



همایش ملی مهندسی شیمی

کد مقاله:	۰۰۱۰۱	وضعیت مقاله:	جای در مجموعه مقالات
عنوان مقاله:	تولید اتانول از خرما به روش تخمیر با مخمر ساکارومیسس سرویزه با رویکرد کاهش ضایعات		
موضوعات علمی مقاله:	مهندسی شیمی، مواد - شیمی کاربردی	تاریخ ارسال:	۱۳۸۸/۰۹/۲۰
مؤلف مسئول:	وحید ابوالحسنی	تاریخ اصلاح:	
مؤلف ۱:	ناصر ثقه الاسلامی	پست الکترونیک مؤلف ۱:	slami@um.ac.ir
مؤلف ۲:	عبدالمجید مسکوکى	پست الکترونیک مؤلف ۲:	mazkooki@yahoo.com
مؤلف ۳:	جواد سرگلرایی	پست الکترونیک مؤلف ۳:	sargolzaei@um.ac.ir
مؤلف ۴:		پست الکترونیک مؤلف ۴:	
تماس گیرنده:	وحید ابوالحسنی	ارائه کننده:	وحید ابوالحسنی
کلمات کلیدی:	اتانول، بیوسنس، تخمیر، ساکارومیسس سرویزه، ضایعات خرما		
چکیده مقاله:	تولید اتانول از بیوسنس های مختلف، روشی برای کاهش مصرف نفت خام و آلودگی های محیطی ناشی از سوخت های فسیلی است. در ایران بخش عمده اتانول تولیدی، از ملاس نیشکر و پختنر قند حاصل می شود. سالانه مقدار زیادی از خرما تولیدی در کشور تبدیل به ضایعات می شود که این ضایعات می تواند به عنوان یک ماده اولیه جایگزین برای ملاس مطرح باشد. در این تحقیق، سه عصاره با غلظت های ۱۶، ۱۸ و ۲۰ درصد ماده جامد محلول از خرما تهیه شد. به منظور کمک به رشد و فعالیت مخمر ساکارومیسس سرویزه، از مواد مغذی استفاده و pH عصاره ها به ۵/۵ رسانیده شد. سپس عمل تخمیر در ۲۸°C و به مدت ۷۲ ساعت انجام گرفت. بازده تولید اتانول برای نمونه های فوق به ترتیب ۵۶/۴، ۶۱/۵ و ۶۳/۱ درصد، محاسبه شد. مشخص گردید که ضایعات خرما سوبسترای مناسبی برای تولید الکل است و همچنین عصاره با غلظت ۲۰ درصد ماده جامد محلول، بهترین عصاره می باشد.		



همایش ملی مهندسی شیمی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر
باشگاه پژوهشگران جوان



تولید اتانول از خرما به روش تخمیر با مخمر ساکارومیسس سرویزیه با رویکرد کاهش ضایعات

وحید ابوالحسنی*، ناصر ثقه الاسلامی، عبدالمجید مسکوکی، جواد سرگلزایی
گروه مهندسی شیمی، دانشگاه فردوسی مشهد
شبه ناشی از مصرف جهانی سوخت های فسیلی سهم است [۱۲]

چکیده

تولید اتانول از بیومس های مختلف، روشی برای کاهش مصرف نفت خام و آلودگی های محیطی ناشی از سوخت های فسیلی است. در ایران بخش عمده اتانول تولیدی، از ملاس نیشکر و چغندر قند حاصل می شود. سالانه مقدار زیادی از خرما می تولیدی در کشور تبدیل به ضایعات می شود که این ضایعات می تواند به عنوان یک ماده اولیه جایگزین برای ملاس مطرح باشد. در این تحقیق سه عصاره با غلظت های ۱۶، ۱۸ و ۲۰ درصد ماده جامد محلول از خرما تهیه شد. به منظور کمک به رشد و فعالیت مخمر ساکارومیسس سرویزیه، از مواد مغذی استفاده و pH عصاره ها به ۴/۵ رسانیده شد. سپس عمل تخمیر در 28°C و به مدت ۷۲ ساعت انجام گرفت. بازده تولید اتانول برای نمونه های فوق به ترتیب ۵۶/۴، ۶۱/۵ و ۶۳/۱ درصد، محاسبه شد. مشخص گردید که ضایعات خرما سوبسترای مناسبی برای تولید الکل است و همچنین عصاره با غلظت ۲۰ درصد ماده جامد محلول، بهترین عصاره می باشد.

واژه های کلیدی: اتانول، بیومس، تخمیر، ساکارومیسس سرویزیه، ضایعات خرما

glycolysis pathway
Saccharomyces cerevisiae
Baker's yeast

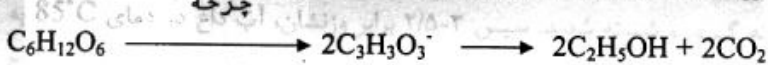
*Email: V_abolhasanee@yahoo.com



۱. مقدمه:

در حالیکه نیاز به انرژی سال به سال در حال افزایش است، منبع سوخت های فسیلی به سرعت رو به پایان می رود. پیش بینی می شود با سرعت بهره برداری جاری، سوخت های فسیلی تنها برای کمتر از ۵۰ سال آینده جوابگوی نیاز به انرژی خواهد بود. همچنین مصرف سوخت های فسیلی باعث تجمع گازهای گلخانه ای و آلودگی محیط می باشد [۱]. اتانول یکی از مهمترین سوخت های تجدید پذیر است، که در کاهش آلودگی های محیطی تولید شده ناشی از مصرف جهانی سوخت های فسیلی، سهم است [۲].

در حال حاضر تولید جهانی اتانول نزدیک ۸۰ میلیارد لیتر است [۳] که تقریباً ۹۵ درصد آن به روش تخمیر و تنها ۵ درصد به روش مصنوعی (از فرآورده های نفتی) تولید می شود [۴]. مکانیزم روش تخمیر بی هوازی تولید اتانول، به این صورت است که ابتدا گلوکز وارد چرخه گلیکولیز^۱ می شود و یک سری واکنش ها روی آن انجام می گیرد که در نهایت هر مولکول گلوکز به دو مولکول پیروات تبدیل می شود. در ادامه پیروات نیز طی دو مرحله، ابتدا به استالدهید تبدیل شده و استالدهید نیز توسط آنزیم الکل دهیدروژناز به اتانول تبدیل می شود. فرآیند کلی واکنش تخمیر به صورت خلاصه شده در معادله زیر بیان شده است [۸].



خمیر ساکارومیسس سرویزیه^۲ به عنوان مهم و ارزاترین مخمر صنعتی مطرح می باشد که در زمینه های تولیدی وسیع از جمله خمیر مایه نان^۳، پروتئین های نو ترکیب^۴ و اتانول کاربرد دارد. مواد اولیه ای که برای تولید تخمیری اتانول بکار می روند، به سه گروه عمده تقسیم می شوند که عبارتند از: مواد قندی، مواد نشاسته ای و مواد سلولزی که خرما جزو گروه اول می باشد [۶].

قندهای اصلی در خرما، گلوکز و فروکتوز هستند که در کمیت های تقریباً برابر در خرماهای نیمه خشک (رطب)، در حدود ۷۳ تا ۸۳ درصد حضور دارند. خرماها علاوه بر این که از نظر میزان قند غنی هستند، حاوی مقادیر قابل توجهی از نیتروژن، ویتامین ها و مواد معدنی هستند. بنابراین ساختن عصاره های خرما، بعنوان یک ماده اولیه برای تولید تخمیری اتانول، کاملاً مناسب می باشد [۷].

خرما از جمله مهمترین محصولات کشاورزی در کشور ما به شمار می رود که میزان تولید آن در کشور، موید این مطلب می باشد. ایران با تولید سالیانه نزدیک به یک میلیون تن، یکی از بزرگترین کشورهای تولید کننده خرما در جهان است که بیش از ۱۳ درصد تولید جهانی این ماده را به خود اختصاص داده است. متأسفانه هر ساله ۲۰

^۱ Glycolysis pathway

^۲ Saccharomyces cerevisiae

^۳ Baker's yeast

^۴ Recombinant proteins



همایش ملی مهندسی شیمی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر
باشگاه پژوهشگران جوان



تا ۲۵ درصد خرما می شود که موارد مصرف خوراکی ندارد [۸]. اما بخش عمده ای از این ضایعات، قابلیت تبدیل به یک محصول تخمیری اقتصادی، نظیر اتانول و سرکه را دارد.

در این تحقیق، استفاده از خرما به منظور کاهش ضایعات، برای تولید اتانول به روش تخمیر و به کمک مخمر ساکارومیسس سرویزیه، مورد بررسی قرار گرفته است.

۲. مواد و روش ها:

۲-۱. میکروارگانیسم و محیط کشت اولیه:

در این تحقیق از مخمر ساکارومیسس سرویزیه یا همان مخمر نانواپی استفاده شده است. همچنین به منظور آماده سازی این مخمر، محیط کشت مایع (Yeast Malt Broth (YMB، به عنوان محیط کشت اولیه بکار گرفته شد که حاوی ۵ gr/l پپتون، ۳ gr/l عصاره مخمر، ۳ gr/l عصاره مالت و ۱۰ gr/l گلوکز می باشد.

۲-۲. تهیه محیط کشت اصلی (عصاره های خرما):

در این مرحله ابتدا خرماها هسته گیری و شسته شدند. سپس ۳-۲/۵ برابر وزنشان، آب داغ در دمای ۸۵°C به آنها اضافه شد و به وسیله یک همزن شیشه ای، به مدت ۱۵ دقیقه روی هیتر همزده شدند تا قند آنها استخراج شود. بعد از سپری شدن زمان مذکور، طی دو مرحله با استفاده از فیلتر پارچه ای و کاغذ صافی، تفاله های خرما از مخلوط فوق جدا شد. در ادامه به کمک رفرکتومتر، سه عصاره با غلظت های ۱۶، ۱۸ و ۲۰ درجه بریکس (Brix) و از هر عصاره سه نمونه تهیه شد. حجم نمونه های تهیه شده برابر با ۱۰۰ cc بود که درون ارلن های ۲۵۰ cc ای ریخته شدند. بعد از اینکه عصاره ها آماده شدند توسط یک سری از مواد مغذی، غنی شدند. موادی که به عصاره ها افزوده شدند، در جدول ۱ منعکس شده است. مواد مغذی موادی هستند که به رشد و فعالیت مخمر در محیط کمک می کنند. سپس با استفاده از هیدروکلریک اسید، pH نمونه ها به ۴/۵ رسانیده شد. در انتها، نمونه های فوق به مدت ۲۰ دقیقه، در دمای ۱۲۱°C استریل شدند.

جدول ۱. مواد افزوده شده به عصاره های خرما

ماده	مقدار افزوده شده به عصاره های خرما (gr)
$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	۰/۳
K_2HPO_4	۰/۱
MgSO_4	۰/۰۵
$(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$	۰/۲۵
اوره	۰/۵



۳-۲. تهیه مایه تلقیح^۱ و انجام تخمیر:

در این مرحله ابتدا 2 gr پودر مخمر به همراه 8 gr قند، در 50 cc آب مقطر حل و به مدت یک ساعت در دمای 27°C نگه داشته شد تا مخمر فعال شود. نشانه فعال شدن مخمر این است که بعد از گذشت یک ساعت، تقریباً به اندازه حجم آب موجود، روی محلول پف تشکیل می شود. بعد از اینکه مخمر فعال شد، داخل لوله های آزمایش، 1 cc از مخمر به 9 cc محیط کشت مایع YMB تلقیح گردید. تمامی لوله ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای 28 درجه سانتی گراد و ۱۲۰ دور در دقیقه (rpm) گرمخانه گذاری شدند. بعد از اینکه مایه تلقیح آماده شد، فرایند تخمیر در دو مرحله انجام گرفت. در مرحله اول، داخل لوله های آزمایش، 1 cc از مایه تلقیح به 9 cc محیط کشت اصلی یعنی عصاره های خرما، تلقیح گردید. این بار تمامی لوله ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای 28°C و 120 rpm گرمخانه گذاری شدند. در مرحله دوم، محتویات داخل لوله های آزمایش به باقیمانده عصاره های خرما که داخل ارلن بودند، اضافه شدند و ارلن ها به مدت ۷۲ ساعت در همان دمای 28°C و 120 rpm گرمخانه گذاری شدند. درب لوله ها و ارلن هایی که برای تخمیر استفاده شدند، کاملاً به کمک چوب پنبه و فویل آلومینیومی بسته شد تا شرایط بی هوازی بطور کامل ایجاد شود. همچنین کلیه ظروف مصرفی، در شرایط استریل شده مورد استفاده قرار گرفتند.

۴-۲. جداسازی و تعیین میزان اتانول تولید شده:

در این مرحله ابتدا سلول های مخمر، در سانتریفیوژ با 4000 rpm و به مدت ۱۰ دقیقه از نمونه ها جدا شدند. سپس یک مرحله عمل تقطیر ساده، روی محلول باقیمانده انجام گرفت تا اتانول از محلول تخمیر شده، استخراج گردد. برای تعیین درصد اتانول موجود در نمونه های تقطیر شده نیز، از روش کروماتوگرافی گازی استفاده شد.

۵-۲. طرح آماری:

برای انجام محاسبات مربوط به طرح آماری، از نرم افزارهای Sigma Stat و Excel استفاده شده است. همچنین تمامی آزمایش ها در سه تکرار انجام گرفت.

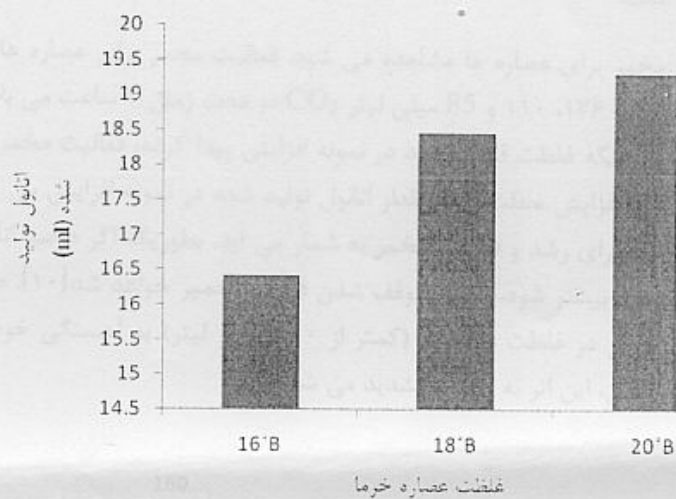
۳. نتایج و تفسیر:

شکل ۱ نتایج مربوط به حجم اتانول تولید شده (بر حسب ml) از عصاره های خرما را نشان می دهد. برای عصاره های با درجه بریکس ۱۶، ۱۸ و ۲۰ به ترتیب ۱۶/۴، ۱۸/۵ و ۱۹/۳ ml اتانول تولید شده است. این بیانگر آن است که همانطور که انتظار می رود با افزایش غلظت قند، مقدار اتانول تولید شده نیز افزایش یافته است.

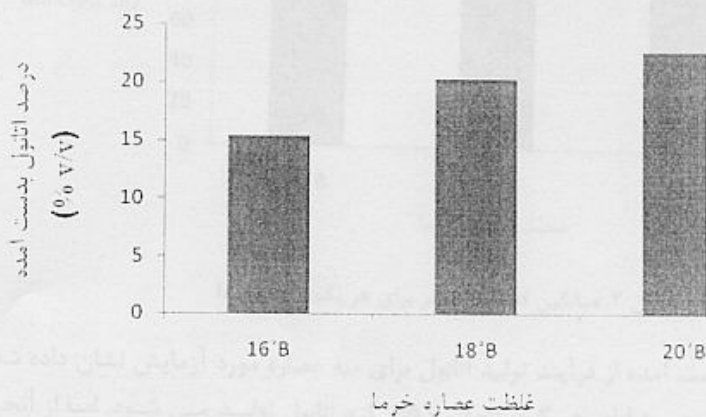
^۱ Inoculum



شکل ۲ میانگین درصد اتانول تولید شده (درصد حجمی/حجمی) از سه عصاره مورد آزمایش را نشان می دهد. بیشترین و کمترین درصد اتانول تولید شده، مربوط به عصاره های با غلظت 20 و 16 درصد است که به ترتیب برابر با ۲۲/۶۲ و ۱۵/۳۲ درصد (حجمی/حجمی) می باشد. همچنین درصد اتانول حاصل از عصاره بریکس ۱۸، برابر با ۲۰/۳ درصد (حجمی/حجمی) است.



شکل ۱، میانگین حجم اتانول بدست آمده از سه عصاره مورد آزمایش

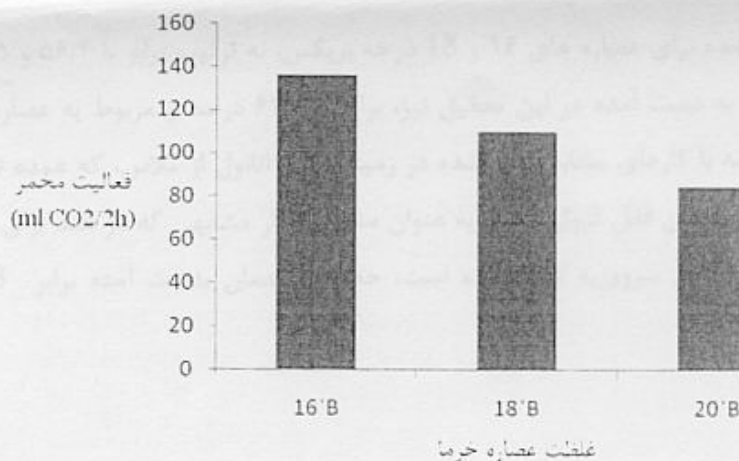


شکل ۲، میانگین درصد (حجمی/حجمی) اتانول حاصل از عصاره ها



در شرایط تخمیری، تولید اتانول تابع غلظت کربوهیدرات ها است. در غلظت های پایین، تولید الکل نیز پایین است و هر چه غلظت کربوهیدرات بالاتر رود، تولید الکل بیشتر می شود و طبیعتاً میزان خلوص آن نیز بیشتر خواهد بود [۹]. نتایجی که از شکل های ۱ و ۲ گرفته می شود، نیز همین مطلب را بیان می کند. با افزایش غلظت قند نمونه ها از ۱۶ به ۲۰ درصد، هم میزان تولید اتانول افزایش پیدا کرده و هم اینکه الکل با درصد خلوص بیشتری حاصل شده است.

در شکل ۳ میانگین فعالیت مخمر برای عصاره ها مشاهده می شود. فعالیت مخمر برای عصاره های ۱۶، ۱۸ و ۲۰ درجه بریکس به ترتیب برابر با ۱۳۶، ۱۱۰ و ۸۵ میلی لیتر CO_2 در مدت زمان ۲ ساعت می باشد. همانگونه که از شکل پیداست، به تناسب اینکه غلظت قند موجود در نمونه افزایش پیدا کرده، فعالیت مخمر کاهش یافته است. این بدان خاطر است که با افزایش غلظت قند، مقدار اتانول تولید شده در نمونه افزایش می یابد و افزایش غلظت اتانول یک عامل بازدارنده برای رشد و فعالیت مخمر به شمار می آید. بطوریکه اگر درصد اتانول حاصل از تخمیر، از حدود ۱۲ تا ۱۴ درصد بیشتر شود، باعث متوقف شدن فرآیند تخمیر خواهد شد [۱۰]. طبق تحقیقات بازو و ویکله، اثر بازدارندگی الکل در غلظت های کم (کمتر از ۲۰ گرم بر لیتر) به آهستگی خود را نشان می دهد، اما در غلظت های بالای الکل، این اثر به سرعت تشدید می شود [۹].

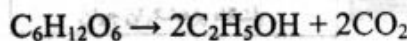


شکل ۳، میانگین فعالیت مخمر برای هر یک از عصاره ها

در شکل ۴ راندمان بدست آمده از فرآیند تولید اتانول برای سه عصاره مورد آزمایش نشان داده شده است. طبق واکنش زیر و از نظر تئوری، به ازای هر گرم گلوکز، ۰/۵۱ گرم اتانول تولید می شود. اما از آنجا که در روش تخمیر، علاوه بر



همایش ملی مهندسی شیمی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر
باشگاه پژوهشگران جوان



اتانول، محصولات جانبی مانند دی اکسید کربن و گلیسرول نیز تولید می شود، در عمل بازده تولید اتانول کمتر از بازده تئوری خواهد بود و حداکثر می توان به ۹۴/۷ درصد بازده تئوری رسید [۱۱].



1. Demirbas, A., *Progress and recent trends in biofuels*. Progress in combustion science, 2007, 33(1): p. 1-18.
2. Cardona, C.A., and O.J. Sanchez, *Fuel ethanol production: technology and integration concepts*. 2009.

شکل ۴، راندمان فرآیند تولید اتانول برای سه عصاره مورد آزمایش

3. راندمان های به دست آمده برای عصاره های ۱۶ و ۱۸ درجه بریکس، به ترتیب برابر با ۵۶/۴ و ۶۱/۵ درصد می باشد. بیشترین راندمان به دست آمده در این تحقیق نیز، برابر با ۶۳/۱ درصد و مربوط به عصاره با غلظت ۲۰ درصد بود، که در مقایسه با کارهای مشابه انجام شده در زمینه تولید اتانول از ملاس، که عمده ترین ماده اولیه قندی به شمار می آید، راندمان قابل قبولی است. به عنوان مثال در کار مشابهی که در هند برای تولید اتانول از ملاس با مخمر ساکارومیسس سرویزیه انجام شده است، حداکثر راندمان بدست آمده برابر ۵۳ درصد بوده است [۱۲، ۱۳].
6. Balat, M., H. Balat, and C. Oz, *Progress in bioethanol production*. Energy and combustion science, 2008, 34(5): p. 325-332.
7. MEHALLA, M. and C. M., *FERMENTATION OF ETHANOL AND VINEGAR IN BATCH AND CONTINUOUS REACTORS*. Enzyme and microbial technology, 1991, 13: p. 153-157.

۴. نتیجه گیری:

8. نتایج بدست آمده در این تحقیق، بیانگر این مطلب است که مطابق انتظار، با افزایش غلظت اولیه قند موجود در نمونه ها، تولید اتانول افزایش و به تبع آن، فعالیت مخمر کاهش یافته است. در بین سه نمونه آزمایش شده نیز، عصاره خرما با غلظت ۲۰ درصد ماده جامد محلول، با راندمان ۶۳/۱ درصدی تولید اتانول، به عنوان بهترین عصاره شناخته شد.
9. Lyons, T.P. and J.D. Connolly, *Dairy Review*, 1980.
10. Jeffers, J., *Preparing Ethanol by Fermentation*, 2000.



همایش ملی مهندسی شیمی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر
باشگاه پژوهشگران جوان



بخش عمده اتانول تولیدی در ایران، از ملاس نیشکر و چغندر قند تهیه می شود. با توجه به کاهش قابل توجه عرضه و افزایش قابل توجه قیمت ملاس در بازار، تحقیقات مختلفی در زمینه معرفی مواد اولیه جایگزین برای ملاس به عمل آمده است. این در حالی است که، هر سال، مقدار زیادی خرما در کشور به ضایعات تبدیل می شود. با توجه به نتیجه به دست آمده در این تحقیق و راندمان ۶۲/۱ درصدی حاصل شده که راندمان قابل قبولی است، می توان نتیجه گیری کرد که ضایعات خرما می تواند سوسترای مناسبی برای تولید اتانول و همچنین یک ماده اولیه جایگزین برای ملاس باشد.

5. منابع:

1. Demirbas, A., *Progress and recent trends in biofuels*. Progress in energy and combustion science., 2007. 33(1): p. 1-18.
2. Cardona, C.A. and O.J. Sanchez, *Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities*. Bioresource technology : biomass, bioenergy, biowastes, conversion technologies, biotransformations, production technologies., 2007. 98(12): p. 2415-2457.
3. <http://www.ethanolrfa.org/resource/facts/trade/>. *Ethanol Facts: Trade*. 2008 [cited 2009].
4. Licht, F.O., *World ethanol markets : analysis and outlook*. 2001, Kent, U.K.: F.O. Licht.
5. Bai, F.W., W.A. Anderson, and M. Moo-Young, *Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks*. Biotechnology advances., 2008. 26(1): p. 89-105.
6. Balat, M., H. Balat, and C. Oz, *Progress in bioethanol processing*. Progress in energy and combustion science., 2008. 34(5): p. 551-573.
7. MEHAIA, M. and C. M., *FERMENTATION OF DATE EXTRACTS TO ETHANOL AND VINEGAR IN BATCH AND CONTINUOUS MEMBRANE REACTORS* Enzyme and microbial technology, 1991. 13: p. 257-261.
8. وضعیت تولید و صادرات خرما. اردیبهشت ۱۳۸۶، سازمان توسعه تجارت ایران، دفتر توسعه صادرات کالا و خدمات، دفتر برنامه ریزی، تامین و توزیع و تنظیم بازار بازرگانی داخلی.
9. Lyons, T.P. and J.D. Cunningham, *Fuel alcohol From Whey*. American Dairy Review, 1980.
10. Jeffers, J., *Preparing Ethanol by Fermentation*. 2000.



همایش ملی مهندسی شیمی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر
باشگاه پژوهشگران جوان



11. ANDERSON, Lee, and Ruth, *New date products*. 1963, Date Growers' Institute.
12. Park, Y.K. and H.H. Sato. *Fungal Invertase as an Aid for Fermentation of Cane Molasses into Ethanol*.
13. Shanmugam Periyasamy, S.V., Sridhar Ramasamy, Venkatesan Srinivasan, *Production of Bio-ethanol from Sugar Molasses Using Saccharomyces Cerevisiae*. *Modern Applied Science*, 2009: p. 32-37.