تولید سوخت و قند با استفاده از ضایعات گیاهی حاوی سلولز

محمد هادی اسکندری، شهرام شکرفروش

گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه شیراز

Archive of SID

چکیده

ذخایر انرژی فسیلی جهان، با روند فزاینده مصرف کنونی، تا چندین سال دیگر به اتمام خواهد رسید و هر کشوری که به فکر تامین منابع انرژی خود نباشد، با مشکلات فراوان روبرو خواهد شد. اما منابع گیاهی و سلولزی موجود در دنیا، جایگزینی تجدید شونده، برای منابع نفتی می‌باشند (۲).

فراوانترین ماده آلی بر روی کره زمین سلولز و پلی ساکاریدهای مشابه آن می باشند که در ساختار گیاهان به کار رفته‌اند (۵). سلولز از واحدهای ساختمانی به نام گلوکز تشکیل شده است که یک قند ساده و قابل استفاده برای بیشتر موجودات زنده است، اما تجزیه سلولز و تبدیل آن به گلوکز تنها توسط میکروارگانیسمهایی که دارای آنزیم سلولاز (Cellulase) می‌باشند انجام پذیر است (۹). اگر با فرایندی مناسب و اقتصادی سلولز گیاهان به قندهای ساده و قابل تخمیر تبدیل شود، تحولی شگرف در صنایع غذایی و همچنین تولید سوختهای طبیعی روی خواهد داد (۱، ۲، ۵، ۶، ۱۰).

پس از تولید گلوکز می توان با استفاده از میکروبهای دیگری و با استفاده از عمل تخمیر از قندهای موجود، اتانول تولید کرد که جانشینی مناسب برای سوختهای فسیلی می‌باشد (۲، ۴، ۱۰).

هم اکنون پژوهشگران زیادی بر روی جنبه های سلولی و مولکولی تولید مقرون به صرفه آنزیم سلولاز کار می کنند و در این زمینه به توفیقاتی نیز رسیده‌اند. اما کماکان تولید و پرورش میکروارگانیسمهایی که با سرعت بیشتر و هزینه کمتری قادر به تولید آنزیم فوق باشند مد نظر بسیاری از محققین است (۱، ۲، ۳، ۴).

در کشور ایران نیز از ضایعات گیاهی و کشاورزی سلولزی استفادهٔ مطلوبی نمی‌شود و در صورت استفادهٔ مناسب از این منابع مقادیر بسیار زیادی سوختهای طبیعی و قندهای ساده قابل تولید می‌باشد.

www.SID.ir

مقدمه

استفاده از ضایعات گیاهی و سلولزی سبب کاهش آلودگیهای زیست محیطی و بهبود وضعیت بهداشتی جامعه می‌گردد (۲). یکی از مهمترین مشکلات زیست محیطی، گرم شدن کرهٔ زمین بدلیل مصرف زیاد سوختهای فسیلی می‌باشد، استفاده از سوختهای جایگزین سوختهای فسیلی در توقف این پدیدهٔ نامطلوب مؤثر می‌باشد (۲).

میزان انرژی جذب شده بوسیلهٔ عمل فتوسنتز بر روی کرهٔ زمین چیزی در حدود ۱۰ برابر مصرف سالیانهٔ انرژی جهان می‌باشد، که از این میزان حدود ۲/۳ آن بوسیلهٔ گیاهان و بقیه بوسیله فیتوپلانکتونهای آبزی جذب می‌شود (۲).

سلولز فراوانترین ماده آلی موجود بر روی کرهٔ زمین می‌باشد (۵). تودهٔ زیستی گیاهی بیشتر از سه ترکیب سلولز (۴۰٪)، همی سلولز (۳۳٪) و لیگنین (۲۳٪) تشکیل شده است. تخمین زده می‌شود که در حدود ۴×۱۰^{۱۰} تن سلولز در سال بوسیلهٔ گیاهان آلی تولید می‌شود. یا به عبارتی به ازای هر نفر در هر روز ۷۰ کیلوگرم سلولز سنتز می‌شود. بنابراین کاربرد آنزیمهایی که توانایی تغییر و تبدیل در سلولز را داشته باشند مورد توجه قرار گرفته است (۹).

سلولز از واحدهای ساختمانی گلوکز که بوسیلهٔ پیوندهای (6 ◄—۱ β) به هم متصل شده‌اند، ساخته شده است. اما تجزیه سلولز و تبدیل آن به گلوکز تنها توسط میکروارگانیسم‌هایی که حاوی آنزیم سلولاز می‌باشند انجام پذیر است (۹). اگر بتوان با فرایندی کارآمد و اقتصادی سلولز موجود در ضایعات گیاهی و کشاورزی را به قندهای ساده و قابل تخمیر همچون گلوکز تبدیل کرد، تحولی بزرگ در صنایع غذایی و تولید سوختهای طبیعی جایگزین شونده نظیر اتانول روی خواهد داد (۱، ۲، ۴، ۹). در زمینهٔ تولید اتانول از مواد سلولزی پیشرفتهای بسیاری حاصل شده است (۱، ۲، ۳، ۴، ۱۰، ۱۱). اما جهت پیشرفت و توسعه این فرایند، پژوهش و مطالعات بیشتری مورد نیاز است. در کشور ایران نیز از بیشتر ضایعات سلولزی و کشاورزی همچون کاه گندم و جو، کاه برنج، ضایعات جنگلی، روزنامه‌ها و کاغذهای باطله، ضایعات کارخانجات کاغذسازی و ... استفادهٔ مطلوبی نمی‌شود.

اگر چه آمار دقیقی از میزان مواد فوق در دسترس نمی‌باشد اما بی شک حجم بسیار زیاد و قابل توجهی می‌باشند. جهت تولید گلوکز از مواد سلولزی و تبدیل آن به اتانول مراحل زیر انجام می‌گیرد. نمودار شمارهٔ یک نشانگر مراحل انجام این کار است که به تفصیل در هر مورد بحث خواهد شد.

Archive of SID

www.SID.ir

الف- تولید انبوه آنزیم سلولاز میکروبی

موفقیت طرح تبدیل ضایعات سلولزی به مواد قندی و سوختی در گـرو تولیـد موفقیـت آمیـز و با صرفه آنزیم سلولاز می باشد. تولید سلولاز، پر هزینه ترین قسمت این فرایند می باشد که در حدود ۴۰٪ هزینه کل را شامل می شود. به همین سبب تحقیقات بسیاری جهت کاستن هزینه تولید آنـزیم در جریان است.

باید به این نکته توجه باشیم که آنزیم سلولاز یک آنزیم خـاص نیسـت و یـک سیسـتم آنزیمـی شامل سه قسمت عمده می باشد:(۵).

۱- آنزیم Endo - ß- glucanase که زنجیره سلولزی را به طور راندوم می شکند و حاصل عمل آن گلوکز و Cello – oligo Saccharides می باشد.

۲- آنزیم Exo - ß - glucosidase که به انتهای غیر احیا کننـده زنجیـره سـلولزی حملـه کـرده و تولید سلوبیوز می کند.

۳- آنزیم ß – glucosidase که سلوبیوز را به گلوکز تبدیل می کند (۵).

ب- جداسازی میکروارگانیسمهای تولید کننده سلولاز

در این مرحله باید به جستجوی میکروارگانیسمی پرداخت که قادر به تولید این آنزیمها به مقدار مناسب باشد. اگر چه بسیاری از میکروارگانیسمها قادر به تولید سلولاز هستند اما تنها تعداد کمـی از آنها مقادیر قابل توجهی از این آنزیم را تولید می‌کنند (۲).

قارچها مهمترین گروه تولید کننده این آنزیم هستند اگر چه گزارشاتی هـم درمـورد باکتریهـا و آکتینومیست‌های تولید کننده این آنزیم وجود دارد. مهمترین قارچهای تولید کننده این آنزیم متعلق به جنسهای Trichoderma و Aspergillus می‌باشند (۲).

برای جداسازی میکروارگانیسمهای فوق تکنیکهای خاصی وجـود دارد کـه توضـیح آن خـارج از حوصله این بحث می‌باشد (۲، ۵، ۸).

پس از جداسازی میکروارگانیسم مناسب، می‌توان با استفاده از عمل موتان زایی به میکروبهـایی دست پیدا کرد که توان زیاد تری جهت تولید آنزیم سلولاز داشته باشند. جهت موتان زایی می‌توان از اشعهٔ UV و ماده nitrosoguanidine (NTG) استفاده کرد (۲).

بسیاری از سویه‌هایی که امروزه جهت تولید آنزیم سلولاز به کار برده می‌شوند موتانهای حاصل از Trichoderma reesei می‌باشند (۲، ۵، ۹، ۱۰).

Archive of SID

www.SID.ir

امروزه با استفاده از روشهای مهندسی ژنتیک به سویه‌هایی دست یافته‌اند کـه توانـایی بیشـتری جهت تولید این آنزیم دارنـد. همچنـین دانشـمندان بـا دسـتکاری سـاختار پروتئینـی ایـن آنزیمهـا، آنزیمهایی بسیار مقاوم به حرارت که فعالیتشان در دماهای بالا متوقف نمی‌شود تولید نمـوده‌انـد (۹). پس ا ز انتخاب سویهٔ مناسب باید آن را در محیط کشت ویژه رشد داد تا در حین رشد به تولید آنزیم بپردازد. جهت این کار از محیطهایی مثل آب پنیر، باگاس و کاه برنج استفاده شده اسـت. محیطهـای نامبرده شده ارزان و در دسترس می‌باشند. اما جهت این کار محیطهایی مخلوط از چند سوبسترا تهیه گردیده که نسبتاً گران ولی کارآمد می‌باشند.

ج- تغییرات اولیه بر روی تودهٔ زیستی حاوی سلولز:

تودهٔ زیستی (Biomass) لیگنوسلولزی حاوی سلولز، همی سلولز، لیگنین و خاکستر می‌باشند که در ساختمانی پیچیده با هم ارتباط دارند (۹).

اعمال اولیه یا Pre-treatment بر روی این مواد سبب افزایش سلولز کریستالینه شده و همزمان با آن سبب برداشت عوامل مهاری آنزیم نظیر لیگنین می‌شود. Pre-treatment سبب افزایش سطح تماس سلولز با آنزیم و متعاقباً عملکرد بهتر آنزیم می‌شود (۲).

Pre-treatment را می‌توانیم به دو روش انجام دهیم: استفاده از مـواد قلیـایی و اسـتفاده از بخـار فشرده.

Pre-treatment قلیایی با استفاده از هیدروکسید سدیم انجام مـی‌گیـرد. نسـبت قلیـایی مصـرفی نسبت به تودهٔ زیستی برای تولید مناسب حدود ۱ به ۱۲/ . می باشد که در دمای ۸۰ تـا ^{0C}۱۰۰و بـه مدت بیش از ۲ – ۱/۵ ساعت انجام می‌پذیرد. استفاده از بخار فشرده جهت تغییر سلولز زمانی به کـار می‌رود که استفاده از قلیا پاسخگو نباشد (۲، ۱۰).

د- مرحلهٔ ساکاریفیکاسیون (Saccharification):

در این مرحله می‌توان آنزیم سلولاز تولید شده را خالص سازی کرد یا بدون خالص سازی محیط کشت حاوی آن را به عنوان محیط حاوی سلولاز به کار برد. تودهٔ زیستی که از مرحلهٔ قبل بدست آمد را تحت آنزیم سلولاز قرار می‌دهند. آنزیم سلولاز با فعالیـت خـود سـبب شکسـته شـدن پیونـد بـین مولکولهای گلوکز شده و آنها را آزاد می‌کند. این عمل را می‌توان بـه صـورت تولیـد غیـر پیوسـته یـا پیوسته انجام داد (۲).

هر چه زمان تماس و میزان آنزیم سلولاز بیشتر باشد در نهایت قند بیشتری تولید می‌گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

جهت بازیافت قند تولید شده تکنیکهای چندی پیشنهاد گردیده است اما هم اکنون بهترین روش استفاده از Reverse osmosis می‌باشد (۲).

کار دیگری که در این مرحله می‌توانیم انجام دهیم بازیافت آنزیم سلولاز موجود در محیط می‌باشد. از آنجا که آنزیمها همانند کاتالیزور عمل می‌کنند و در پایان واکنش دست نخورده باقی می‌ماند می‌توانیم آنها را جداسازی نموده و در موارد دیگر آنها را بکار ببریم. تکنیکهای کروماتوگرافی مهمترین روشها جهت جداسازی آنزیم فوق می‌باشند (۹).

ه- مرحله تولید اتانول:

جهت تولید اتانول باید قند تولید شده را تخمیر نموده و آن را تبدیل به الکل اتیلیک نماییم. این تبدیل توسط مخمرها انجام می‌پذیرد. تخمیر الکلی فرایندی شناخته شده است که از دیرباز در سرتاسر جهان به کار می‌رود (۲، ۴، ۱۰).

مهمترین متدهایی که جهت تثبیت مخمر به کار می‌رود شامل: Collagen casting، Chitosan glutar–aldehyde molding، Carrageenan–entrapping method و Caciumalginate gel – entraping method می‌باشد (۲).

در بین روشهای فوق روش آخر به سبب فعالیتهای آنزیمی بالای آن، پایداری و سهولت تهیه آن کاربرد بیشتری دارد.

برای تهیه الکل به غیر از روش پیوسته که در آن نیاز به تثبیت سلولهای مخمر می‌باشد می‌توان از تولید به روش Batch fermentation نیز استفاده نمود. اما کارایی آن نسبت به روشهای دیگر نسبتاً کم می‌باشد. اما روشی نسبتاً ساده می‌باشد و پیچیدگیهای روشهای Immobilized method و Immobilized Flash method را ندارد (۲).

از آنجا که الکل تولید شده در فرمانتور یک عامل مهاری جهت عملکرد مخمرها محسوب می‌شود باید آن را از محیط خارج سازیم. چرخش محیط کشت از راه یک ستون تقطیر به ما این امکان را می‌دهد که الکل تولید شده را جداسازی نموده و محیط را برای عملکرد مخمرها مساعد نماییم (۲، ۴).

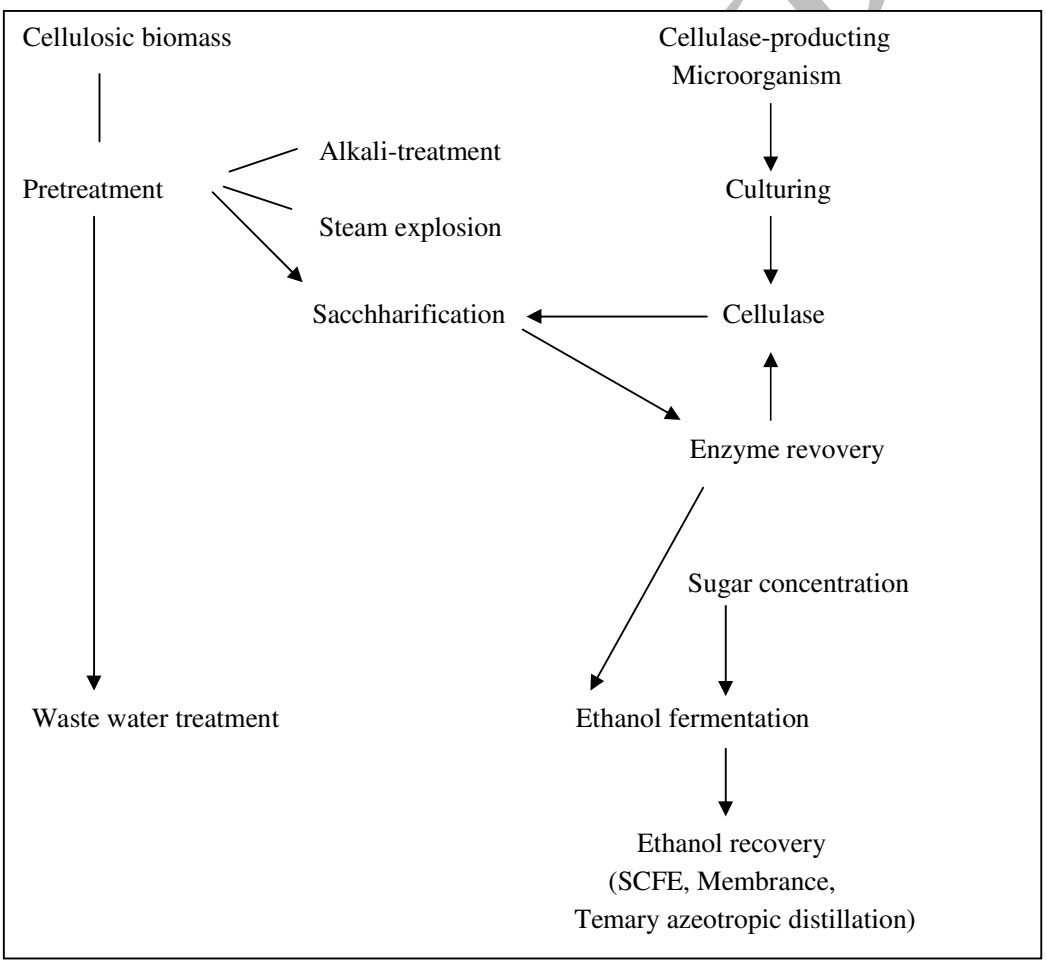
یکی از مهمترین کاربردهای سیستمهای بیولوژیکی انرژی زا، تولید اتانول از تودهٔ زیستی (Biomass) می‌باشد. در ایالات متحدهٔ آمریکا سالیانه بالغ بر ۵ میلیارد لیتر اتانول از طریق تخمیر تولید می‌شود که مهمترین سوبسترای آنان نشاستهٔ ذرت می‌باشد. این تکنولوژی در کشور آمریکا به

Archive of SID

www.SID.ir

خاطر تولید انبوه ذرت که از طرف دولت مورد حمایت قرار می‌گیرد می‌تواند اقتصادی باشد. اما در کشورهای دیگر همانند ایران تولید این محصول جهت تبدیل آن به سوخت طبیعی به صرفه نیست و استفاده از منابع سلولزی می‌تواند راه حلی مناسب و جایگزین باشد.

تحقیقات بسیار گسترده و مناسبی در سرتاسر جهان جهت تحقق این امر در حال انجام است و بی شک در آینده بسیار نزدیک شاهد تولید قند و اتانول و دیگر محصولات تخمیری از زباله‌های مواد غذایی، کاغذهای باطله، پسمانده‌های کشاورزی نظیر کاه و دیگر منابع سلولزی خواهیم بود.



مراحل تولید قند و اتانول از سلولز گیاهی

www.SID.ir

منابع

1- Aguiar, C. L. 2001. Biode gradarion of the Cellulose from sugarance Bagasse by fungal Cellulase. Sienc. Tecnol. Aliment. Vol.3, no. 2: 117-121.
2- Kazuhisa Miyamoto. 1997. Rrnewable biological systems for alternative sustainable energy production (FAO Agricultural services Bulletin – 128)
3- Lark, V. 1999. Production of ethanol from recycled paper sludge using cellulase and yeast, Kluvexomyces marxianus. Fuel and Energy Abstracts. Vol 38, Issue 6. P: 395 – 396.
4- Lee J. 1997. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. Jour of Biotechnology. Vol 56. P: 1 – 24.
5- Lee R. Lynd et al. 2002. Microbial Cellulase Utilization: Fundamentals and Biotechnology. Appl. Environ. Microbiol. 66: 506 577.
6- Netherwood, T. R. et al. 1999. Gene transfer in the Gastrointestinal tract. Appl. Envion. Microbial. 41: 1337-1343.
7- Spano, L. et al. 1975. Enzywatic Hydrolysis of Cellulosic waste to Glucose, Pollution Abatement Div, Food Svce. Labs, US. Army Natick, MA. USA.
8- Sternberg. D. et al. 1977. B-Glucosidase: Microbial production and effect on enzymatic hydrolysis of Cellulose. Can. J. Microbial. 23: 139-147.
9- Walsh G. 2002. Proteins Biochemistry and Biotechnology John Wiley X Sons, LTD pp: 419 – 471.
10- Wang. D.I.C, et al. 1983. Ethanol from Cellulosic Biomass. Philos. Trans. R, Soc. Lond. Ser. B3000: 323-333.
11- Yang X, et al. 2001. Bioconversion of corn straw by coupling ensiling and solid – state fermentation. Bioresource Technology. Vol 76. P: 277 – 280

Archive of SID

www.SID.ir