بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ
MRTsoft

دانشکده مهندسی شیمی

**رساله دکتری رشته مهندسی شیمی گرایش بیوتکنولوژی**

# بهینه‌سازی و مدل‌سازی تولید بیواتانول از کروب به وسیله *زیموموناس موبیلیس* در فرآیند تخمیر حالت جامد

**نگارش**

داود مظاهری

**استاد راهنما**

دکتر سید عباس شجاع‌الساداتی

**استادان مشاور**

دکتر سید محمد موسوی

دکتر پریسا حجازی

**دی ۱۳۹۲**

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده مهندسی شیمی

بسمه تعالی

## تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

**آقای داود مظاهری تهرانی** رساله ۲۴ واحدی خود را با عنوان **بهینه سازی و مدل سازی تولید بیواتانول از کروب پاد بوسیله زیوموناس موبیلیس در فرایند تخمیر حالت جامد** در تاریخ ۱۳۹۲/۱۰/۷ ارائه کردند.

اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده، پذیرش آنرا برای اخذ درجه دکتری بیوتکنولوژی پیشنهاد می کنند.

| عضو هیات داوران | نام و نام خانوادگی | رتبه علمی | امضا |
|---|---|---|---|
| استاد راهنما | دکتر سید عباس شجاع الساداتی | استاد | |
| استاد مشاور | دکتر پریسا حجازی | استادیار | |
| استاد مشاور | دکتر سید محمد موسوی | استادیار | |
| استاد ناظر | دکتر ابراهیم واشقانی فراهانی | استاد | |
| استاد ناظر | دکتر محسن نصرتی | استادیار | |
| استاد ناظر | دکتر بابك بنكدار پور | دانشیار | |
| استاد ناظر | دکتر زهره حمیدی اصفهانی | دانشیار | |
| مدیر گروه (یا نماینده گروه تخصصی) | دکتر ابراهیم واشقانی فراهانی | استاد | |

# آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

**مقدمه:** با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

**ماده ۱**- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

**ماده ۲**- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

**تبصره:** در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

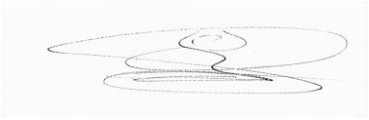
**ماده ۳**- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

**ماده ۴**- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

**ماده ۵**- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **داود مظاهری** دانشجوی رشته **مهندسی شیمی-بیوتکنولوژی** ورودی سال تحصیلی **۸۸** مقطع **دکتری** دانشکده **مهندسی شیمی** متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم».

امضا



تاریخ ۹۲/۱۰/۲۱

# آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشـار پایان‌نامه (رسـاله)های تحصـیلی دانشـجویان دانشـگاه تربیت مدرس، مبین بخشـی از فعالیت‌های علمی پژوهشـی دانشـگاه اسـت. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشـگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:
ماده ۱ : در صـورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:
" کتاب حاضر، حاصل **رساله دکتری** نگارنده در رشته **مهندسی شیمی-بیوتکنولوژی** است که در سال **۱۳۹۲** در دانشـکده مهندسـی شـیمی دانشـگاه تربیت مدرس به راهنمایی **دکتر سیدعباس شجاع‌الساداتی**، مشـاوره **دکتر سیدمحمد موسوی و دکتر پریسا حجازی** از آن دفاع شده است.

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشـر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ : در صـورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵ : دانشـجو تعهد و قبول می‌کند در صـورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضـایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶ : اینجانب **داود مظاهری** دانشـجوی رشـته **مهندسی شیمی بیوتکنولوژی** مقطع **دکتری** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی **داودمظاهری**
تاریخ و امضا ۹۲/۱۰/۲۱

دستاورد آموخته هایم را تقدیم می کنم به آنان که مهر آسمانی شان آرام بخش آلام زمینی ام است

به استوارترین تکیه گاهم، دستان پرمهر پدرم

به سبزترین نگاه زندگیم، چشمان مهربان مادرم

که هرچه آموختم در مکتب عشق شما آموختم و هرچه بکوشم قطره ای از دریای بی کران مهربانیتان را سپاس

نتوانم بگویم.

امروز، هستی ام به امید شماست و فردا کلید باغ بهشتم رضای شما

بوسه بر دستان پرمهرتان.

# تشکر و قدردانی

حمد و سپاس خدایی را که مرا در زندگی به خود رها نکرد و راه علم را پیش پایم گشود، سلامتی جانم داد تا قدرتی باشد برای تحصیل علم، و روانی سالم عطا فرمود تا نشانه‌های قدرت او را بیابم و راهنماییم نمود تا راه راست را از بیراهه تشخیص دهم.

شایسته است در همین آغازین صفحات رساله خود تشکر و قدردانی خالصانه خود را به همه معلمین و اساتیدی ابراز دارم که از ابتدای تحصیل تا کنون خوشه‌چین خرمن دانش آن‌ها بوده‌ام. به‌ویژه از زحمات فراوان جناب آقای **دکتر سیدعباس شجاع‌الساداتی** که در طول انجام این رساله با راهنمایی‌های ارزشمند خود چه از لحاظ علمی و چه از لحاظ روحی همواره پشتیبان من بودند و زحمت راهنمایی این رساله را تقبل کردند سپاس‌گزاری می‌کنم.

همچنین از استادان گرانمایه، جناب آقای **دکتر سیدمحمد موسوی** و سرکار خانم **دکتر پریسا حجازی** که همواره با ذهنی دقیق و نگرشی عمیق مرا در انجام این پژوهش مشاوره دادند قدردانی می‌کنم.

از همه اساتید گروه بیوتکنولوژی دانشکده مهندسی شیمی دانشگاه تربیت مدرس که در این چند سال افتخار شاگردی آن‌ها را داشتم، به‌ویژه آقایان **دکتر ابراهیم واشقانی فراهانی** و **دکتر محسن نصرتی** که زحمت داوری رساله را نیز به‌عهده داشتند، تشکر می‌کنم. همچنین از آقای **دکتر بابک بنکدارپور** و خانم **دکتر زهره حمیدی اصفهانی** که با دقت فراوان به داوری این رساله پرداختند تشکر و قدردانی می‌نمایم.

همچنین از کمک‌های بی‌دریغ و راهنمایی‌های ارزنده جناب آقای **دکترحسین وحید** در طول انجام رساله تشکر می‌کنم. از سرکار **خانم تیموری** و همه دوستانی که در طول انجام این پژوهش بنده را یاری رساندند، به‌ویژه آقای مهندس **سعید سحرخیز**، سپاس‌گزاری می‌کنم.

در پایان از **همسر عزیزم** که با سعه صدر و بردباری در مراحل پایانی این رساله در کنارم بود و قوت قلبی بود برایم برای پشت سرنهادن مشکلات و سختی‌ها، تشکر و قدردانی می‌کنم.

## چکیده

افزایش مصرف انرژی در جهان سبب تلاش آدمی برای یافتن منابع تازه انرژی شده است. یکی از این منابع انرژی زیست اتانول است که یک منبع انرژی تجدیدپذیر و دوست‌دار محیط زیست است. از روش تخمیر حالت جامد با توجه به تولید پساب کمتر، استفاده از مواد اولیه ارزان و بی نیازی به فرآیند برون‌آوری قند، به عنوان یک روش مناسب برای تولید زیست‌اتانول می‌توان بهره برد.

در این پژوهش برای نخستین بار تولید زیست‌اتانول از میوه گیاه کروب با به‌کارگیری باکتری *زیمومونَاس موبیلیس* در فرآیند تخمیر حالت جامد بررسی شده است. سبوس گندم نیز به عنوان پایه‌ای برای رشد در محیط کشت جامد به‌کار رفت. پس از تعیین عوامل مؤثر بر فرآیند (دما، pH، اندازه ذرات کروب، اندازه ذرات سبوس، رطوبت اولیه رشدمایه، غلظت محلول‌های پپتون و عصاره مخمر، میزان مایه تلقیح و زمان تخمیر) از طراحی پلاکت-برمن برای غربال‌گری عوامل استفاده شد. نتایج نشان داد که ۵ عامل دما، اندازه ذرات کروب، غلظت محلول پپتون، میزان مایه تلقیح و زمان عوامل مهم هستند. رطوبت نیز در مقدار بیشینه خود (۸۰٪) ثابت فرض شد. در ادامه روش سطح پاسخ برای بهینه سازی شرایط فرآیند به‌کار رفت و دمای $31^{\circ}C$، اندازه ذرات کروب ۱ mm، غلظت محلول پپتون ۰/۷٪، میزان مایه تلقیح $6/74\times10^{8}$ سلول بر گرم کروب و زمان ۴۳ ساعت به عنوان شرایط بهینه فرآیند در درون ارلن شناسایی شد. در این شرایط بیشینه اتانول ۰/۳ گرم بر گرم قند اولیه تولید شد.

در ادامه و در ستون بستر آکنده اثر عواملی چون دمای کاری ستون، اندازه ذرات کروب و اثر هوادهی به صورت پیوسته و متناوب بررسی شد. نتایج نشان داد که در دمای کاری $28^{\circ}C$، اندازه ذرات ۱ mm و انجام هوادهی به صورت متناوب در ۱۵ ساعت دوم تخمیر به مدت ۱۵ دقیقه در هر ساعت بیش‌ترین میزان تولید اتانول به دست آمد. در این حالت بیشینه تولید اتانول ۰/۲۹ گرم بر گرم قند اولیه بود. همچنین مشخص شد انجام هوادهی به خروج $CO_2$ گیرافتاده در بستر کمک می‌کند. سنجش گاز $CO_2$ در درون زی‌واکنش‌گاه نیمه صنعتی زیموتیس نیز نشان داد که تنها هنگامی که هوادهی انجام می‌شود $CO_2$ از بستر بیرون می‌رود.

در پایان مدل‌سازی تولید اتانول در فرآیند تخمیر حالت جامد بر اساس کاهش وزن خشک محیط کشت جامد انجام شد و از مدل‌های رشد نمایی و لجستیک استفاده شد که مدل توسعه داده شده، به‌ویژه مدل به‌دست آمده با کمک معادله رشد لجستیک، تطابق خوبی با داده‌های آزمایشگاهی داشت.



**واژه‌های کلیدی:** زیست‌اتانول، کروب، *زیمومونَاس موبیلیس*، تخمیر حالت جامد، بهینه‌سازی، مدل‌سازی

# فهرست مطالب

**فصل اول: مقدمه** ..... **۲**

**فصل دوم: مروری بر پژوهش‌های پیشین** ..... **۹**

۲-۱ زیست‌اتانول ..... ۹

۲-۱-۱ دسته‌بندی انواع زیست‌اتانول ..... ۱۰

۲-۲ فرآیند تخمیر حالت جامد ..... ۱۳

۲-۲-۱ تاریخچه تخمیر حالت جامد ..... ۱۴

۲-۲-۲ مقایسه تخمیر حالت جامد با دیگر فرآیندهای تخمیر ..... ۱۶

۲-۲-۳ برتری های تخمیر حالت جامد ..... ۱۶

۲-۲-۴ معایب فرآیند SSF ..... ۱۷

۲-۲-۵ عوامل محیطی در SSF ..... ۱۹

۲-۲-۵-۱ محتوای رطوبت ..... ۲۰

۲-۲-۵-۲ pH ..... ۲۱

۲-۲-۵-۳ دما ..... ۲۱

۲-۲-۵-۳-۱ روش‌های مهار دما در SSF ..... ۲۲

۲-۲-۶ زی‌واکنش‌گاه های صنعتی به کار رفته در SSF ..... ۲۴

۲-۲-۶-۱ زی‌واکنش‌گاه بستر آکنده ..... ۲۵

۲-۲-۶-۲ زی‌واکنش‌گاه بستر آکنده زیموتیس ..... ۲۶

۲-۳ کاربردهای تخمیر حالت جامد برای تولید زیست‌اتانول ..... ۲۸

۲-۳-۱ کاربرد تخمیر حالت جامد در پیش تیمار مواد خام ..... ۲۸

۲-۳-۲ کاربرد تخمیر حالت جامد در آبکافت رشدمایه ..... ۳۱

۲-۳-۳ کاربرد تخمیر حالت جامد در تخمیر قندها به اتانول ..... ۳۳
۲-۳-۳-۱ تفاله انگور و چغندر قند ..... ۳۵
۲-۳-۳-۲ سورگوم شیرین ..... ۳۵
۲-۳-۳-۳ اروروت ..... ۳۶
۲-۳-۳-۴ گل ماهولا ..... ۳۷
۲-۳-۳-۵ معرفی گیاه کروب و پیشینه تولید زیست‌اتانول از آن ..... ۳۷
۲-۳-۴ معرفی چند فناوری نوین برای تولید زیست‌اتانول به روش تخمیر حالت جامد ..... ۴۱
۲-۴ باکتری *زیمومونَاس موبیلیس* ..... ۴۳
۲-۴-۱ مسیر انتنر-دودورف ..... ۴۵
۲-۵ مدل‌سازی در فرآیند تخمیر حالت جامد ..... ۴۶
۲-۵-۱ مدل‌های سینتیک رشد ..... ۴۷
۲-۵-۲ مدل های رشد استوکیومتری ..... ۵۰
۲-۵-۳ مدل سازی تولید محصول ..... ۵۱
**فصل سوم: مواد، تجهیزات و روش‌ها ..... ۵۵**
۳-۱ مواد شیمیایی و زیست شیمیایی به کار رفته ..... ۵۵
۳-۲ ریزاندامگان و تهیه مایه تلقیح ..... ۵۷
۳-۲-۱ شمارش سلولی ..... ۵۸
۳-۳ رشد مایه ..... ۵۸
۳-۴ تخمیر حالت جامد درون ارلن ..... ۵۹
۳-۴-۱ اندازه‌گیری رطوبت رشدمایه ..... ۶۰
۳-۴-۲ اندازه‌گیری pH رشدمایه جامد ..... ۶۰
۳-۵ غربال‌گری عوامل به روش پلاکت-برمن ..... ۶۰
۳-۶ بهینه‌سازی فرآیند به روش سطح پاسخ ..... ۶۱

۳-۷ روش سنجش اتانول ..... ۶۲
۳-۸ روش سنجش قند کل ..... ۶۳
۳-۹ اندازه‌گیری زیست توده ..... ۶۴
۳-۱۰ اندازه‌گیری میزان کاهش جرم رشدمایه جامد ..... ۶۵
۳-۱۱ تخمیر حالت جامد در ستون بستر آکنده ..... ۶۵
۳-۱۲ تخمیر حالت جامد در زی‌واکنش‌گاه نیمه صنعتی زیموتیس ..... ۶۶
**فصل چهارم: نتایج و بحث ..... ۷۰**
۴-۱ منحنی رشد باکتری *زیمومونَاس موبیلیس* در محیط مایع ..... ۷۰
۴-۲ مشخصات ذرات کروب ..... ۷۱
۴-۳ آزمایش‌های اولیه ..... ۷۱
۴-۳-۱ آزمایش امکان‌سنجی ..... ۷۱
۴-۳-۲ بررسی درصد مقدار سبوس افزوده شده ..... ۷۲
۴-۳-۳ حدود بالا و پایین عوامل مؤثر ..... ۷۳
۴-۴ غربال‌گری عوامل مؤثر به روش پلاکت-برمن ..... ۷۵
۴-۵ بهینه‌سازی فرآیند با کمک روش سطح پاسخ ..... ۷۸
۴-۵-۱ به دست آوردن نقطه بهینه ..... ۸۶
۴-۵-۲ منحنی تغییرات اتانول، قند کل و توده زیستی در طول تخمیر ..... ۸۷
۴-۶ تخمیر حالت جامد در ستون بستر آکنده ..... ۹۱
۴-۶-۱ اثر دمای کاری ستون بر تولید اتانول ..... ۹۱
۴-۶-۲ اثر هوادهی پیوسته بر تولید اتانول ..... ۹۴
۴-۶-۳ اثر اندازه ذرات کروب ..... ۹۵
۴-۶-۴ اثر هوادهی به صورت متناوب ..... ۹۶
۴-۶-۵ میزان تولید اتانول در ارتفاع‌های مختلف بستر آکنده ..... ۹۸

۴-۷ آزمایش‌های درون زی‌واکنش‌گاه زیموتیس ..... ۱۰۰
۴-۸ مدل‌سازی تولید اتانول در فرآیند تخمیر حالت جامد ..... ۱۰۳
۴-۸-۱ به کار گیری مدل رشد نمایی ..... ۱۰۶
۴-۸-۲ به کارگیری مدل رشد لجستیک ..... ۱۱۰
**فصل پنجم: نتیجه‌گیری و پیشنهادها ..... ۱۱۷**
۵-۱ نتیجه‌گیری ..... ۱۱۷
۵-۲ پیشنهادها ..... ۱۱۹
۵-۳ نوآوری و سهم پژوهش در تولید علم ..... ۱۲۰
**مراجع ..... ۱۲۱**

## فهرست علائم و نشانه‌ها

| | |
|---|---|
| میزان مصرف رشدمایه برای رشد سلولی | $(dS/dt)_G$ |
| میزان مصرف رشدمایه برای نگه‌داشت سلول | $(dS/dt)m$ |
| میزان مصرف رشدمایه برای تولید محصول | $(dS/dt)_P$ |
| شدت رشد ویژه باکتری | $\mu$ |
| وزن خشک سلولی | $B$ |
| وزن خشک اولیه سلولی | $B_0$ |
| ضرایب ثابت معادله لجستیک [معادله (۴-۲۳)] | $a$ و $B_m$ |
| ضریب ثابت معادله (۴-۱۸) | $C$ |
| ضریب ثابت معادله (۴-۷) (ضریب نگه‌داشت) | $m$ |
| وزن محصول | $P$ |
| وزن رشدمایه | $S$ |
| زمان | $t$ |
| وزن خشک محیط کشت جامد | $W$ |
| وزن خشک اولیه محیط کشت جامد | $W_0$ |
| ضریب ثابت معادله (۴-۵) (بازده تولید زیست توده) | $Y_G$ |
| ضریب ثابت معادله (۴-۶) (بازده تولید محصول) | $Y_P$ |
| ضرایب ثابت معادله لودکینگ-پیرت [معادله (۴-۸)] | $\alpha$ و $\beta$ |
| ضرایب معادله (۴-۹) | $\gamma$ و $\delta$ |
| ضریب ثابت معادله (۴-۱۶) | $\varepsilon$ |
| ضرایب ثابت معادله (۴-۲۸) | $\zeta$ و $\varphi$ |
| ضرایب ثابت معادله (۴-۲۴) | $\eta$ و $\lambda$ |

# فهرست جدول‌ها

جدول ۲-۱ میزان تولید زیست‌اتانول در قاره‌های مختلف جهان بر حسب میلیون لیتر ..... ۱۰
جدول ۲-۲ مزایا و معایب فرآیند تخمیر حالت جامد ..... ۱۹
جدول ۲-۳ برخی از کاربردهای فرآیند تخمیر حالت جامد در پیش‌تیمار و لیگنین زدایی مواد لیگنوسلولزی گوناگون ..... ۳۰
جدول ۲-۴ برخی ریزاندامگان‌ها و رشدمایه‌های به‌کار رفته برای تولید سلولاز در فرآیند تخمیر حالت جامد ..... ۳۲
جدول ۲-۵ برخی از ریزاندامگان‌ها و مواد خام به کار رفته برای تولید زیست‌اتانول به روش تخمیر حالت جامد ..... ۳۴
جدول ۲-۶ ترکیب درصد چند نمونه میوه کروب از نقاط گوناگون جهان ..... ۳۹
جدول ۲-۷ روابط تجربی به کار رفته برای رشد در تخمیر حالت جامد ..... ۴۸
جدول ۳-۱ مواد شیمیایی و زیست شیمیایی به کار رفته در آزمایش‌ها ..... ۵۵
جدول ۳-۲ تجهیزات به‌کار رفته در آزمایش‌ها ..... ۵۶
جدول ۴-۱ مقدار اتانول تولید شده (بر حسب گرم بر گرم قند اولیه) در درصدهای گوناگون سبوس گندم افزوده شده به رشدمایه ..... ۷۳
جدول ۴-۲ اثر pH اولیه رشدمایه جامد بر تولید اتانول (گرم بر گرم قند اولیه) ..... ۷۴
جدول ۴-۳ اثر غلظت‌های گوناگون پپتون و عصاره مخمر بر تولید اتانول (گرم بر گرم قند اولیه) .... ۷۵
جدول ۴-۴ عوامل مؤثر بر فرآیند و سطوح بالا و پایین برگزیده شده برای هر عامل در طراحی آزمایش پلاکت-برمن ..... ۷۵
جدول ۴-۵ پاسخ‌های به دست آمده از طراحی آزمایش‌های غربال‌گری به روش پلاکت-برمن ..... ۷۶
جدول ۴-۶ عوامل به کار رفته در بهینه سازی به روش سطح پاسخ و سطوح بالا و پایین هر عامل.. ۷۸
جدول ۴-۷ آزمایش‌های RSM طراحی شده و پاسخ به دست آمده برای هر آزمایش بر حسب گرم اتانول بر گرم قند اولیه ..... ۷۹
جدول ۴-۸ تحلیل واریانس آزمایش‌های بهینه‌سازی به روش سطح پاسخ طراحی مرکب مرکزی .... ۸۲

جدول ۴-۹ تحلیل واریانس آزمایش‌های بهینه‌سازی به روش سطح پاسخ در مدل ساده شده..... ۸۳
جدول ۴-۱۰ خلاصه نتایج به دست آمده از تخمیر حالت جامد ذرات کروب به وسیله *زیموموناس موبیلیس* برای تولید اتانول در شرایط بهینه در ارلن ..... ۸۸
جدول ۴-۱۱ مقایسه نتایج به دست آمده از این پژوهش با نتایج دیگر پژوهش‌ها بر روی کروب ..... ۹۰
جدول ۴-۱۲ برنامه‌های گوناگون هوادهی متناوب به کار رفته در ستون بستر آکنده و میزان اتانول تولیدی در هر برنامه ..... ۹۷
جدول ۴-۱۳ خلاصه‌ای از نتایج به دست آمده در ستون بستر آکنده ..... ۹۹
جدول ۴-۱۴ مقایسه ضرایب همبستگی به‌دست آمده برای مدل رشد نمایی و لجستیک برای پیش‌بینی عوامل مختلف ..... ۱۱۵

# فهرست شکل‌ها

شکل ۲-۱ نمایی از یک زی‌واکنش‌گاه بستر آکنده زیموتیس ..... ۲۷

شکل ۲-۲- تصویری از میوه گیاه کروب ..... ۳۸

شکل ۲-۳ شمایی از سامانه تخمیر حالت جامد پیوسته و ادغام شده: ۱) زی‌واکنش‌گاه استوانه‌ای دوار، ۲) مخلوط رشدمایه، زی‌مایه آبکافت کننده و مخمر، ۳) گرداننده، ۴) رطوبت‌زن، ۵) میعان کننده، ۶) انکوباتور، ۷) تنظیم کننده شدت جریان، ۸) پمپ، ۹) خروجی گاز ..... ۴۲

شکل ۲-۴ نمودار جریان فرآیند تخمیر حالت جامد پیش‌رفته برای تولید اتانول از سورگوم شیرین. ۴۳

شکل ۲-۵ مسیر انتنر-دودورف ..... ۴۶

شکل ۳-۱ منحنی استاندارد برای اندازه‌گیری غلظت اتانول با روش پتاسیم دی کرومات ..... ۶۳

شکل ۳-۲ منحنی استاندارد غلظت قند کل با چگالی نوری در روش DNS ..... ۶۴

شکل ۳-۳ نمای کلی از سامانه ستون بستر آکنده به کار رفته در آزمایش‌ها ..... ۶۶

شکل ۳-۴ نمایی از برش عرضی زی‌واکنش‌گاه زیموتیس از روبرو ..... ۶۷

شکل ۳-۵ نمای کلی فرآیند و سامانه رایانه‌ای ثبت داده‌ها در دستگاه زیموتیس: ۱) تنظیم کننده شدت جریان هوا، ۲) صافی برای زدودن آلودگی‌ها، ۳) رطوبت زن، ۴) حسگر رطوبت، ۵) زی‌واکنش‌گاه، ۶) حسگرهای دما، ۷) دستگاه سنجش گاز، ۸) رایانه ..... ۶۸

شکل ۴-۱ منحنی رشد باکتری در محیط کشت مایع ..... ۷۱

شکل ۴-۲ میزان اثر ۹ عامل گوناگون بر پاسخ در طراحی پلاکت-برمن ..... ۷۷

شکل ۴-۳ نمودار مقادیر واقعی در برابر مقادیر پیش‌بینی شده ..... ۸۳

شکل ۴-۴ اثر برهم‌کنش عوامل دما و اندازه ذرات کروب بر پاسخ (اتانول تولیدی) ..... ۸۴

شکل ۴-۵ اثر برهم‌کنش عوامل دما و غلظت محلول پپتون بر پاسخ (اتانول تولیدی) ..... ۸۵

شکل ۴-۶ اثر برهم‌کنش عوامل دما و مقدار مایه تلقیح بر پاسخ (اتانول تولیدی) ..... ۸۶

شکل ۴-۷ نمودار تغییرات اتانول تولیدی (♦) و قند کل (■) موجود در رشدمایه جامد در طول تخمیر حالت جامد در ارلن ..... ۸۸

شکل ۴-۸ منحنی رشد سلولی در طول تخمیر حالت جامد در ارلن ..... ۸۹

شکل ۴-۹ منحنی تغییرات وزن خشک رشدمایه جامد در طول تخمیر ..... ۸۹
شکل ۴-۱۰ اثر دمای کاری ستون بر تولید اتانول در درون بستر آکنده ..... ۹۲
شکل ۴-۱۱ نمودار تغییرات دمای پایین بستر جامد در طول تخمیر ..... ۹۳
شکل ۴-۱۲ منحنی تغییرات میزان اتانول تولیدی در ستون بستر آکنده ..... ۹۴
شکل ۴-۱۳ اثر اندازه ذرات کروب بر روی تولید اتانول در بستر آکنده ..... ۹۵
شکل ۴-۱۴ میزان اتانول تولید شده در نقاط مختلف ارتفاع ستون بستر آکنده ..... ۹۸
شکل ۴-۱۵ میزان رطوبت رشدمایه جامد در نقاط مختلف ارتفاع بستر آکنده ..... ۹۹
شکل ۴-۱۶ نمودار تغییرات دما در پایین بستر جامد زی‌واکنش‌گاه زیموتیس ..... ۱۰۱
شکل ۴-۱۷ نمودار تغییرات دما در میانه بستر جامد زی‌واکنش‌گاه زیموتیس ..... ۱۰۱
شکل ۴-۱۸ نمودار تغییرات دما در بالای بستر جامد زی‌واکنش‌گاه زیموتیس ..... ۱۰۲
شکل ۴-۱۹ نمودار میزان $CO_2$ موجود در گاز خروجی از سامانه زیموتیس همراه با هوادهی متناوب در ۱۵ ساعت دوم تخمیر ..... ۱۰۳
شکل ۴-۲۰ نمودار تغییرات وزن خشک محیط کشت جامد از داده‌های آزمایشگاهی و پیش‌بینی مدل نمایی ..... ۱۰۷
شکل ۴-۲۲ نمودار تغییرات اتانول تولیدی از داده‌های آزمایشگاهی و پیش‌بینی مدل نمایی ..... ۱۰۹
شکل ۴-۲۳ نمودار تغییرات وزن خشک محیط کشت جامد از داده‌های آزمایشگاهی و پیش‌بینی مدل لجستیک ..... ۱۱۲
شکل ۴-۲۴ نمودار تغییرات وزن خشک سلولی از داده‌های آزمایشگاهی و پیش‌بینی مدل لجستیک ..... ۱۱۳
شکل ۴-۲۵ نمودار تغییرات اتانول تولیدی از داده‌های آزمایشگاهی و پیش‌بینی مدل لجستیک ..... ۱۱۴

# فصل اول: مقدمه

## فصل اول: مقدمه

سوخت‌های فسیلی سالیان درازی است که به عنوان اصلی‌ترین منبع انرژی در جهان به‌کار می‌روند و پیش‌بینی می‌شود در سال‌های آینده نیز این جایگاه را حفظ کنند. ولی بهای این سوخت‌ها به ویژه نفت در سال‌های اخیر رو به افزایش است. برای نمونه بر پایه گزارش اداره اطلاعات انرژی آمریکا[1]، بهای نفت خام برنت[2] از هر بشکه ۲۵ دلار در سال ۲۰۰۲، به بشکه‌ای ۱۱۲ دلار در سال ۲۰۱۲ رسید [۱]. افزون بر افزایش بهای منابع رایج انرژی، در سال‌های اخیر با افزایش چشمگیر مصرف انرژی در جهان نیز روبرو هستیم. برخی گزارش‌ها پیش‌بینی می‌کنند که مصرف انرژی در جهان از سال ۲۰۰۸ تا ۲۰۳۵ به مقدار ۵۳٪ افزایش خواهد یافت [۲]. افزایش جمعیت جهان، سرعت رو به رشد صنعتی شدن کشورها به ویژه کشورهای رو به پیشرفت (مانند چین، هند، برزیل و غیره)، افزایش کیفیت زندگی انسان‌ها، نوسان‌های شدید در بهای نفت و نا آرامی‌های سیاسی و اجتماعی در کشورهای تولیدکننده نفت، عواملی هستند که سبب گرایش آدمی به منابع تازه انرژی شده‌اند. زیست‌اتانول[3]، زیست‌دیزل، متانول، هیدروژن و انرژی‌های خورشیدی، بادی و هسته‌ای از جمله این منابع انرژی جایگزین هستند [۳]. پیش‌بینی‌ها نشان می‌دهند که تولید سوخت‌های مایع غیر نفتی که در سال ۲۰۰۸ تنها ۳/۹ میلیون بشکه در روز

[1] US Energy Information Administration
[2] Brent
[3] Bioethanol

بوده است، در سال ۲۰۳۵ به ۱۳/۱ میلیون بشکه در روز خواهد رسید [۲]. این افزایش تولید نشان از توجه روزافزون به منابع تازه انرژی است.

در میان منابع نوین انرژی، سوخت‌های زیستی[1] به دلیل برتری‌هایی که دارند مورد توجه بسیاری قرار گرفته‌اند. انرژی سوخت‌های زیستی از کربن موجود در زیست توده‌های مختلف و از روش‌های گوناگونی به دست می‌آید که یکی از آن‌ها روش‌های زیستی است [۳]. چون انرژی سوخت‌های زیستی از دی‌اکسید کربن موجود در هوا به دست می‌آید، به‌کارگیری این نوع سوخت می‌تواند به کاهش تولید گازهای گلخانه‌ای[2] و جلوگیری از گرمایش زمین کمک کند. پیش‌بینی می‌شود انتشار دی‌اکسید کربن برآمده از منابع گوناگون انرژی در جهان از ۳۰/۲ میلیارد تن در سال ۲۰۰۸ به ۳۵/۲ میلیارد تن در سال ۲۰۲۰ و ۴۳/۲ میلیارد تن در سال ۲۰۳۵ برسد [۲]؛ بنابراین با افزایش آلودگی هوای جهان، به‌کارگیری منابع انرژی دوست‌دار محیط زیست مانند زیست‌اتانول ضروری به نظر می‌رسد. افزون بر این، تولید سوخت‌های زیستی به افزایش اشتغال در مناطق روستایی نیز کمک می‌کند. برای نمونه، در سال ۲۰۱۱ تعداد ۹۰۲۰۰ شغل به طور مستقیم و ۳۱۱۴۰۰ شغل به طور غیرمستقیم از صنعت تولید زیست‌اتانول در آمریکا برپا شده است [۲]. البته توان رقابت سوخت‌های زیستی با سوخت‌های رایج، بستگی به بهای نفت در جهان دارد. هنگامی که بهای نفت پایین باشد، تنها به‌کارگیری مواد خام بسیار ارزان و برخی از فناوری‌ها توجیه اقتصادی دارند.

زیست‌اتانول، زیست‌دیزل، زیست‌هیدروژن و زیست‌گاز از مهم‌ترین سوخت‌های زیستی هستند. زیست‌اتانول، الکلی است که از تخمیر کربوهیدرات‌های موجود در فرآورده‌های گوناگون مانند نیشکر و ذرت به دست می‌آید و به عنوان سوخت به ویژه برای حمل و نقل کاربرد فراوانی دارد. کشور برزیل از سال ۱۹۷۵ از زیست‌اتانول برای حمل و نقل استفاده می‌کند و هم اکنون به همراه ایالات متحده آمریکا بزرگ‌ترین تولید کننده آن در جهان است [۴]. زیست‌اتانول یک منبع انرژی تجدید پذیر است که با

[1] Biofuels
[2] Greenhouse Gases