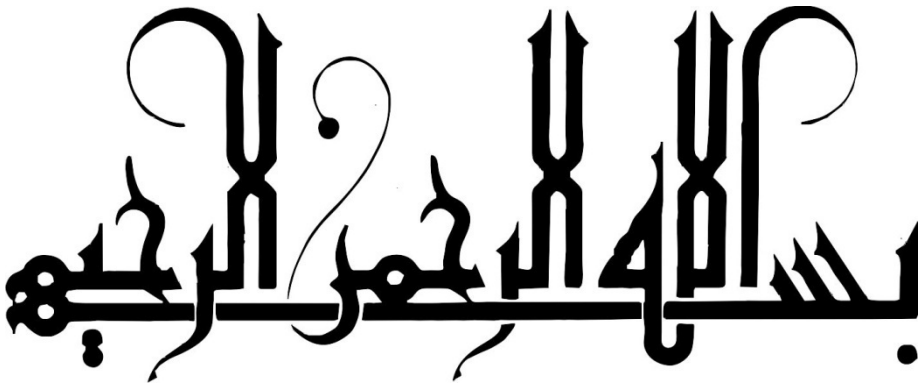

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده مهندسی شیمی

پیش‌فرآوری کاه برنج با استفاده از حلال‌های مختلف و بهبود بازده‌ی تولید اتانول از این ماده

پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهندسی شیمی

نفیسه پورنژاد

اساتید راهنما

دکتر کیخسرو کریمی

دکتر طیبه بهزاد

۱۳۹۰

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده مهندسی شیمی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته فرآیندهای جداسازی خانم نفیسه پورنژاد

تحت عنوان

پیش‌فرآوری کاه برنج با استفاده از حلال‌های مختلف و بهبود بازده‌ی تولید اتانول

در تاریخ ۱۳۹۰/۱۲/۱ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای اول پایان‌نامه	دکتر کیخسرو کریمی
۲- استاد راهنمای دوم پایان‌نامه	دکتر طیبه بهزاد
۳- استاد مشاور پایان‌نامه	دکتر محمد جعفر طاهرزاده
۴- استاد داور	دکتر حمید زیلویی
۵- استاد داور	دکتر اکرم زمانی
سرپرست تحصیلات تکمیلی	دکترحمید زیلویی

تشکر و قدردانی

سپاس خدایی را که از شدت حضور ناپیداست. او که اندیشه نیکو در دل نگاشت. او را می‌ستایم به خاطر لحظه لحظه حس بودنش در کنارم.

از همسر عزیز و مهربانم که همواره مایه‌ی آرامش من بوده و هست، سپاسگزارم.

از استاد ارجمندم جناب آقای کیخسرو کریمی که در تمام مراحل این پایان‌نامه صمیمانه همراه و راهنمای من بودند بسیار سپاسگزارم.

از استاد خوبم سرکار خانم دکتر طیبه بهزاد به خاطر راهنمایی‌های ارزشمند و بی دریغشان، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

بر خود لازم می‌دانم مراتب قدردانی خود را نسبت به جناب آقای دکتر حمید زیلویی و سرکار خانم اکرم زمانی که زحمت داوری این پایان نامه را پذیرفتند، سپاسگزاری کنم.

در نهایت از تمامی کسانی که در مراحل انجام این پایان‌نامه از کمک و راهنماییشان بهره بردم و مجالی برای ذکر نامشان نیست نهایت تشکر را دارم.

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوریهای ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامه (رساله) متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

که عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می‌گراید

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب.....هشت
فهرست جداول.....یازده
فهرست شکل‌ها.....دوازده
چکیده: ۱

فصل اول: مقدمه

فصل دوم: مطالعات مروری

۲-۱ اهمیت تولید اتانول ۵
۲-۲ روشهای مختلف تولید اتانول ۶
۲-۲-۱ روش سنتزی ۶
۲-۲-۲ روش تخمیری ۶
۲-۳ مواد لیگنوسلولزی ۸
۲-۳-۱ سلولز ۸
۲-۳-۲ همی سلولز ۹
۲-۳-۳ لیگنین ۹
۲-۴ پیش فرآوری ۱۰
۲-۴-۱ ویژگیهای یک پیش فرآوری موثر ۱۱
۲-۴-۲ فاکتورهای موثر در هیدرولیز آنزیمی مواد لیگنوسلولزی ۱۲
۲-۵ انواع روشهای پیش فرآوری ۱۴
۲-۵-۱ روشهای فیزیکی ۱۴
۲-۵-۲ روشهای فیزیکی-شیمیایی ۱۴
۲-۵-۳ روشهای شیمیایی ۱۶
۲-۵-۴ پیش فرآوری بیولوژیکی ۱۸
۲-۶ کاه برنج ۱۸
۲-۷ حلالهای سلولز ۱۸
۲-۷-۱ نرمال متیل مورفولین نرمال اکسید (**NMMO**) ۱۹
۲-۷-۲ مطالعات انجام شده برای پیش فرآوری با **NMMO** ۲۲

۲-۷-۳ مایعات یونی ۲۵
۲-۷-۴ مطالعات انجام شده برای پیشفرآوری با مایعات یونی ۲۶

فصل سوم: مواد و روشها

۳-۱ مواد مورد استفاده ۲۹
۳-۱-۱ کاه برنج ۲۹
۳-۱-۲ نرمال متیل مورفولین نرمال اکسید (**NMMO**) ۲۹
۳-۱-۳ مایعات یونی ۱-اتیل ۳-متیل ایمیدازولیوم استات و ۱-بوتیل ۳-متیل ایمیدازولیوم استات ۲۹
۳-۱-۴ آنزیم های مورد استفاده در هیدرولیز آنزیمی ۳۰
۳-۱-۵ مخمر استفاده شده در مرحله ی **SSF** ۳۰
۳-۱-۶ کیت گلوکز ۳۰
۳-۱-۷ سایر مواد مورد نیاز ۳۰
۳-۲ تجهیزات به کار رفته ۳۰
۳-۲-۱ حمام روغن ۳۳
۳-۲-۲ اتوکلاو ۳۰
۳-۲-۳ هود میکروبی ۳۱
۳-۲-۴ سانتریفوژ ۳۲
۳-۲-۵ شیکر انکوباتور ۳۳
۳-۲-۶ دستگاه کروماتوگرافی مایع با راندمان بالا (**HPLC**) ۳۴
۳-۲-۷ آون ۳۶
۳-۲-۸ کوره ۳۶
۳-۲-۹ پمپ خلا ۳۶
۳-۲-۱۰ دستگاه اسپکتروفوتومتری ۳۶
۳-۲-۱۱ **pH** متر ۳۶
۳-۲-۱۲ حمام آب ۳۶
۳-۳ روش انجام آزمایشات ۳۶
۳-۳-۱ تعیین وزن خشک کاه اولیه ۳۶
۳-۳-۲ عملیات پیش فرآوری ۳۶
۳-۳-۳- هیدرولیز آنزیمی ۳۷

۳-۳-۴ تعیین میزان قند مایع حاصل از هیدرولیز آنزیمی ۳۸
۳-۳-۵ تخمیر و هیدرولیز همزمان ۳۸
۳-۳-۶ آنالیز **NREL** برای تعیین هیدروکربناتهای موجود ۳۸

فصل چهارم: نتایج و بحث پیرامون آنها
۴-۱ مقدمه ۴۰
۴-۲ نتایج حاصل از هیدرولیز آنزیمی ۴۰
۴-۲-۱ میزان گلوکز تولیدی در مرحلهی هیدرولیز ۴۰
۴-۲-۲ بازده ی هیدرولیز آنزیمی ۴۳
۴-۲-۳ زایلوز تولید شده در مرحله ی هیدرولیز آنزیمی ۴۶
۴-۳ نتایج حاصل از تصاویر **SEM** ۵۱
۴-۴ نتایج حاصل از آنالیز **FTIR** ۵۶
۴-۴ نتایج حاصل از هیدرولیز و تخمیر همزمان ۵۸
۴-۵ نتایج حاصل از تست **NREL** ۶۰
۴-۶ نتایج حاصل از موازنه جرم حول مراحل پیشفرآوری، هیدرولیز آنزیمی و **SSF** ۶۲

فصل پنجم: نتیجه گیری و پیشنهادات ۶۴
۵-۱ مقدمه ۶۴
۵-۲ نتایج کلی حاصل از این تحقیق ۶۵
۵-۳ پیشنهادات ۶۶

مراجع ۶۷

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۴-۱: نتایج حاصل از آنالیز FTIR (جذب اندازه‌گیری شده در عدد موج‌های مشخص).....۵۷

جدول ۴-۲: شاخص بلورینگی برای نمونه‌های پیش‌فرآوری شده و پیش‌فرآوری نشده.....۵۷

جدول ۴-۳: نتایج حاصل از هیدرولیز و تخمیر همزمان.....۶۰

جدول ۴-۴: نتایج حاصل تست NREL.....۶۱

جدول ۴-۵: نتایج حاصل از موازنه‌ی جرم حول مراحل پیش‌فرآوری، هیدرولیز آنزیمی و SSF.....۶۲

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل۲-۱: ساختار سلولز..... ۸

شکل۲-۲: ساختار همی‌سلولز..... ۹

شکل ۲-۳: ساختار لیگنین..... ۱۰

شکل۲-۴: ماده ی لیگنوسلولزی و تاثیر پیش فرآوری..... ۱۱

شکل ۲-۵: مراحل لازم برای تولید بیواتانول از لیگنوسلولزها..... ۱۲

شکل ۲-۶: دسته‌بندی حلال‌های سلولز..... ۱۹

شکل ۲-۷: ساختار مختلف NMMO..... ۲۰

شکل ۲-۸: نمودار تاثیر وجود آب بر انحلال‌پذیری سلولز در NMMO..... ۲۱

شکل ۲-۹:عکس های SEM چوب درخت کاج قبل (سمت چپ) و بعد (سمت راست) از پیش فرآوری با NMMO٪۸۳..... ۲۳

شکل ۳-۱: نمایی از دو دستگاه اتوکلاو..... ۳۱

شکل ۳-۲: نمایی از هود میکروبی..... ۳۲

شکل ۳-۳: نمایی از دستگاه سانتریفوژ..... ۳۳

شکل ۳-۴: نمایی از دستگاه شیکر انکوباتور..... ۳۴

شکل ۴-۱: غلظت گلوکز تولیدی در مرحله‌ی هیدرولیز آنزیمی نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با NMMO به مدت ۱، ۳ و ۵ ساعت و کاه پیش‌فرآوری نشده، پس از ۲۴ ساعت هیدرولیز (خاکستری تیره)، پس از ۷۲ ساعت هیدرولیز (خاکستری روشن)..... ۴۱

شکل ۴-۲: غلظت گلوکز تولیدی در مرحله‌ی هیدرولیز آنزیمی نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با [EMIM][OAC] به مدت ۱، ۳ و ۵ ساعت و کاه پیش‌فرآوری نشده، پس از ۲۴ ساعت هیدرولیز (خاکستری تیره)، پس از ۷۲ ساعت هیدرولیز (خاکستری روشن)..... ۴۲

شکل ۴-۳: غلظت گلوکز تولیدی در مرحله‌ی هیدرولیز آنزیمی نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با [BMIM][OAC] به مدت ۱، ۳ و۵ ساعت و کاه پیش‌فرآوری نشده، پس از ۲۴ ساعت هیدرولیز (خاکستری تیره)، پس از ۷۲ ساعت هیدرولیز (خاکستری روشن)..... ۴۳

شکل ۴-۴: بازده‌هیدرولیز نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با NMMO به مدت ۱، ۳ و ۵ ساعت و کاه پیش‌فرآوری نشده، پس از ۲۴ ساعت هیدرولیز (خاکستری تیره)، پس از ۷۲ ساعت هیدرولیز (خاکستری روشن)..... ۴۴

شکل ۴-۵: بازده‌هیدرولیز نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با [EMIM][OAC] به مدت ۱، ۳ و۵ ساعت و کاه پیش‌فرآوری نشده، پس از ۲۴ ساعت هیدرولیز (خاکستری تیره)، پس از ۷۲ ساعت هیدرولیز (خاکستری روشن)..... ۴۴

شکل ۴-۶: بازده‌هیدرولیز نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با [BMIM][OAC] به مدت ۱، ۳ و ۵ ساعت و کاه پیش‌فرآوری نشده، پس از ۲۴ ساعت هیدرولیز (خاکستری تیره)، پس از ۷۲ ساعت هیدرولیز (خاکستری روشن).....۴۵
شکل ۴-۷: بازده‌ی هیدرولیز پس از ۷۲ ساعت نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با NMMO، [EMIM][OAc] و [BMIM][OAc] به مدت ۳ ساعت و ماه پیش‌فرآوری نشده.....۴۶
شکل ۴-۸: غلظت زایلوز تولیدی در مرحله‌ی هیدرولیز آنزیمی نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با حلال NMMO و کاه پیش‌فرآوری نشده، ۵ ساعت پیش‌فرآوری شده (Δ)، ۳ ساعت پیش‌فرآوری (□)، ۱ ساعت پیش‌فرآوری (◊) و کاه پیش-فرآوری نشده (×).....۴۷
شکل ۴-۹: غلظت زایلوز تولیدی در مرحله‌ی هیدرولیز آنزیمی نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با [EMIM][OAC] و کاه پیش‌فرآوری نشده، ۵ ساعت پیش‌فرآوری شده (Δ)، ۳ ساعت پیش‌فرآوری (□)، ۱ ساعت پیش‌فرآوری (◊) و کاه پیش-فرآوری نشده (×).....۴۷
شکل ۴-۱۰: غلظت زایلوز تولیدی در مرحله‌ی هیدرولیز آنزیمی نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با [BMIM][OAC] و کاه پیش‌فرآوری نشده، ۵ ساعت پیش‌فرآوری شده (Δ)، ۳ ساعت پیش‌فرآوری (□)، ۱ ساعت پیش‌فرآوری (◊) و کاه پیش-فرآوری نشده (×).....۴۸
شکل ۴-۱۱: بازده‌ی زایلوز در مرحله‌ی هیدرولیز آنزیمی نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با NMMO و کاه پیش‌فرآوری نشده، ۵ ساعت پیش‌فرآوری شده (Δ)، ۳ ساعت پیش‌فرآوری (□)، ۱ ساعت پیش‌فرآوری (◊) و کاه پیش-فرآوری نشده (×).....۴۹
شکل ۴-۱۲: بازده‌ی زایلوز در مرحله‌ی هیدرولیز آنزیمی نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با [EMIM][OAC] و کاه پیش-فرآوری نشده، ۵ ساعت پیش‌فرآوری شده (Δ)، ۳ ساعت پیش‌فرآوری (□)، ۱ ساعت پیش‌فرآوری (◊) و کاه پیش-فرآوری نشده (×).....۴۹
شکل ۴-۱۳: بازده‌ی زایلوز در مرحله‌ی هیدرولیز آنزیمی نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با [BMIM][OAC] و کاه پیش-فرآوری نشده، ۵ ساعت پیش‌فرآوری شده (Δ)، ۳ ساعت پیش‌فرآوری (□)، ۱ ساعت پیش‌فرآوری (◊) و کاه پیش-فرآوری نشده (×).....۵۰
شکل ۴-۱۴: تصاویر SEM از نمونه کاه پیش‌فرآوری نشده، (الف) با بزرگنمایی ۵۰، (ب) با بزرگنمایی ۲۵۰، (ج) با بزرگنمایی ۱۵۰۰.....۵۲
شکل ۴-۱۵: تصاویر SEM از نمونه کاه پیش‌فرآوری شده باNMMO به مدت ۵ ساعت ، (الف) با بزرگنمایی ۵۰، (ب) با بزرگنمایی ۲۵۰، (ج) با بزرگنمایی ۱۵۰۰.....۵۳
شکل ۴-۱۶ : تصاویر SEM از نمونه کاه پیش‌فرآوری شده با[EMIM][OAC] به مدت ۵ ساعت، (الف) با بزرگنمایی ۵۰، (ب) با بزرگنمایی ۲۵۰، (ج) با بزرگنمایی ۱۵۰۰.....۵۴

شکل ۴-۱۷: تصاویر SEM از نمونه کاه پیش‌فرآوری شده با [BMIM][OAC] به مدت ۵ ساعت، (الف) با بزرگنمایی ۵۰، (ب) با بزرگنمایی ۲۵۰، (ج) با بزرگنمایی ۱۵۰۰.....۵۵
شکل ۴-۱۸: نمودار جذب بر حسب عدد موج حاصل از آنالیز FTIR نمونه‌های (۱) کاه، (۲) پیش‌فرآوری شده با [BMIM][OAc]، (۳) پیش‌فرآوری شده با [EMIM][OAc] و (۴) پیش‌فرآوری شده با NMMO.....۵۶
شکل ۴-۱۹: غلظت اتانول تولیدی پس از ۴۸ ساعت هیدرولیز و تخمیر همزمان نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با NMMO، [EMIM][OAc] و [BMIM][OAc] به مدت ۵ ساعت و کاه پیش‌فرآوری نشده.....۵۹

چکیده:

امروزه مواد لیگنوسلولزی به عنوان منابع دردسترس و ارزان برای تولید بیوسوخت‌های تجدیدپذیر مورد توجه محققان قرار گرفته‌اند. مواد لیگنوسلولزی در دیواره‌ی سلولی گیاهان وجود دارند و حاوی سه پلیمر عمده‌ی سلولز، همی‌سلولز و لیگنین هستند. سلولز موجود در این مواد قابل تبدیل به گلوکز و سپس اتانول است. به دلیل ساختار پیچیده و به هم فشرده‌ی این مواد، ارگانیسم‌های تخریب‌کننده قادر به تخریب این مواد با بازده‌ی بالا نیستند و به همین علت یک مرحله پیش‌فرآوری به منظور شکست این ساختار مورد نیاز است. کاه برنج یکی از مواد لیگنوسلولزی که سالانه به میزان بیش از ۹۵۰ میلیون تن در جهان تولید می‌شود. در این تحقیق به منظور بهبود بازده‌ی هیدولیز و تولید اتانول از کاه برنج، پیش‌فرآوری شیمیایی این ماده با استفاده از سه حلال آلی نرمال متیل مورفولین نرمال اکسید (NMMO)، ۱-اتیل ۳-متیل ایمیدازولیوم استات ([EMIM][OAc]) و ۱-بوتیل ۳-متیل ایمیدازولیوم استات ([BMIM][OAc]) انجام شد. نرمال متیل مورفولین نرمال اکسید یک حلال صنعتی برای سلولز است که هم اکنون در صنعت فیبرسازی در فرآیند لایوسل استفاده می‌شود. مایعات یونی در واقع نمک‌هایی با دمای ذوب پایین هستند و معمولاً در دمای محیط مایعاتی ویسکوز هستند. عملیات پیش‌فرآوری در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد، با ۵٪ وزنی کاه و به مدت ۱، ۳ و ۵ ساعت صورت گرفت. برای بررسی تاثیر پیش‌فرآوری، هیدرولیز آنزیمی نمونه‌های کاه پیش‌فرآوری شده و کاه اولیه در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد در شیکری با سرعت ۱۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۷۲ ساعت انجام شد. ۲۰ FPU آنزیم سلولاز و ۳۰ IU آنزیم بتاگلوکوسیداز به ازای هر گرم سوبسترا در مرحله‌ی هیدرولیز استفاده شد. قند حاصل با استفاده از کیت گلوکز اندازه‌گیری شد. همچنین فرآیند هیدرولیز و تخمیر همزمان (Simultaneous Saccharification and Fermentation) نمونه‌های پیش-فرآوری شده با استفاده از مخمر ساکارومایسیس سرویسیه و آنزیم‌های سلولاز و بتاگلوکوسیداز در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با سرعت ۸۰ دور بر دقیقه برای تولید بیواتانول انجام شد. میزان اتانول تولیدی با استفاده از دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از هیدرولیز نشان می‌دهد گلوکان موجود در نمونه‌های پیش‌فرآوری شده تقریباً به طور کامل به گلوکز تبدیل شده است. بازده‌ی هیدرولیز برای کلیه‌ی نمونه‌های پیش‌فرآوری شده بیشتر از ۹۶٪ است در حالیکه این درصد برای نمونه کاه پیش‌فرآوری نشده تنها ۲۷/۷٪ است. بازده‌ی تولید اتانول نسبت به بازده‌ی تئوری در مرحله‌ی هیدرولیز و تخمیر همزمان از ۳۵/۴٪ برای کاه پیش‌فرآوری نشده تا ۹۳/۳٪ برای نمونه‌ی ۵ ساعت پیش‌فرآوری شده با NMMO و ۷۹/۷٪ برای نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با هر دو مایع یونی افزایش یافته است. نتایج حاصل از تست FTIR نمونه کاه پیش‌فرآوری نشده و سه نمونه‌ی پیش‌فرآوری شده با حلال‌های مورد استفاده به مدت ۵ ساعت نشان‌دهنده‌ی کاهش شاخص بلورینگی برای تمامی نمونه‌های پیش‌فرآوری شده است. این شاخص برای کاه اولیه برابر ۰/۴۶ بوده در حالیکه این مقدار برای نمونه‌های پیش‌فرآوری شده تا ۰/۳۷ هم کاهش پیدا کرده است. تصاویر SEM تهیه شده از نمونه‌های گفته شده حاکی از درهم شکستن شدید ساختار کاه بر اثر پیش‌فرآوری است. مهم‌ترین عامل در ایجاد بهبودهای به دست آمده کاهش میزان بلورینگی و در هم ریختن ساختار است. نرمال متیل موفورفولین نرمال اکسید از لحاظ میزان تولید اتانول به ازای کاه اولیه، در میان حلال‌های مورد استفاده بهترین عملکرد را داشته است.

کلید واژه: پیش‌فرآوری، کاه برنج، مواد لیگنوسلولزی، مایع یونی، نرمال متیل مورفولین نرمال اکسید

فصل اول: مقدمه

در سالهای اخیر توجه به منابع تجدیدپذیر برای تولید سوختهای جایگزین سوختهای فسیلی بیشتر شده است. از جمله دلایل آن می‌توان به رشد میزان مصرف انرژی که نتیجه‌ی صنعتی‌تر شدن کشورهاست، محدود بودن منابع فسیلی، تولید گازهای گلخانه‌ای حاصل از سوخت‌های فسیلی و تاثیر این گازها بر روی هوای کره زمین اشاره کرد. از آنجایی که پرمصرف‌ترین منبع فسیلی، نفت است و بیشتر برای حمل ونقل از آن استفاده می‌شود، تولید یک سوخت مایع تجدیدپذیر اقتصادی در اولویت تحقیقاتی بسیاری از کشورها قرار گرفته است. برای برآورده شدن این هدف، منابع بیولوژیکی تنها منابع تجدیدپذیر هستند که قابلیت تولید چنین ماده‌ای را دارند [۱].

در حال حاضر تولید بیوسوخت‌ها در جهان عمدتاً با استفاده از منابع نشاسته‌ای (مانند ذرت) و منابع قندی (مانند نیشکر و چغندر قند) می‌باشد. این امر باعث شده که مباحث زیادی بر سر تداخل منابع غذایی و منابع سوختی ایجاد شود. به همین دلیل محققان در پی یافتن منابع دیگری هستند که تداخلی با منابع غذایی نداشته باشد [۲].

تولید مواد زاید بخش انکار ناپذیر جوامع بشری است. مواد زاید از منابع مختلفی نظیر جنگل‌ها، صنایع، مزارع و منابع شهری تولید می‌شود. این مواد زاید و چگونگی دفع این مواد از مشکلات مهم زیست محیطی است که امروزه جوامع بشری با آن روبروست [۳].

استفاده از مواد لیگنوسلولزی[1] (که عمده‌ی مواد زاید گیاهی را تشکیل می‌دهد) برای تولید بیوسوخت‌های مورد نظر، می‌تواند راه حلی برای مشکلات ذکر شده باشد.

واژه‌ی لیگنوسلولز به موادی اطلاق می‌شود که شامل سلولز[2] (۳۰-۵۰٪)، همی‌سلولز[3] (۱۵-۳۰٪) و لیگنین[4] (۱۰-۳۰٪) می‌باشند. به دلیل ساختار پیچیده و تداخلی که این سه جزء با یکدیگر دارند، دیواره‌ی سلولی معمولاً در برابر تخریب بیولوژیکی پایدار است و نمی‌توان به راحتی به سلولز موجود در این ترکیبات دسترسی یافت. بنابراین برای تبدیل بهتر ماده‌ی لیگنوسلولزی به اتانول، فرآیندی با چهار مرحله‌ی اساسی پیشنهاد می‌شود: پیش‌فرآوری[5]، هیدرولیز، تخمیر[6] و در نهایت جداسازی و خالص‌سازی اتانول تولید شده. بسته به نوع سوبسترا و روش استفاده، یک مرحله پیش-فرآوری می‌تواند سرعت هیدرولیز را ۳ تا ۱۰ برابر افزایش دهد. برخی از مدل‌های اقتصادی مرحله‌ی پیش‌فرآوری را به عنوان یک واحد عملیاتی اساسی در استفاده از مواد لیگنوسلولزی در نظر گرفته و سهم آن را حدود ۱۶ – ۱۹٪ از سرمایه‌گذاری اولیه تخمین می‌زنند. بنابراین بهبود روش‌های پیش‌فرآوری و کاهش هزینه‌های این مرحله می‌تواند در بازده‌ی کل فرآیند موثر باشد [۴].

روش‌های مختلفی برای پیش‌فرآوری مواد لیگنوسلولزی وجود دارد که به چهار دسته‌ی عمده‌ی فیزیکی، شیمیایی، فیزیکی-شیمیایی و بیولوژیکی تقسیم می‌شوند [۱, ۳-۵]. هر کدام از این روش‌ها معایب و مزایایی دارند که با توجه به نوع سوبسترا و شرایط مورد نظر یک روش و حتی گاهی ترکیبی از روش‌ها برای یک پیش‌فرآوری موثر انتخاب می‌شود.

کاه برنج یک ماده‌ی لیگنوسلولزی است که سالیانه در سرتاسر جهان تولید می‌شود. امروزه متداول‌ترین روش برای از بین بردن این ماده سوزاندن در مزارع کشاورزی است که علاوه بر ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی مانع استفاده‌ی بهینه از این ماده است [۶]. مطالعات زیادی برای استفاده از این ماده در تولید اتانول و بیوگاز صورت گرفته است [۷-۱۵].

یکی از روش‌های موثر در پیش‌فرآوری مواد لیگنوسلولزی استفاده از حلال‌های سلولز است. مکانیسم عملکرد این روش معمولاً بدین صورت است که در شرایط معینی تمامی اجزای ماده لیگنوسلولزی در یک حلال حل می‌شوند و سپس با افزودن یک ضدحلال[7] تمامی مواد یا برخی از اجزا ته‌نشین و پس از شستشو بازیابی می‌شوند. در مورد حلال-هایی که پس از افزودن ضدحلال تمام اجزا بازیابی می‌شوند، هیدرولیز تنها به دلیل در هم شکستن ساختار محکم ماده-ی لیگنوسلولزی بهبود می‌یابد. در حالیکه در مواردی که برخی از اجزا به صورت محلول باقی می‌مانند علاوه بر درهم-ریختن ساختار، حذف برخی مواد ممانعت‌کننده هم موجب بهبود عملکرد آنزیم‌ها می‌شود [۱].

---

[1] Lignocellulosic materials
[2] Cellulose
[3] Hemicellulose
[4] Lignin
[5] Pretreatment
[6] Fermentation
[7] Anti-solvent

نرمال متیل مورفولین نرمال اکسید[1] (NMMO) از حلال‌های صنعتی سلولز است که بدون ایجاد تغییر در ترکیب درصد اجزای مختلف ماده و تنها با شکست نیروهای بین‌مولکولی، سلولز را در خود حل می‌کند. NMMO یک حلال مستقیم برای سلولز محسوب می‌شود که امروزه در فرآیند صنعتی لایوسل[2] مورد استفاده قرار می‌گیرد. این فرآیند یک فرآیند مدرن و سازگار با محیط زیست برای تولید فیبر است که در آن با استفاده از NMMO سلولز حل می‌شود. این حلال هیچ ماده‌ی سمی ایجاد نکرده و بیشتر از ۹۸٪ قابل بازیابی است. پس از پایان مرحله‌ی انحلال با افزودن یک ضد حلال نظیر آب، اتانول یا استون، مواد حل شده ته‌نشین می‌شود. انحلال در NMMO موجب تغییر در ساختار کریستالی سلولز می‌شود. این ماده می‌تواند برای پیش‌فرآوری مواد لیگنوسلولزی نیز مورد استفاده قرار گیرد [۱۶].

مایعات یونی[3] از جمله ۱-اتیل ۳-متیل ایمیدازولیوم استات[4] ([EMIM][OAc]) و ۱-بوتیل ۳-متیل ایمیدازولیوم استات[5] ([BMIM][OAc]) هم، به عنوان حلال‌های پلی‌ساکارید ها می توانند برای پیش‌فرآوری مواد لیگنوسلولزی به کار روند. مایعات یونی، نمک‌هایی با دمای ذوب کمتر از ۱۰۰ درجه سانتیگراد هستند که به دلیل قطبیت بالای کاتیون‌ها و آنیون‌های موجود در این مایعات، پیوندهای قوی هیدروژنی بین ماکرومولکول‌های سلولز شکسته شده و این ماده در مایع یونی حل می‌شود [۱۷].

در این رساله در فصل دوم مقدمه‌ای بر اتانول، مواد لیگنوسلولزی و حلال‌های استفاده شده در این تحقیق ارائه می‌گردد. همچنین مطالعه‌ای مروری بر روی تحقیقات انجام شده در زمینه‌های مشابه انجام شده است.

در فصل سوم کلیه‌ی مواد استفاده شده و روش انجام مراحل مختلف آزمایشات توضیح داده شده است.

فصل چهارم و پنجم گزارشی از نتایج به دست آمده در این تحقیق و همچنین مقایسه‌ی نتایج با مطالعات دیگر محققان ارائه گردیده است.

در این تحقیق از کاه برنج به عنوان سوبسترا استفاده شده است. برای بررسی اثر حلال‌های مختلف بر روی کاه، از NMMO، [EMIM][OAc] و [BMIM][OAc] در مرحله‌ی پیش‌فرآوری استفاده شده است. پس از پیش‌فرآوری کاه برنج در شرایط مختلف، هیدرولیز آنزیمی و تخمیر کلیه‌ی نمونه‌ها انجام شده و تغییرات ایجاد شده در کاه برنج در اثر پیش‌فرآوری با تست‌های FTIR[6] و NREL[7] بررسی شده و نتایج در ادامه ذکر شده است.

با توجه به اطلاعات موجود، تاکنون تاثیر حلال‌های گفته شده بر کاه برنج بررسی نشده است. همچنین مطالعه‌ای در مورد مقایسه‌ی این سه حلال در مرحله‌ی پیش‌فرآوری صورت نگرفته است..

---

[1] *N*-methyl morpholine *N*-oxide
[2] Lyocell
[3] Ionic liquid
[4] 1-ethyl 3-methyl imidazolium acetate
[5] 1-buthyl 3-methyl imidazolium acetate
[6] Fuoirer Transform Infrared Spectroscopy
[7] National Renewable Energy Labarotory

فصل دوم: مطالعات مروری

۲-۱ اهمیت تولید اتانول

همراه با رشد جمعیت در جهان و صنعتی‌تر شدن کشورها مصرف انرژی روزبه‌روز در حال افزایش است. نفت خام تنها منبع دردسترس برای تامین انرژی این جمعیت انبوه می‌باشد. کامپل و لاهرر[1] در سال ۱۹۹۸ از روش‌های مختلفی برای تخمین میزان نفت موجود در جهان استفاده کردند. طی مطالعات این دو محقق روشن شد که کاهش تولید نفت خام قبل از سال ۲۰۱۰ شروع می‌شود و همچنین پیش‌بینی نمودند که تولید سالانه‌ی نفت خام از ۲۵ بیلیون بشکه در سال ۱۹۹۸ به ۵ بیلیون بشکه در سال ۲۰۵۰ کاهش خواهد یافت. از آنجایی که اقتصاد بسیاری از کشورهای جهان به نفت وابسته است، اثرات کاهش تولید این ماده‌ی باارزش بسیار جدی خواهد بود. بنابراین توجه زیادی به سمت استفاده از منابع جایگزین جلب شده است [۱۸]. از آنجایی که پر مصرف‌ترین منبع فسیلی، نفت است و بیشتر برای حمل ونقل از آن استفاده می‌شود، تولید یک سوخت مایع تجدیدپذیر اقتصادی در اولویت تحقیقاتی بسیاری از کشورها قرار گرفته است [۴].

با توجه به کاهش منابع در دسترس فسیلی و افزایش آلودگی هوای کره زمین، اهمیت تولید اتانول به عنوان یک سوخت تمیز و سالم افزایش یافته است [۱۹]. بر خلاف سوخت‌های فسیلی، اتانول یک منبع انرژی تجدیدپذیر است. اتانول به طور وسیع همراه با بنزین در آمریکا استفاده می‌شود. سوخت‌های بنزینی مخلوط حاوی ۱۰٪ حجمی اتانول هستند. استفاده از سوخت‌های ترکیبی اتانول و بنزین در خودروها می تواند مصرف بنزین را تا حد زیادی کاهش دهد

[1] Campbell and Laherrere

و انتشار گازهای گلخانه‌ای را نیز تا حد قابل قبولی پایین بیاورد . همچنین اتانول می‌تواند جایگزین سالمی برای متیل ترشیری بوتیل اتر (MTBE) باشد. MTBE یک ماده‌ی سمی است که برای بالا بردن عدد اکتان بنزین به آن افزوده می‌شود و باعث آلودگی آب‌های زیرزمینی می‌شود [۱۸].

اتانول یک سوخت اکسیژن‌دار است که شامل ۳۵ ٪ اکسیژن می‌باشد و انتشار ذرات و NO_x حاصل از احتراق در بنزین را کاهش می‌دهد. به دلیل عدد اکتان بالا (۱۰۸) و اکسیژن موجود در اتانول، راندمان احتراق بنزین افزایش می-یابد [۲۰-۲۲]. علاوه بر این، اتانول می‌تواند نسبت به سوخت‌های معمولی قدرت بیشتری تولید کند و دلیل اصلی این عملکرد، وجود اتم اکسیژن اضافی است. اتم اکسیژن به مولکول اتانول می‌چسبد و باعث می‌شود جریان سوخت در سیلندر کارآمدتر از دیگر سوخت‌ها باشد. در ضمن عملکرد این سوخت به نحوی است که در سرمای شدید نیز هیچگونه مشکلی برای خودرو ایجاد نمی‌کند [۲۳].

۲-۲ روش‌های مختلف تولید اتانول

اتانول به دو طریق سنتزی و تخمیری تولید می‌شود [۲۴].

۲-۲-۱ روش سنتزی

اتانول سنتزی از دو طریق هیدراسیون مستقیم و غیر مستقیم اتیلن به دست می‌آید.

در روش غیر مستقیم ابتدا خوراک هیدروکربنی غنی از اتیلن در معرض اسید سولفوریک قرار می‌گیرد. گاز اتیلن و اسید سولفوریک غلیظ وارد برج‌های جذب شده و واکنش استری شدن صورت می‌گیرد.

$$CH_2 = CH_2 + H_2SO_4 \leftrightarrow SO_4H(C_2H_5) \qquad (۲-۱)$$

$$SO_4H(C_2H_5) + CH_2O = CH_2O \leftrightarrow SO_4(C_2H_5)_2 \qquad (۲-۲)$$

محصولات حاصل از این برج جذب با آب وارد واکنش شده و طی عملیات هیدرولیز اتانول تولید می‌شود.

$$SO_4H(C_2H_5) + SO_4(C_2H_5)_2 + 3H_2O \leftrightarrow 2H_2SO_4 + 3C_2H_5OH \qquad (۲-۳)$$

در روش مستقیم جریان گاز غنی از هیدروژن در تماس مستقیم با آب قرار گرفته و پس از عبور از کاتالیست اتانول تولید می‌شود [۲۴].

$$CH_2 = CH_2 + H_2O \xrightarrow[catalyst]{H_3PO_4(H_2SO_4)} C_2H_5OH \qquad (۲-۴)$$

۲-۲-۲ روش تخمیری

اتانول از لحاظ حجم و بازار تولید مهم‌ترین محصول بیوتکنولوژی است. امروزه به دلایل زیست‌محیطی توجه بیشتر به سمت تولید تخمیری است. اتانول تخمیری می‌تواند از سه نوع ماده ی اولیه تهیه شود [۲۴].

- مواد قندی، مانند شیره نیشکر، شیره سورگوم و ملاس
- مواد نشاسته‌ای، نظیر ذرت، سیب زمینی و گندم

- مواد سلولزی، نظیر چوب و ضایعات کشاورزی

برای تولید اتانول از این مواد اولیه ابتدا لازم است در مرحله‌ی هیدرولیز قندهای موجود جداسازی شود و سپس در مرحله‌ی تخمیر این قندها به اتانول تبدیل شوند.

✓ هیدرولیز

هیدرولیز مواد اولیه به دو صورت اسیدی و آنزیمی صورت می‌گیرد. از جمله مزایای هیدرولیز آنزیمی می‌توان به راحت‌تر بودن شرایط عملیاتی، بازده‌ی بالای هیدرولیز و عدم تولید محصولات جانبی ممانعت کننده در مراحل بعدی اشاره نمود. در عوض در هیدرولیز اسیدی سرعت انجام عملیات بسیار بالاتر است (۳۰ دقیقه تا ۱ ساعت در مقایسه با چند روز در هیدرولیز آنزیمی) و همچنین این روش نیاز به کاتالیست گرانقیمت ندارد [۲۵].

هیدرولیز آنزیمی سلولز و همی سلولز با آنزیم‌های انتخابگر سلولاز و همی سلولاز صورت می‌گیرد. این آنزیم ها معمولاً حاوی ۱۵ نوع پروتئین متفاوت هستند. تخریب سلولز به گلوکز توسط سه دسته کلی از آنزیم‌ها صورت می‌گیرد: آنزیم‌های اندوگلوکاناز[1]، اگزوگلوکاناز[2] و بتاگلوکوسیداز[3]. همه‌ی این آنزیم‌ها با هم سلولاز یا آنزیم‌های سلولولیتیک[4] نامیده می‌شوند. آنزیم‌های اندوگلوکاناز به قسمت آمورف سلولز حمله کرده و باعث شکست زنجیره‌های پایانی می‌شوند. آنزیم‌های اگزوگلوکاناز این زنجیره ها را تخریب و سلوبیوز (دیمر گلوکز) تولید می‌کند و در نهایت آنزیم‌های بتاگلوکوسیداز سلوبیوز را شکسته و مونومرهای گلوکز را ایجاد می‌کند [۲۵].

✓ تخمیر

میکروب‌شناسان صنعتی به هر فرآیندی که برای تولید محصولات مورد نظر از میکروارگانیسم‌ها استفاده شود، تخمیر می‌گویند [۲۵]. فرآیند تخمیر گلوکز به اتانول توسط میکروارگانیسم‌های متعددی صورت می‌گیرد. دسته‌ی وسیعی از باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها قادر به انجام این فرآیند هستند. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که مخمرها دارای بهترین عملکرد هستند و در میان مخمرها ساکارومایسیس سرویسیه[5] موثرترین نوع محسوب می‌شود [۲۶]. گلوکز، گالاکتوز، مانوز و سایر قندهای شش کربنه با ارگانیسم‌های طبیعی زیادی به اتانول تبدیل می‌شوند در حالی که ارگانیسم‌های اندکی می‌توانند قندهای پنج کربنه مانند زایلوز و آرابینوز را به اتانول تبدیل کنند [۱].

عملیات تخمیر و هیدرولیز به صورت‌های زیر می تواند انجام شود [۲۵]:

- هیدرولیز و تخمیر جداگانه[6] (SHF): در این روش عملیات هیدرولیز و تخمیر در دو مرحله‌ی جداگانه صورت می‌گیرد. مزیت این روش انجام هر کدام از این مراحل در شرایط بهینه است.

[1] Endo-glucanases
[2] Exo-glucanases
[3] β-glucosidases
[4] Cellulolytic
[5] *Saccharomyces cerevisiae*
[6] Separate enzymatic hydrolysis and fermentation