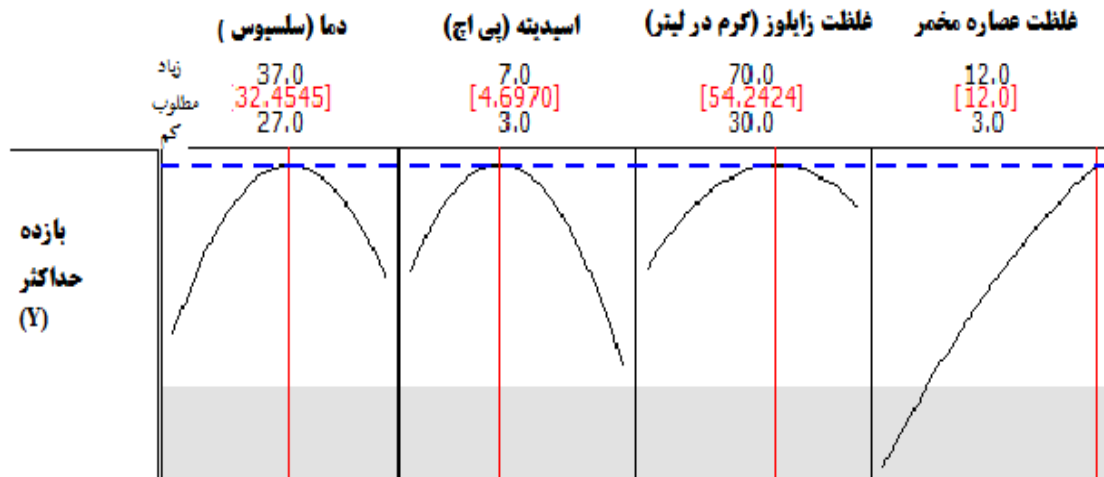
(ه)





(و)

شکل ۱. الف: بررسی تأثیر دما و اسیدیته بر بازده زایلیتول در شرایط غلظت ۵۰ گرم در لیتر زایلوز و ۷/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر. ب: تأثیر دما و غلظت زایلوز بر بازده زایلیتول در شرایط اسیدیته ۵ و غلظت ۷/۵ گرم بر لیتر عصاره مخمر. ج: تأثیر دما و غلظت عصاره مخمر بر بازده زایلیتول در شرایط اسیدیته ۵ و غلظت ۷/۵ گرم در لیتر زایلوز. د: تأثیر اسیدیته و غلظت زایلوز بر بازده زایلیتول در شرایط دمای ۳۲ درجه سلسیوس و غلظت ۷/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر. ه: تأثیر اسیدیته و غلظت عصاره مخمر بر بازده زایلیتول در شرایط دمای ۳۲ درجه سلسیوس و غلظت ۷/۵ گرم در لیتر زایلوز. و: تأثیر تغییرات غلظت زایلوز و عصاره مخمر بر بازده زایلیتول در شرایط دمای ۳۲ درجه سلسیوس و اسیدیته ۵.

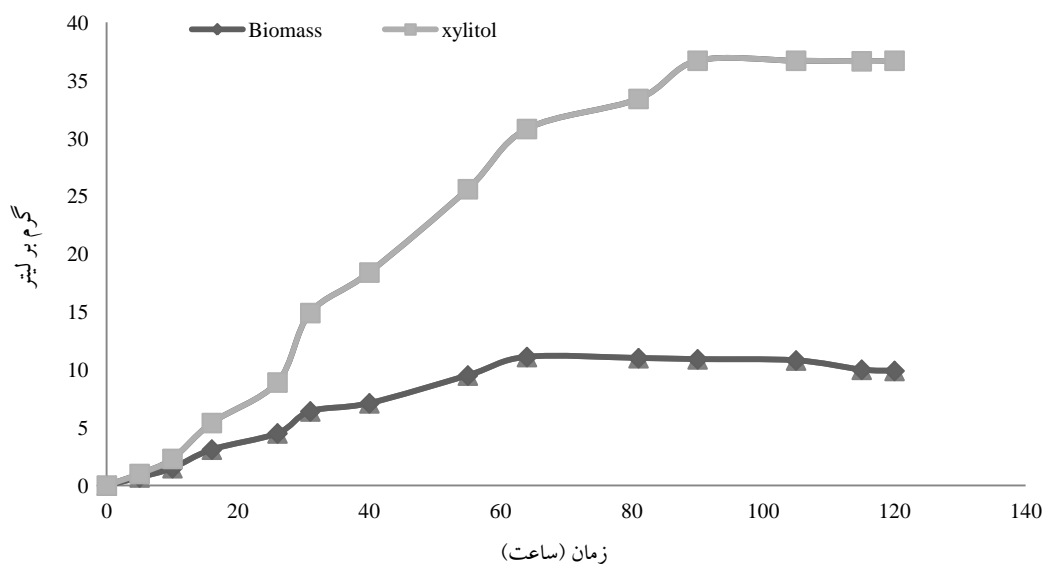


شکل ۲- اثر بهینه ۴ فاکتور دما، اسیدیته، غلظت زایلوز و عصاره مخمر در تولید و بازده زایلیتول (اعداد قرمز در شکل میزان بهینه فاکتور بررسی شده هستند).

به طوری که بیشترین غلظت عصاره مخمر (۱۲ گرم در لیتر) به تولید بیشترین میزان زایلیتول منجر شد. برای تأیید مدل به دست آمده، کشت در شرایط بهینه (دمای ۳۲ درجه سلسیوس، غلظت عصاره مخمر برابر ۱۲ گرم بر لیتر، اسیدیته ۴/۶۹ و غلظت قند زایلوز ۵۳/۲۴ گرم در لیتر) در سه تکرار انجام شد. بالاترین بازده تولید زایلیتول در این شرایط برابر با ۰/۶۹ بود که با نتایجی که مدل ارائه شده پیش‌بینی کرد، در تطابق بود. مشاهدات نشان داد که این مدل به خوبی می‌تواند اثر چهار فاکتور بررسی شده بر تولید زایلیتول را پیش‌بینی کند. شکل ۳ نمودار تولید زایلیتول و زیست‌توده سویه مطالعه شده را در شرایط بهینه نشان می‌دهد. بیشترین میزان تولید زیست‌توده ( $11/1 \pm 0/3$  گرم در لیتر) و بیشترین میزان زایلیتول ( $36/7 \pm 0/6$  گرم در لیتر) تا روز چهارم کشت سویه به دست آمد.

افزایش غلظت زایلوز از ۳۰ تا ۵۴ گرم در لیتر باعث افزایش بازده زایلیتول شد. اما مقادیر بالاتر زایلوز منجر به کاهش تولید شد. دو عامل محیطی بررسی شده دیگر دما (X1) و اسیدیته (X3) بود که افزایش میزان آن‌ها به ترتیب تا ۳۲ درجه سلسیوس و ۴/۶۹ باعث افزایش بازده زایلیتول شد؛ در حالی که میزان بالاتر آن‌ها باعث کاهش تولید شد.

شرایط بهینه برای تولید زایلیتول توسط سویه مطالعه شده در شکل ۲ یاد شده است که در آن ۴ فاکتور متغیر دما (X1) برابر ۳۲ درجه سلسیوس، غلظت زایلوز (X2) ۵۴/۲۴ گرم در لیتر، اسیدیته (X3) ۴/۶۹ و غلظت عصاره مخمر (X4) ۱۲ گرم در لیتر بود. در این شرایط بهینه بالاترین میزان تولید زایلیتول و بالاترین بازده تولید به دست آمد ( $Y=0.73$ ). با افزایش میزان غلظت عصاره مخمر (X4) تولید زایلیتول و بازده افزایش یافت؛



شکل ۳- نمودار تولید زایلیتول و زیست‌توده توسط سویه NCIM 3119 در شرایط بهینه

## بحث و نتیجه گیری

هدف از اجرای پژوهش حاضر بهینه‌سازی شرایط تولید زایلیتول از قند زایلوز توسط یک سویه مخمر *کندید/ تروپیکالیس* با استفاده از طرح مرکب مرکزی و روش سطح پاسخ بود. براساس مدل به‌دست‌آمده بیشترین میزان بازده زایلیتول ( $Y_{p/s}=0.73$ ) توسط سویه مخمر مطالعه‌شده در دمای  $32/7$  درجه سلسیوس، اسیدیته  $4/7$ ، غلظت قند زایلوز  $54/2$  و غلظت عصاره مخمر  $12$  گرم در لیتر برآورد شد (شکل ۲). در پژوهشی که کاو<sup>۲۵</sup> و همکاران انجام دادند، بهترین دامنه اسیدیته برای تولید زایلیتول توسط مخمرها بین  $4$  تا  $5$  به دست آمده بود (۲۸) و بنابراین، نتایج پژوهش حاضر نیز با نتایج ذکر شده در تطابق‌اند.

به‌منظور ارزیابی مدل به‌دست‌آمده، آزمایش تولید زایلیتول در شرایط بهینه توسط سویه انجام شد و در آن بازده تولید زایلیتول، میزان تولید زایلیتول و میزان تولید زیست‌توده در شرایط ذکر شده به ترتیب  $0.69$ ،  $36/7$  گرم در لیتر و  $11/1$  گرم در لیتر بود و با مدل به‌دست‌آمده در تطابق بود. از جمله پژوهش‌هایی که در بهینه‌سازی شرایط محیطی برای تولید زایلیتول انجام شده، پژوهش‌های راوو<sup>۲۶</sup> و همکاران است که آن‌ها در پژوهش ذکر شده اثر تغییرات برخی از شرایط محیطی مانند دما، اسیدیته، میزان قند زایلوز، میزان عصاره مخمر و میزان درصد مایه تلقیح مخمر *کندید/ اس پی* را بر تولید زایلیتول با روش تاگوچی بررسی کردند و نشان دادند که مهم‌ترین فاکتورها در افزایش تولید زایلیتول در سویه ذکر شده دما، غلظت زایلوز و منبع ازت هستند. آن‌ها موفق شدند با بهینه‌سازی شرایط بازده تولید زایلیتول را تا  $78\%$  درصد افزایش دهند (۵). این نتایج با نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر در تطابق بوده و

بازده بهینه زایلیتول نیز در پژوهش حاضر به حدود  $73\%$  درصد رسید. پژوهش حاضر نشان داد که یکی از عوامل مهم در تولید زایلیتول، دما است و در دمای  $32$  درجه سلسیوس بالاترین بازده مشاهده شد (شکل ۱-الف و شکل ۲). البته با افزایش دما از میزان بازده کاسته شد که احتمالاً دلیل آن این است که دمای بهینه رشد و فعالیت سویه مخمر مطالعه‌شده دمای  $32$  درجه سلسیوس است. باربوسا<sup>۲۷</sup> و همکاران (۹) نیز در پژوهش خود نشان داده بودند که دمای بهینه برای تولید زایلیتول توسط مخمر *کندید/ گویلیرموندی* بین  $30$  تا  $35$  درجه سلسیوس است که در تطابق با پژوهش حاضر بود. این در حالیست که ژانگ<sup>۲۸</sup> و همکاران (۲۹) بالاترین میزان تولید زایلیتول توسط *کلایورومایسس مارکسیانوس*<sup>۲۹</sup> نو ترکیب را به دلیل گرمادوست بودن این میکروارگانیسم در دمای  $42$  درجه سلسیوس به دست آورد. پژوهش‌های دیگری که فلیپه<sup>۳۰</sup> و همکاران (۳۰) و همچنین کانورتی و دومینگوئز<sup>۳۱</sup> انجام دادند (۳۱) نشان دادند که اسیدیته در تولید زایلیتول توسط *کندید/ گویلیرموندی* و *دبارومایسس هنسنی*<sup>۳۲</sup> دارای اثر بسیار معنی‌داری است و برای این دو میکروارگانیسم اسیدیته مطلوب حدود  $5/5$  است و به نتایج پژوهش حاضر که اسیدیته مطلوب  $4/7$  بود، نزدیک است.

در خصوص غلظت زایلوز، در پژوهش حاضر با افزایش میزان زایلوز تا  $55$  گرم در لیتر بازده تولید زایلیتول افزایش یافت؛ اما بعد از آن کاهش یافت (شکل ۱-ب و شکل ۲). دلیل کاهش میزان بازده تولید زایلیتول با افزایش میزان غلظت زایلوز بیش از  $55$  گرم در لیتر، احتمالاً تحمل‌ناداشتن سویه مخمر مطالعه‌شده به غلظت بالای این ماده است. این موضوع را قبلاً ژانگ و همکاران (۲۹) نیز گزارش کرده بودند. این نتایج با

غلظت ۳۶/۷ گرم در لیتر با بازده ۰/۶۹ تولید شد که با نتایج سایر محققان قابل مقایسه است. اخیراً به تولید بیوتکنولوژیک زایلیتول با استفاده از گونه‌های مخمر *کن‌دیدا/اس پی* و استفاده از پسماندهای لیگنوسلولزی کشاورزی (۳۴) مثل کاه و کلش برنج (۲۹)، پسماندهای ذرت (۱ و ۶ و ۱۹)، ساقه و کاه و کلش سورگوم (۸)، پسماندهای همی سلولزی درختان میوه (۱۱) و سایر مواد لیگنوسلولزی و همی سلولزی حاوی زایلوز بسیار توجه شده است. از نتایج پژوهش حاضر به‌عنوان مقدمه پژوهش‌های آتی نویسندگان برای بهینه‌سازی تولید زایلیتول از منابع لیگنوسلولزی ارزان‌قیمت کشور مثل کاه و کلش برنج که حاوی درصد بالایی از زایلوز است، استفاده خواهد شد.

#### تشکر و قدردانی:

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تا از همکاری‌های صمیمانه آقای مهندس سعید عباسعلیزاده و همچنین سایر همکاران بخش تحقیقات بیوتکنولوژی میکروبی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران تقدیر و تشکر کنند. این پژوهش در قالب پروژه مصوب پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (با شماره ۹۰۰۹-۰۵-۰۵) طراحی و اجرا شده است.

#### References

- (1) Wang L., Yang M., Fan X., Zhu X., Xu T., Yuan Q. An environmentally friendly and efficient method for xylitol bioconversion with high-temperature-steaming corncob hydrolysate by adapted *Candida tropicalis*. *Process Biochemistry* 2011; 46 (8): 1619-26.

پژوهش‌های هوریتسو<sup>۳۳</sup> و همکاران (۳۲) که نشان دادند میزان بازده تولید زایلیتول توسط این مخمر با افزایش غلظت زایلوز تا ۱۷۲ گرم در لیتر افزایش دارد، متفاوت بود. به نظر می‌رسد دلیل این امر اختلاف ژنتیکی نوع سویه‌های استفاده شده باشد. این گروه همچنین نشان داده بودند که غلظت عصاره مخمر نیز دارای اثر بسیار معنی‌داری بر عملکرد تولید زایلیتول دارد که این موضوع در پژوهش حاضر نیز مشخص شده است (شکل ۱-ج). علاوه بر این، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که فاکتورهای محیطی مختلف شامل غلظت زایلوز و اسیدیته (شکل ۱-د)، غلظت عصاره مخمر و اسیدیته (شکل ۱-ه) و غلظت عصاره مخمر و غلظت زایلوز (شکل ۱-و) دارای آثار متقابل است و آثار مثبت آن‌ها از نوع خطی (عصاره مخمر) و یا درجه دوم (غلظت زایلوز و اسیدیته) هستند. این موارد در پژوهش‌های سایر محققان نیز به‌نحوی مشاهده شده است (۳۰-۳۲).

سیلوا و همکاران نیز با استفاده از کاه و کلش برنج هیدرولیز شده موفق شدند به کمک مخمر *کن‌دیدا/گوبیلیرموندی* زایلیتول با بازده ۶۰ درصد تولید کنند (۳۳). تاجیک<sup>۳۴</sup> و همکاران نیز با استفاده از روش یک فاکتور در زمان و آنالیز تاگوچی توانستند تولید زایلیتول را در مخمر *پیشیا گوبیلیرموندی* با تغییر فاکتورهای منبع کربن و ازت بهینه‌سازی کنند. آن‌ها نشان دادند که برای سویه ذکر شده بهترین منبع کربنی زایلوز است و بهترین منبع ازت نیز عصاره مخمر و پپتون است (۲۶).

به‌طور کلی، با توجه به نتایج به‌دست آمده، در پژوهش حاضر فاکتورهای محیطی شامل نوع منبع ازت، دما، اسیدیته، غلظت زایلوز و غلظت منبع نیتروژنی برای تولید زایلیتول توسط سویه *NCIM 3119* مخمر *کن‌دیدا/تروپیکالیس* بهینه‌سازی شد و در نتیجه آن زایلیتول با

- (2) Mohamad NL., Mustapa Kamal SM., Mokhtar MN. Xylitol biological production: A review of recent studies. *Food Review International* 2014; Online First. DOI: 10.1080/87559129.2014.961077
- (3) Mussatto SI., Dragone G. Influence of the toxic compounds present in brewer's spent grain hemicellulosic hydrolysate on xylose-to-xylitol bioconversion by *Candida guilliermondii*. *Process Biochemistry* 2005; 40 (12): 3801- 06.
- (4) Silva CJS., Mussatto SI., Roberto., IC. Study of xylitol production by *Candida guilliermondii* on a bench bioreactor. *Journal of Food Engineering* 2006; 75 (1): 115- 9.
- (5) Rao RS., Prakasham R. Xylitol production by *Candida* sp.: parameter optimization using Taguchi approach. *Process Biochemistry* 2004; 39 (8): 951- 6.
- (6) Guo X., Zhang R., Li Z., Dai D., Li C., Zhou X. A novel pathway construction in *Candida tropicalis* for direct xylitol conversion from corncob xylan. *Bioresource Technology* 2013; 128: 547- 52.
- (7) Lachke A. Biofuel From xylose the second most abundant sugar. *Resonance* 2002; 7 (5): 50- 8.
- (8) Sene L., Arruda PV., Oliveira SMM., Felipe MGA. Evaluation of sorghum straw hemicellulosic hydrolysate for biotechnological production of xylitol by *Candida guilliermondii*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2011; 42 (3): 1141-1146.
- (9) Barbosa MFS., De Medeiros M., De Manchila. Screening of yeasts for production of xylitol from xylose and some factors whit affect xylitol yield in *Candida guilliermondii*. *Journal of Industrial Microbiology* 1988; 3: 241- 51.
- (10) Winkelhausen E., Kuzmanova S. Microbial conversion of D-xylose to xylitol. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 1998; 86 (1): 1- 14.
- (11) Zhang J., Geng A., Yao C., Lu Y., Li Q. Xylitol production from d-xylose and horticultural waste hemicellulosic hydrolysate by a new isolate of *Candida athensensis* SB18. *Bioresource Technology* 2012; 105: 134- 41.
- (12) Girio MF., Pelica F., Collaco MTA. Charactrization of xylitol dehydrogenase from *Dobaryomyces Hansenii*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 1996; 56: 79- 87.
- (13) Nigam P., Singh D. Processes for fermentative production of xylitol. *Process Biochemistry* 1995; 30: 117- 24.
- (14) Parajo JC., Dominguez H., Dominguez JM. Biotechnological production of xylitol. Part 1: Interest of xylitol and fundamental of its biosynthesis. *Bioresource Technology* 1998; 65: 191- 201.
- (15) Sampaio FC., Silveira WBD., Chaves-Alves VM., Passos FML., Coelho JLC. Screening of filamentous fungi for production of xylitol from D-xylose. *Brazilian Journal of Microbiology* 2003; 34 (4), 321- 24.
- (16) Chin JW., Cirino PC. Improved NADPH supply for xylitol production by engineered *Escherichia coli* with glycolytic mutations. *Biotechnology Progress* 2011; 27 (2): 333- 41.
- (17) Cheng H., Lv J., Wang H., Wang B., Li Z., Deng Z. Genetically engineered *Pichia pastoris* yeast for conversion of glucose to xylitol by a single-fermentation process. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2014; 98 (8), 3539- 52.
- (18) Hong Y., Dashtban M., Kepka G., Chen S., Qin W. Overexpression of D-Xylose reductase (xy11) gene and antisense inhibition of D-Xylulokinase (xyiH) gene increase xylitol production in *Trichoderma reesei*. *BioMed research international* 2014; 1- 8.
- (19) Li M., Meng X., Diao E., Du F. Xylitol production by *Candida tropicalis* from corn cob hemicellulose hydrolysate in a two-stage fed-batch fermentation process.

- Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 2012; 87 (3): 387- 92.
- (20) Chicatto J A., Costa A., Nunes H., Helm C V., Tavares L. Evaluation of hollocelulase production by *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler during the submerged fermentation growth using RSM. *Brazilian Journal of Biology* 2014; 74 (1): 243- 50.
- (21) Khodaiyan F., Razavi H., Mousavi M. Optimization of canthaxanthin production by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 from cheese whey using statistical experimental methods. *Biochemical Engineering Journal* 2008; 40: 415- 22
- (22) Meena GS., Kumar N., Majumdar GC., Banerjee R., Meena PK., Yadav V. Growth characteristics modeling of *Lactobacillus acidophilus* using RSM and ANN. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 2014; 57 (1): 15- 22.
- (23) Kumari R., Singh S., Pradhan N., Chandni S., Karthik L., Kumar G., Rao KV. RSM Optimized media to increase the antibacterial activity of wild and mutated strain of nocardiosis VITSRTB. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 2014; 7 (2): 213- 20.
- (24) Nasser Al-Shorgani NK., Mohd Isa MH., Yusoff WMW., Kalil MS., Hamid AA. Response Surface Methodology for biobutanol optimization using locally isolated *Clostridium acetobutylicum* YM1. *International Journal of Green Energy* 2014; 12 (12): 1236- 43.
- (25) Perchestan SN., Borghei SM., Gholami RM. Optimization of metals bio recovery process from spent catalysts using *Thiobacillus thiooxidans* and RSM methodology. *The AYER* 2015; 1: 194- 201.
- (26) Tajik M., Faezi Ghasemi M., Chaichi Nostrati A., Besharat Vesal N. Optimization production of xylitol by *Pichia guilliermondii* DSMZ 6381 strain at laboratory level. *Environmental Microorganisms and Biotechnology* 2012; 3 (6): 19- 32 [In Persian].
- (27) Zahed O. Continuous coproduction of ethanol and xylitol from rice straw using a co-culture system in a membrane bioreactor [dissertation]. Tehran: University of Tehran; 2011 [in Persian].
- (28) Cao NJ., Tang R., Gong C S., Chen LF. The effect of cell density on the production of xylitol from d-xylose by yeast. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 1994; 45 (1): 515- 19.
- (29) Zhang J., Zhang B., Wang D., Gao X., Hong J. Improving xylitol production at elevated temperature with engineered *Kluyveromyces marxianus* through over-expressing transporters. *Bioresource Technology* 2015; 175: 642- 5.
- (30) Felipe MG., Vitolo M., Mancilha IM., Silva SS. Fermentation of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate for xylitol production: effect of pH. *Biomass and Bioenergy* 1997; 13 (1): 11- 14.
- (31) Converti A., Domínguez JM. Influence of temperature and pH on xylitol production from xylose by *Debaryomyces hansenii*. *Biotechnology and Bioengineering* 2001; 75 (1): 39- 45.
- (32) Horitsu H., Yahashi Y., Takamizawa K., Kawai K., Suzuki T., Watanabe N. Production of xylitol from D-xylose by *Candida tropicalis*: Optimization of production rate. *Biotechnology and Bioengineering* 1992; 40 (9): 1085- 91.
- (33) Silva CJ., Roberto IC. Optimization of xylitol production by *Candida guilliermondii* FTI 20037 using response surface methodology. *Process Biochemistry* 2001; 36 (11): 1119- 24.
- (34) de Albuquerque TL., da Silva II., de Macedo GR., Rocha MVP. Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: A review. *Process Biochemistry* 2014; 49 (11): 1779- 89.

- 
- 1- *Xylitol*
  - 2- *Pichia sp.*
  - 3- *Debaryomyces sp.*
  - 4- *Candida sp.*
  - 5- *Saccharomyces cerevisiae*
  - 6- *Candida guilliermondii*
  - 7- *Candida tropicalis*
  - 8- *Corynebacterium sp.*
  - 9- *Enterobacter liquificiens*
  - 10- *Mycobacterium smegmatis*
  - 11- *Petromyces albertensis*
  - 12- *Penicillium*
  - 13- *Aepergillus*
  - 14- *Neurospora sp.*
  - 15- *E. coli*
  - 16- *Pichia pastoris*
  - 17- *Trichoderma Reesei*
  - 18- Response Surface Methodology (RSM)
  - 19- Central Composite Design (CCD)
  - 20- Response Surface Methodology (RSM)
  - 21- Knauer
  - 22- Eurokat H
  - 23- Chromgate
  - 24- Lack of fit
  - 25- Cao
  - 26- Rao
  - 27- Barbosa
  - 28- Zhang
  - 29- *Kluyveromyces marxianus*
  - 30- Felipe
  - 31- Converte and Domínguez
  - 32- *Debaryomyces hansenii*
  - 33- Horitsu
  - 34- Tajik





## Optimization of biotechnological production of xylitol by a *Candida tropicalis* strain using Response Surface Methodology

Omid Zahed

MSc. of Food Science, University of Tehran, Karaj, Iran, ozahed@ut.ac.ir

Gholamreza Salehi Jouzani\*

Associate Professor of Biotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran, gsalehi@abrii.ac.ir

Faramarz Khodaiyan

Associate professor of Food Science, University of Tehran, Karaj, Iran, khodaiyan@ut.ac.ir

### Abstract

**Introduction:** Xylitol is known as one of the most commonly used dietary sugars in food and pharmaceutical industries. The common methodology for production of xylitol is a chemical process which requires high energy and is costly. Biotechnological production of xylitol using microorganisms is an alternative process that is environmentally friendly and cost effective. So, the objective of the present study was to optimize biotechnological production of xylitol from xylose using *Candida tropicalis* NCIM 3119 strain in the framework of Central Composite Design (CCD) and Response Surface Methodology (RSM).

**Materials and methods:** Four independent factors including temperature (27, 32 and 37°C), pH (3, 5 and 7), xylose concentration (30, 50 and 70 g/l) and yeast extract concentration (3, 7.5 and 12 g/l) were selected, and the xylitol yield ( $Y_{p/s}$ = gram xylitol per gram xylose utilized) and biomass production were calculated.

**Results:** Based on the constructed model, maximum expected xylitol yield ( $Y_{p/s}$ = 0.73) was achieved when temperature, pH, and xylose and yeast extract concentrations were 32.7°C, 4.7, 54.2 g/l and 12 g/l, respectively. To confirm the calculated model, an experiment for xylitol production by the strain in the optimum condition was designed at Erlenmeyer level. The results showed that observed xylitol yield and concentration and also biomass of the strain were 0.69, 36.7 g/l and 11.1 g/l, respectively, which were in accordance with the model.

**Discussion and conclusion:** Based on the results, it could be concluded that the environmental parameters, including nitrogen source, temperature, pH and xylose and nitrogen source concentrations were optimized to enhance biotechnological production of xylitol, and the final concentration of 36.7 g/l xylitol with 0.69 yield efficiency was achieved.

**Key words:** *Candida tropicalis*, Optimization, Response Surface Methodology (RSM), Xylitol, Xylose

---

\* Corresponding author

**Received:** November 23, 2014 / **Accepted:** April 22, 2015