

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی « نوشیروانی » بابل

دانشکده مهندسی شیمی

عنوان

ترانس استریفیکاسیون آنزیمی روغن گیاهی کلزا جهت تولید بیودیزل

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد مهندسی شیمی

استاد راهنما:

پروفسور قاسم نجف پور

استاد مشاور:

دکتر سید علی اصغر قریشی

دانشجو:

مینا کیا کجوری

دی ماه ۹۲

## تشکر و قدردانی

پروردگارا سپاس بی کران به درگاه ملکوتیت که نعمت آموختن را به من ارزانی داشتی، خداوندا سالک راهت نوپاست، دستگیر تا باز نماند.

لازم می دانم از زحمات بی دریغ اساتید ارجمندم جناب آقای پروفیسور نجف پور و جناب آقای دکتر قریشی به پاس اینکه اینجانب را در طول انجام پایان نامه مورد لطف قرار داده و از راهنمایی های ارزشمند خویش بهره مند ساخته اند، تشکر و قدردانی کنم.

با سپاس بی دریغ خدمت دوستان و همکاران عزیزم خانم ها دکتر غزاله امینی، دکتر مریم نیکزاد، دکتر مائده محمدی، مهندس فاطمه بنی شیخ الاسلامی، هدی حیدری و به ویژه سرکار خانم مهندس فائزه سام خانیانی

و آقایان مهندس سید نیما بابازاده طبری، مهندس حمید حیدرزاده، مهندس حسین زارع، دکتر محسن قربانی و همه کسانی که به نوعی مرا در به انجام رساندن این مهم یاری نموده اند.

تقدیم به

دو وجود مقدس زندگیم

آنان که ناتوان شدند تا من به توانایی برسم

موهایشان سپید شد تا من روسفید شوم

و عاشقانه سوختند تا گرمابخش وجود من و روشنگر راهم باشند

پدر عزیزم

و مادر مهربانم

و همچنین برادرم، مهیار عزیز

به پاس قدردانی از همراهی همیشگی اش در طول دوران تحصیلم، عزیزم خوشبختیت منتهای آرزوی من است.

## چکیده

بیودیزل سوخت جایگزین در موتورهای دیزل می‌باشد که حاوی استرهای مونوآلکیل اسیدهای چرب با زنجیره بلند بوده که از ترانس استریفیکاسیون روغن‌های گیاهی یا چربی‌های حیوانی بدست می‌آید. فرایند ترانس استریفیکاسیون می‌تواند در حضور کاتالیست شیمیایی یا کاتالیست زیستی انجام شود. مصرف انرژی زیاد، دشواری بازیافت گلیسرول و حجم بالای فاضلاب‌های حاصل از خالص‌سازی بیودیزل از جمله معایب روش ترانس استریفیکاسیون شیمیایی می‌باشد. ترانس استریفیکاسیون آنزیمی روغن، جایگزین مناسبی برای حل مشکلات ناشی از ترانس استریفیکاسیون شیمیایی می‌باشد، از آنجاییکه در این فرایند بازیافت گلیسرول و خالص‌سازی سوخت به سهولت انجام می‌پذیرد. در دهه‌های اخیر، مطالعه در زمینه تولید بیودیزل به روش آنزیمی توجه بسیاری از محققان را به خود جلب نموده است. در این کار، ترانس استریفیکاسیون آنزیمی روغن کلزا با متانول در دو حالت لیپاز آزاد و تثبیت شده پورسین پانکراتیک در سیستم ناپیوسته انجام شد. تأثیر غلظت آنزیم، نسبت مولی متانول به روغن، محتوای آب، نوع حلال، نسبت حجمی ترشیو-بوتانول و دمای واکنش مورد مطالعه قرار گرفت. بیشترین میزان تبدیل متیل استر در ۶ درصد وزنی آنزیم، ۵ درصد حجمی آب، نسبت مولی ۹:۱ متانول به روغن در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت زمان ۷۲ ساعت بدست آمد که برابر با ۷۰/۳۲ درصد بود. به منظور شناسایی شرایط مناسب تولید بیودیزل از حلال‌های مختلف استفاده شد. بیشترین میزان متیل استر با استفاده از حلال نیمه قطبی ترشیو-بوتانول بدست آمد. لیپاز پورسین پانکراتیک توسط روش به دام اندازی در گوی‌های ژله‌ای کلسیم آلژینات تثبیت شد. شرایط تثبیت برای غلظت‌های سدیم آلژینات و کلسیم کلراید بهینه گردید. نتایج مطلوب در غلظت‌های ۲/۵ درصد وزنی محلول سدیم آلژینات و ۲ مولار محلول کلسیم کلراید بدست آمد. لیپاز تثبیت شده در واکنش متانولیز استفاده شد و بیشترین میزان تبدیل متیل استر در مدت ۴۸ ساعت، در ۱۲ درصد وزنی آنزیم و نسبت مولی ۱۲:۱ متانول به روغن در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد برابر با ۱۹/۸ درصد بود.

## واژه‌های کلیدی:

بیودیزل، ترانس استریفیکاسیون آنزیمی، روغن کلزا، ترشیو-بوتانول، لیپاز پورسین پانکراتیک.

## فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل ۱: مقدمه .....	۱
۱-۱- مقدمه .....	۱
۲-۱- تاریخچه استفاده از بیودیزل .....	۳
۳-۱- موضوع تحقیق و هدف از انجام آن .....	۵
فصل ۲: تعاریف و مروری بر مطالعات پیشین .....	۷
۱-۲- مقدمه .....	۷
۲-۲- بیودیزل و مزایای استفاده از آن به عنوان جایگزین سوخت‌های دیزلی .....	۷
۳-۲- منابع تولید سوخت بیودیزل .....	۸
۴-۲- خواص سوختی بیودیزل .....	۱۱
۵-۲- قوانین و استانداردهای مربوط به خواص بیودیزل .....	۱۴
۶-۲- روش‌های تولید بیودیزل و مقایسه فرایندهای تولید .....	۱۵
۶-۲-۱- انواع روش‌های ترانس استریفیکاسیون .....	۱۷
۶-۲-۷- ترانس استریفیکاسیون آنزیمی .....	۱۹
۶-۲-۱-۷- مکانیسم واکنش ترانس استریفیکاسیون با استفاده از کاتالیزور آنزیمی .....	۱۹
۶-۲-۲- آنزیم لیپاز .....	۲۲
۶-۲-۳- ترانس استریفیکاسیون آنزیمی با استفاده از لیپاز .....	۲۴
۶-۲-۳-۱- تثبیت آنزیم لیپاز .....	۲۵
۸-۲- مروری بر مطالعات پیشین .....	۳۲
۸-۲-۱- لیپاز پورسین پانکراتیک .....	۳۵
۸-۲-۲- مطالعات انجام شده در زمینه بکارگیری لیپاز پورسین پانکراتیک در ترانس استریفیکاسیون آنزیمی .....	۳۶
۹-۲- نتیجه‌گیری .....	۳۶
فصل ۳: مواد و روش انجام تحقیق .....	۳۸

۳۸	..... ۱-۳-۱- مقدمه
۳۸	..... ۲-۳- تجهیزات مورد استفاده
۳۹	..... ۳-۳- مواد مورد استفاده، روش و آنالیزهای انجام شده
۳۹	..... ۱-۳-۳- متیلاسیون روغن
۳۹	..... ۱-۳-۳-۱- مواد مورد استفاده در متیلاسیون روغن جهت تعیین اسیدهای چرب موجود در آن
۳۹	..... ۲-۳-۳-۱- روش انجام متیله کردن روغن جهت تعیین اسیدهای چرب موجود در آن
۴۰	..... ۳-۳-۱-۳- تعیین جرم مولکولی متوسط روغن کلزا با شناسایی اسیدهای چرب موجود در آن
۴۱	..... ۲-۳-۳- تعیین عدد اسیدی روغن
۴۱	..... ۱-۲-۳-۳- مواد مورد استفاده جهت تعیین عدد اسیدی روغن
۴۱	..... ۲-۲-۳-۳- روش انجام تیتراسیون جهت تعیین عدد اسیدی روغن
۴۲	..... ۳-۲-۳-۳- تعیین عدد اسیدی و اسیدیته روغن
۴۳	..... ۳-۳-۳- ترانس استریفیکاسیون روغن گیاهی با لیپاز آزاد
۴۳	..... ۱-۳-۳-۳- مواد مورد استفاده در ترانس استریفیکاسیون روغن گیاهی با لیپاز آزاد
۴۳	..... ۲-۳-۳-۳- روش انجام آزمایش ترانس استریفیکاسیون روغن گیاهی با لیپاز آزاد
۴۷	..... ۴-۳-۳- سنجش میزان فعالیت آنزیم لیپاز
۴۷	..... ۱-۴-۳-۳- مواد مورد استفاده در سنجش میزان فعالیت آنزیم لیپاز
۴۷	..... ۲-۴-۳-۳- روش سنجش میزان فعالیت آنزیم لیپاز
۴۹	..... ۵-۳-۳- تثبیت لیپاز
۴۹	..... ۱-۵-۳-۳- مواد مورد استفاده در تثبیت لیپاز
۴۹	..... ۲-۵-۳-۳- روش تثبیت آنزیم لیپاز
۵۱	..... ۶-۳-۳- ترانس استریفیکاسیون روغن گیاهی با لیپاز تثبیت شده
۵۱	..... ۱-۶-۳-۳- مواد مورد استفاده در ترانس استریفیکاسیون روغن گیاهی با لیپاز تثبیت شده
۵۱	..... ۲-۶-۳-۳- روش انجام آزمایش ترانس استریفیکاسیون روغن کلزا با استفاده از لیپاز تثبیت شده
۵۳	..... ۷-۳-۳- سنجش میزان متیل استر
۵۳	..... ۱-۷-۳-۳- مواد مورد استفاده در سنجش میزان متیل استر
۵۴	..... ۲-۷-۳-۳- سنجش محتوای متیل استر تولید شده در فرایند ترانس استریفیکاسیون آنزیمی روغن کلزا

۵۷	۳-۷-۳- محاسبه محتوای متیل استر تولید شده در هر نمونه
۵۸	فصل ۴: بررسی و تحلیل نتایج
۵۸	۱-۴- مقدمه
۵۸	۲-۴- خصوصیات روغن کلزای مورد استفاده
۵۹	۳-۴- عدد اسیدی روغن کلزای مورد استفاده
۵۹	۴-۴- بهینه سازی واکنش ترانس استریفیکاسیون روغن کلزا با لیپاز آزاد
۵۹	۱-۴-۴- بررسی تأثیر مقدار آنزیم بر میزان تبدیل متیل استر تولید شده
۶۱	۲-۴-۴- بررسی تأثیر غلظت آب بر میزان تبدیل متیل استر تولید شده
۶۲	۳-۴-۴- بررسی نسبت مولی متانول به روغن بر میزان تبدیل متیل استر تولید شده
۶۴	۴-۴-۴- بررسی تأثیر دما بر میزان تبدیل متیل استر تولید شده
۶۵	۵-۴-۴- بررسی تأثیر حلال بر میزان تبدیل متیل استر تولید شده
۶۷	۶-۴-۴- بررسی اثر زمان انجام واکنش بر میزان تبدیل متیل استر تولید شده
۶۸	۵-۴-۵- منحنی استاندارد مربوط به سنجش فعالیت آنزیمی
۶۹	۶-۴-۶- تثبیت آنزیم لیپاز
۶۹	۱-۶-۴- بررسی تأثیر غلظت آلزینات سدیم بر میزان فعالیت آنزیمی لیپاز
۷۰	۲-۶-۴- بررسی تأثیر غلظت کلرید کلسیم بر میزان فعالیت آنزیمی لیپاز
۷۱	۷-۴-۷- بهینه سازی واکنش ترانس استریفیکاسیون روغن کلزا با لیپاز تثبیت شده
۷۱	۱-۷-۴- بررسی تأثیر مقدار آنزیم بر میزان تبدیل متیل استر تولید شده
۷۲	۲-۷-۴- بررسی نسبت مولی متانول به روغن بر میزان تبدیل متیل استر تولید شده
۷۳	۳-۷-۴- بررسی تأثیر دما بر میزان تبدیل متیل استر تولید شده
۷۴	۴-۷-۴- بررسی پایداری فعالیت آنزیمی لیپاز تثبیت شده بر میزان تبدیل متیل استر تولید شده
۷۵	۸-۴-۸- بررسی و مقایسه نتایج حاصل از ترانس استریفیکاسیون روغن کلزا با استفاده از آنزیم آزاد و تثبیت شده پورسین پانکراتیک
۷۹	فصل ۵: نتیجه گیری و پیشنهادات
۷۹	۱-۵-۱- نتیجه گیری
۸۱	۲-۵-۲- پیشنهادات
۸۳	پوست





## فهرست اشکال

### عنوان

### صفحه

- شکل (۱-۱) میزان توسعه جهانی تولید بیودیزل در سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۲۰ میلادی ..... ۲
- شکل (۱-۲) پیش بینی سهم هر یک از منابع در تولید بیودیزل تا سال ۲۰۲۰ میلادی ..... ۹
- شکل (۲-۲) معادله کلی ترانس استریفیکاسیون تری گلیسرید با الکل ..... ۱۷
- شکل (۳-۲) مکانیسم ترانس استریفیکاسیون با کاتالیست آنزیمی ..... ۲۱
- شکل (۴-۲) واکنش‌های کاتالیز شده توسط لیپاز ..... ۲۳
- شکل (۱-۳) نمایی از محصولات بدست آمده در پایان زمان واکنش ..... ۴۴
- شکل (۲-۳) تغییر رنگ نمونه حاوی لیپاز در محیط سوپسترا ..... ۴۸
- شکل (۳-۳) بیوکاتالیست لیپاز تثبیت شده در گوی‌های آلزینات کلسیم ..... ۵۰
- شکل (۴-۳) کروماتوگرام مربوط به محلول استاندارد ..... ۵۵
- شکل (۱-۴) تأثیر مقدار آنزیم بر میزان تبدیل متیل استر ..... ۶۰
- شکل (۲-۴) کروماتوگرام بدست آمده برای نمونه بیودیزل تولیدی ..... ۶۱
- شکل (۳-۴) تأثیر غلظت آب بر میزان تبدیل متیل استر ..... ۶۲
- شکل (۴-۴) تأثیر نسبت مولی متانول به روغن بر میزان تبدیل متیل استر ..... ۶۳
- شکل (۵-۴) تأثیر دما بر میزان تبدیل متیل استر ..... ۶۵
- شکل (۶-۴) تأثیر نوع حلال بر میزان تبدیل متیل استر ..... ۶۶
- شکل (۷-۴) تأثیر غلظت حلال بر میزان تبدیل متیل استر ..... ۶۷
- شکل (۸-۴) تأثیر زمان بر میزان تبدیل متیل استر ..... ۶۸
- شکل (۹-۴) منحنی استاندارد تراکم نوری پارانیتر و فنول در طول موج ۴۱۰ نانومتر ..... ۶۹
- شکل (۱۰-۴) بررسی تأثیر غلظت آلزینات سدیم بر میزان فعالیت آنزیمی لیپاز ..... ۷۰
- شکل (۱۱-۴) بررسی تأثیر غلظت کلرید کلسیم بر میزان فعالیت آنزیمی لیپاز ..... ۷۱
- شکل (۱۲-۴) تأثیر مقدار آنزیم بر میزان تبدیل متیل استر ..... ۷۲
- شکل (۱۳-۴) تأثیر نسبت مولی متانول به روغن بر میزان تبدیل متیل استر ..... ۷۳

- شکل (۴-۱۴) تأثیر دما بر میزان تبدیل متیل استر تولید شده..... ۷۴
- شکل (۴-۱۵) پایداری عملیاتی لیپاز تثبیت شده..... ۷۵
- شکل (۴-۱۶) تأثیر مقدار آنزیم بر میزان متیل استر در دو حالت لیپاز آزاد و تثبیت شده..... ۷۶
- شکل (۴-۱۷) تأثیر نسبت مولی متانول به روغن بر میزان متیل استر در دو حالت لیپاز آزاد و تثبیت شده..... ۷۶
- شکل (۴-۱۸) تأثیر دما بر میزان متیل استر در دو حالت لیپاز آزاد و تثبیت شده..... ۷۷

## فهرست جداول

عنوان

صفحه

- جدول (۱-۲) ساختار شیمیایی اسیدهای چرب متداول ..... ۱۰
- جدول (۲-۲) اسیدهای چرب موجود در روغن‌های گیاهی ..... ۱۱
- جدول (۳-۲) خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بیودیزل و سوخت دیزل ..... ۱۴
- جدول (۴-۲) مقایسه استانداردهای موجود در تولید بیودیزل ..... ۱۵
- جدول (۵-۲) منابع تولیدکننده آنزیم لیپاز ..... ۲۲
- جدول (۶-۲) نکات مهم برای انتخاب مناسب ماده نگاهدارنده و روش تثبیت ..... ۲۷
- جدول (۱-۳) مواد مورد استفاده در متیلاسیون روغن ..... ۳۹
- جدول (۲-۳) مواد مورد استفاده جهت تعیین عدد اسیدی روغن ..... ۴۱
- جدول (۳-۳) مواد مورد استفاده در ترانس استریفیکاسیون روغن گیاهی با لیپاز آزاد ..... ۴۳
- جدول (۴-۳) مواد مورد استفاده در سنجش میزان فعالیت آنزیم لیپاز ..... ۴۷
- جدول (۵-۳) مواد استفاده شده در تثبیت لیپاز پورسین پانکراتیک ..... ۴۹
- جدول (۶-۳) مواد مورد استفاده در ترانس استریفیکاسیون با لیپاز تثبیت شده ..... ۵۱
- جدول (۷-۳) مواد مورد استفاده در سنجش میزان متیل استر ..... ۵۴
- جدول (۱-۴) ترکیب اسید چرب موجود در روغن کلزا ..... ۵۹

## لیست علائم و اختصارات

°C	درجه سانتیگراد (degree centigrade)
s	ثانیه (Second)
mm <sup>2</sup>	میلیمتر مربع (square millimeter)
cm <sup>3</sup>	سانتیمتر مکعب (cubic centimeter)
nm	نانومتر (nanometer)
g	گرم (gram)
mg	میلی گرم (milligram)
l	لیتر (liter)
ml	میلی لیتر (milliliter)
MJ	مگاژول (megajoule)
Wt	وزنی (Weight)

## فصل ۱: مقدمه

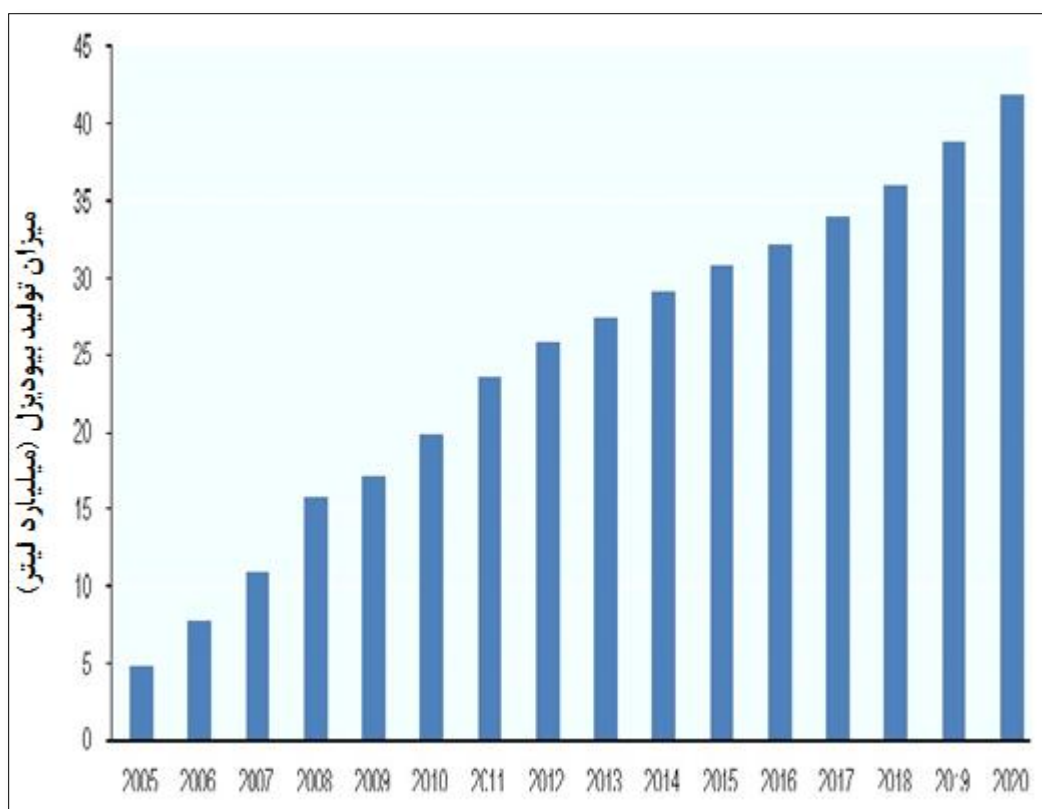
### ۱-۱- مقدمه

در سال‌های اخیر عواملی نظیر روند صعودی تقاضای مصرف انرژی در جهان، کاهش تدریجی ذخایر نفتی، افزایش روز افزون قیمت این محصولات، وابستگی بیش از حد به کشورهای صادرکننده و همچنین افزایش آلودگی زیست محیطی به علت انتشار گازهای مضر ناشی از احتراق سوخت‌های فسیلی باعث شده است که سرمایه گذاری و مطالعات چشم‌گیری به منظور یافتن سوخت جایگزین و مناسب برای این سوخت‌ها در کشورهای جهان صورت گیرد [۱-۴].

یکی از مطلوب‌ترین منابع جایگزین، سوخت‌های زیستی می‌باشند. سوخت زیستی، سوخت مایع یا گازی است که بطور عمده از توده زیستی<sup>۱</sup> تولید شده و در بخش حمل و نقل مورد استفاده قرار می‌گیرد. در حال حاضر بیواتانول و بیودیزل از سوخت‌های زیستی می‌باشند که در مقیاس جهانی تولید می‌شوند. بیواتانول، الکل اتیلیک بدون آبی است که از تخمیر الکلی قند موجود در چغندر قند، نیشکر، ذرت، گندم، نی و یا چوب بدست می‌آید [۵]. بیودیزل به طیف وسیعی از سوخت‌ها گفته می‌شود که از انواع روغن‌های گیاهی و چربی‌های حیوانی تهیه شده و به عنوان سوخت جایگزین برای موتورهای دیزلی استفاده می‌شود. در سال ۲۰۰۵، ظرفیت تولید جهانی بیواتانول در حدود ۴۵ میلیارد لیتر در سال بوده در حالیکه ظرفیت جهانی بیودیزل بسیار پایین‌تر و در حدود ۴ میلیارد لیتر بوده است [۶]. شکل ۱-۱ میزان تولید بیودیزل در

<sup>۱</sup> Biomass

جهان در فاصله سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۱۰ میلادی و پیش‌بینی میزان توسعه تولید آن تا سال ۲۰۲۰ میلادی را نشان می‌دهد [۷]. همانطور که مشاهده می‌شود ظرفیت تولید و میزان تقاضای بیودیزل جهان در سال‌های اخیر رو به رشد گذاشته و چشم انداز آن نیز بسیار امیدوار کننده است. براساس اطلاعات انجمن بیودیزل، اتحادیه اروپا با تولید بیش از ۶۰٪ کل بیودیزل تولید شده در جهان به عنوان عمده‌ترین تولید کننده این سوخت محسوب می‌شود. آلمان با ۲۸٪ کل تولید بیودیزل، فرانسه با ۲۲٪، اسپانیا با ۹/۵٪ و ایتالیا با ۸٪ از جمله بزرگترین کشورهای اروپایی تولیدکننده بیودیزل می‌باشند. همچنین از کشورهای مهم غیراروپایی تولید کننده بیودیزل می‌توان به امریکا، برزیل، آرژانتین، مالزی و تایلند اشاره نمود [۸].



شکل (۱-۱) میزان توسعه جهانی تولید بیودیزل در سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۲۰ میلادی [۷]

مجموع ذخایر قابل استحصال نفت خام و میعانات گازی کشور در پایان سال ۱۳۹۰ با احتساب کشف منابع جدید، ۱۵۶/۵۳ میلیارد بشکه بوده است. ایران با این میزان ذخیره نفت خام و میعانات گازی، پس از ونزوئلا، عربستان سعودی و کانادا در رتبه چهارم جهان قرار گرفته و بالغ بر ۹ درصد ذخایر نفت جهان را دارا

می‌باشد. همچنین میزان کل ذخایر قابل استحصال گاز طبیعی کشور از ۳۳/۶۲ تریلیون متر مکعب در سال ۱۳۸۹ با ۱۷۰ میلیارد افزایش به ۳۳/۷۹ تریلیون مترمکعب در پایان سال ۱۳۹۰ رسید. ایران با این میزان ذخیره گاز طبیعی پس از فدراسیون روسیه در رتبه دوم جهان قرار دارد [۹]. فراوانی منابع نفت و گاز در کشور از یک سو و اعمال یارانه‌های دولتی به مشتقات نفتی از سوی دیگر، موجب عرضه این محصولات با قیمت‌های بسیار پایین در بازار می‌گردد. بنابراین رقابت سوخت‌های زیستی نظیر بیودیزل که هنوز به طور کامل فاز تحقیقاتی را پشت سر نگذاشته‌اند با سوخت‌های دیزل دشوار به نظر می‌رسد.

با توجه به موقعیت جغرافیایی و شرایط آب و هوایی حاکم بر کشور، که امکان کشت انواع گونه‌های گیاهی را فراهم می‌کند، می‌توان گفت قابلیت تولید و بهره‌برداری از بیودیزل در مقیاس صنعتی در کشور وجود دارد. همچنین به دلیل آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از انتشار گازهای گلخانه‌ای حاصل از احتراق سوخت‌های فسیلی، دستیابی به سوخت‌های پاک و تجدیدپذیر نظیر بیودیزل به منظور استفاده در موتور خودروها منطقی و ضروری می‌باشد. البته استفاده از بیودیزل نیازمند برخورداری از ویژگی‌های رقابتی لازم در مقایسه با سوخت‌های فسیلی است. بنابراین لزوم بهینه‌سازی جهت کاهش هزینه‌های فرایند تولید بیودیزل ضرورت می‌یابد. علاوه بر این حمایت و سرمایه‌گذاری بخش‌های خصوصی و دولتی در این زمینه ضمن رونق بخش کشاورزی، با بکارگیری نیروی انسانی، اشتغال‌زایی را بدنبال دارد. با توجه به موارد فوق مطالعه بیشتر در زمینه تولید و فراوری بیودیزل به خوبی قابل توجیه می‌باشد.

## ۱-۲- تاریخچه استفاده از بیودیزل

در سال ۱۸۹۳ میلادی در آلمان رادولف دیزل<sup>۱</sup> برای اولین بار از روغن گیاهی بادام زمینی به عنوان سوخت در موتور دیزل خود استفاده کرد. در سال‌های ۱۹۱۱-۱۹۱۲ او موفق به اثبات امکان پذیری استفاده از سایر روغن‌های گیاهی در جایگزینی با سوخت دیزل شد [۱۰].

---

<sup>۱</sup> Rudolf Diesel



چاوانه<sup>۱</sup> اولین گزارش مربوط به بیودیزل و تولید اتیل استر روغن نخل به عنوان سوخت دیزل را در سال ۱۹۳۷ میلادی ارائه نمود. در تابستان سال ۱۹۳۸ میلادی اتوبوسی در مسیر بروسل به لوون با سوخت اتیل استر روغن نخل شروع به کار نمود که نتایج بدست آمده از آن بررسی و در مقاله‌ای در سال ۱۹۴۲ چاپ گردید [۱۱].

قیمت نفت خام در سال ۱۹۷۳ میلادی به علت شروع جنگ اعراب و اسرائیل به شدت افزایش یافت. این افزایش قیمت، مطالعه و تلاش بیش از پیش کشورها را در زمینه تولید بیودیزل از مواد خام به دنبال داشت، ولی این تلاش‌ها با کاهش دوباره قیمت نفت، کاهش یافت. در سال ۱۹۷۹ بحران نفتی دیگری بوجود آمد که باعث شد بیودیزل به عنوان سوخت جایگزین دوباره مورد توجه قرار گیرد [۱۲].

نخستین اجلاس بین المللی در مورد استفاده از روغن‌های گیاهی به عنوان سوخت در سال ۱۹۸۲ میلادی برگزار شد و چالش‌های مورد بحث در آن، هزینه این سوخت، تأثیر سوخت‌های گیاهی بر عملکرد و عمر موتورهای دیزلی، جداسازی صابون‌ها و مواد اضافی تولیدی در واکنش اعلام شد [۱۰].

استفاده از روغن گیاهان به عنوان سوخت و یا منبع تولیدکننده سوخت در بسیاری از تحقیقات مربوط به آن دوره ثبت و تأیید شده است. از جمله مزایای استفاده از روغن‌های گیاهی می‌توان به عدم آلودگی زیست محیطی، انرژی قابل توجه، دسترسی آسان و تجدیدپذیری آن اشاره کرد. مشکلات گزارش شده شامل ویسکوزیته بالا، فراریت کم و واکنش زنجیره‌های هیدروکربنی اشباع نشده می‌باشد. در اواخر دهه ۷۰ میلادی تحقیقات بسیار وسیعی برای ساخت و توسعه مشتقات روغن‌های گیاهی جهت دست یافتن به ویسکوزیته پایین‌تر انجام پذیرفته است، تاکنون چهار راه حل اصلی به منظور دست یافتن به این هدف ارائه شده است: پیرولیز، امولسیون، ترکیب با دیزل و ترانس استریفیکاسیون. در این میان ترانس استریفیکاسیون متداول‌ترین روش به کار برده شده می‌باشد که طی این واکنش مونو آلکیل استر روغن گیاهان و چربی‌ها یا همان بیودیزل تولید می‌شود [۲]. در فصل بعدی به تشریح این روش پرداخته شده است.

---

<sup>1</sup> Chavane

### ۱-۳- موضوع تحقیق و هدف از انجام آن

در سال‌های اخیر فرایند ترانس استریفیکاسیون آنزیمی روغن‌های گیاهی در حضور الکل‌ها جهت تولید بیودیزل توجه بسیاری از دانشمندان را به خود معطوف کرده است. انواع مختلفی از الکل‌های نوع اول و نوع دوم که به صورت خطی و یا انشعابی بوده می‌تواند در این واکنش به کار گرفته شود. متانول با توجه به هزینه پایین و واکنش پذیری بالا از جمله رایج‌ترین الکل‌های نوع اول بوده که در این واکنش‌ها بکار گرفته می‌شود. لیپازها در حضور الکل‌های زنجیره کوتاه بیش از غلظت معینی در محیط واکنش، غیرفعال می‌شوند که با استفاده از حلال‌های آلی نظیر ترشیو-بوتانول در محیط واکنش، می‌توان تا حدی از این کاهش فعالیت جلوگیری کرد [۲، ۴].

یکی دیگر از چالش‌های پیش رو در ترانس استریفیکاسیون آنزیمی، هزینه بالای فرایند تولید آنزیم می‌باشد. استفاده از لیپازهای ارزان قیمت، با فعالیت و مقاومت گرمایی بیشتر و همچنین استفاده از لیپازهای تثبیت شده با توجه به آن که تثبیت می‌تواند امکان استفاده مجدد از آنزیم را فراهم نماید، گام‌های مهمی در کاهش هزینه و بهبود فرایند تولید می‌باشند [۲]. تاکنون آنزیم‌های لیپاز تهیه شده از منابع میکروبی مختلف نظیر *Candida antarctica*<sup>۱</sup> [۱۳، ۱۴]، *Candida rugosa*<sup>۲</sup> [۱۵]، *Rhizopus oryzae*<sup>۳</sup> [۱۶]، *Rhizomucor miehei*<sup>۴</sup> [۱۷]، *Pseudomonas sepacia*<sup>۵</sup> [۱۸] و غیره جهت کاتالیز نمودن واکنش ترانس استریفیکاسیون مورد استفاده قرار گرفته‌اند. لیپاز غیرمیکروبی پورسین پانکراتیک<sup>۶</sup> لیپازی ارزان قیمت بوده که در محیط‌های غیر آبی دارای فعالیت و مقاومت گرمایی نسبتاً بالایی می‌باشد. با مطالعه پژوهش‌های پیشین مشخص گردید که ترانس استریفیکاسیون آنزیمی جهت تولید بیودیزل با استفاده از لیپاز مذکور به ندرت انجام شده است. بنابراین مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری به نظر رسید.

از اهداف انجام این تحقیق می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد:

<sup>۱</sup> *Candida antarctica*

<sup>۲</sup> *Candida rugosa*

<sup>۳</sup> *Rhizopus oryzae*

<sup>۴</sup> *Rhizomucor miehei*

<sup>۵</sup> *Pseudomonas sepacia*

<sup>۶</sup> Porcine pancreatic

- تولید بیودیزل به روش کاملاً زیستی
- بررسی میزان تولید بیودیزل توسط لیپاز پورسین پانکراتیک در مقیاس آزمایشگاهی
- تعیین شرایط عملیاتی بهینه (مانند مقدار لیپاز آزاد، نسبت مولی متانول به روغن، نسبت حجمی آب، نوع حلال، نسبت حجمی حلال، دما و زمان) به منظور دستیابی به حداکثر بیودیزل
- بررسی امکان تثبیت لیپاز پورسین پانکراتیک بر روی پایه پلیمری
- بررسی شرایط مناسب و بهینه تثبیت (مانند غلظت آلژینات سدیم و غلظت کلرید کلسیم) به منظور دستیابی به حداکثر فعالیت لیپاز
- استفاده از لیپاز تثبیت شده در واکنش ترانس استریفیکاسیون و تعیین شرایط بهینه (مانند مقدار لیپاز تثبیت شده، نسبت مولی متانول به روغن، دما و چرخه تکرار) جهت حداکثر تولید بیودیزل

## فصل ۲: تعاریف و مروری بر مطالعات پیشین

### ۲-۱- مقدمه

در این فصل ابتدا تعاریف کلی درباره بیودیزل و خصوصیات آن، منابع و روش‌های تولید آن به ویژه روش ترانس استریفیکاسیون آنزیمی به طور اجمالی بیان می‌شود. پس از ارائه‌ی تعریف مبانی نظری آنزیم لیپاز و کاربردهای آن به عنوان بیوکاتالیست، به اصول کلی مربوط به تثبیت لیپاز، روش‌های مختلف آن نظیر جذب سطحی، ایجاد پیوند کووالانسی، کپسوله کردن و ... پرداخته می‌شود. در گام بعد، مطالعات انجام شده در زمینه ترانس استریفیکاسیون آنزیمی با استفاده از آنزیم لیپاز و به خصوص آنزیم لیپاز برون سلولی ارائه می‌شود. در انتهای فصل به بررسی ویژگی‌های لیپاز پورسین پانکراتیک و استفاده از این لیپاز در واکنش ترانس استریفیکاسیون جهت تولید بیودیزل پرداخته می‌شود.

### ۲-۲- بیودیزل و مزایای استفاده از آن به عنوان جایگزین سوخت‌های دیزلی

بیودیزل حاوی استرهای مونوآلکیل اسیدهای چرب زنجیره بلند بوده که از انواع روغن‌های گیاهی و چربی‌های حیوانی تهیه شده و به عنوان سوخت جایگزین در موتورهای دیزل یا سیستم‌های حرارتی استفاده می‌گردد [۱۹].

از جمله مزایای استفاده از بیودیزل به عنوان جایگزین سوخت‌های دیزلی می‌توان به موارد زیر اشاره

کرد: