بهینه سازی تولید گلوکوز قابل تخمیر ازضایعات نان به روش هیدرولیز آنزیمی

سمانه ترابی[1]، سیدرضا حسن بیگی[2]*، بهزادستاری[3]

[1]دانشجوی کارشناسی ارشد، مکانیک بیوسیستم، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران samanetorabi735@ut.ac.ir
[2]استاد، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران آدرس پست الکترونیکی نویسنده دوم rhbeigi@ut.ac.ir
[3]استادیار، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران sataribehzad300@gmail.com

چکیده

پیدا کردن شرایط هیدرولیز مطلوب برای افزایش عملکرد ساکارید ها مهم است. عملکرد بالاتر ساکاریدها برای افزایش اثربخشی تخمیر مورد استفاده قرار می گیرد. دراین مطالعه ضایعات نان به عنوان ماده ی خام استفاده گردید. نان به وسیله ی آسیاب به قطعات کوچک تقسیم شد و سپس هیدرولیز در ۱۰۰ میلی لیتر سوسپانسیون 160- 89 گرم برلیتر نان به آب انجام گرفت. دراین آزمایش آنزیم آلفا آمیلاز جهت مایع سازی به کارگرفته شد. فرایند مایع سازی در ۶۰ دقیقه انجام و بعد از آن فرایند ساکاریفیکاسیون به وسیله ی آنزیم گلوکو آمیلاز در مدت زمان ۴۸ ساعت مورد آزمایش قرارگرفت. برای تعیین شرایط بهینه طرح آزمایشات توسط نرم افزار دیزاین اکسپرت انجام شده و در آخر مقدار گلوکوز استحصال شده حین فرایند به وسیله ی کیت آزمایشگاهی گلوکوز اندازه گیری گردید. بیشترین بازدهی مربوط به بارگزاری 150 گرم برلیتر و زمان ساکاریفیکاسیون 48 ساعت بوده است.

کلمات کلیدی: آلودگی محیط زیست، بیواتانول، ضایعات نان، گرمایش جهانی، هیدرولیز آنزیمی

Optimize the production of fermentable glucose by enzymatic hydrolysis of waste bread

Samane torabi[1], seyed reza Hassan-beygi[2], Behzad sattari[3]

[1]Master student,Bio system mechanical, college of Aboureyhan, University of Tehran
[2]Professor, college of Aboureyhan, University of Tehran
[3]Assistant Professor, college of Aboureyhan, University of Tehran

ABSTRACT

Finding optimal hydrolysis conditions is important to increase the yield of saccharides. The higher performance of saccharides is used to increase the fermentation efficiency. In this study, waste Bread were used as raw material. The bread was divided into small pieces by the mill, Hydrolysis was done in 100 ml of suspension of 160-89 g / l of bread to water. In this experiment, the alpha-amylase enzyme was used for liquefaction. The liquefaction process was carried out in 60 minutes and then the glucosamylase enzyme saccharification process was tested in 48 hours. In order to determine the optimum conditions of the experimental design, Designed by Design Expert7 Software and finally the amount of glucose extracted during the process was measured by glucose laboratory kit. The highest yield of 150 g/l loading and Saccharification time was 48 hours.

Keywords: Environmental Pollution, Bioethanol, Bread Waste, Global Warming, Enzymatic Hydrolysis

rhbeigi@ut.ac.ir[1]

۱- مقدمه

گرمایش جهانی به دلیل افزایش گازهای گلخانه ای و کاهش همزمان سوخت های فسیلی باعث تشویق پژوهشگران برای تحقیقات در زمینه منابع انرژی جایگزین و پاکیزه برای صنعت بیواتانول می شود (Battista et al, 2016). جستجوی منابع جدید برای تولید اتانول به علت افزایش قیمت مواد اولیه همچون ذرت، غلات، سیب زمینی، و غیره ضروری است و ضایعات مواد غذایی می توانند به عنوان خوراک مناسب برای تخمیر مود استفاده قرارگیرند (EBRAHIMI et al, 2008). ساکارید و دیگر مواد مغذی موجود در ضایعات غذایی برای تخمیر مناسب می باشند. میکروارگانیسم ها می توانند این مواد را به سوخت های زیستی تبدیل کنند (LEUNG et al, 2012). انواع مختلفی ضایعات غذایی وجود داشته که ازاین میان ضایعات نان سوبسترایی مناسب جهت تولید بیواتانول می باشد (EBRAHIMI et al, 2008). با این حال تقریبا تمام ضایعات نان ها در محل های دفن زباله به سر می برند، جایی که از طریق هضم بی هوازی تبدیل به متان می شوند. ضایعات نان علاوه بر ایجاد مشکلات اقتصادی، سلامت افراد را به طور مستقیم با مصرف نان های ناسالم و یا غیرمستقیم با استفاده در جیره غذایی دام ها مورد تهدید قرار می دهد. در حال حاضر در کشور ما برخلاف کشورهای پیشرفته، نان و ضایعات آن یکی از مهم ترین فراورده های دور ریز مواد غذایی محسوب می شود؛ متاسفانه اکثر این ضایعات آلوده به کپک و مخمر بوده و به دلیل ارزان بودن نان ضایعاتی، در دامداری ها به عنوان خوراک دام استفاده می گردد . باتوجه به کپک زدگی بخش قابل توجهی از نان احتمال وجود مایکوتوکسین ها در آن ها بسیار زیاد می باشد. مایکوتوکسین ها سموم قارچی هستند که درحیوانات و انسان خاصیت جهش زایی و سرطان زایی دارند. در بین مایکوتوکسین ها 14نوع سرطان زا وجود دارد که آفلاتوکسین ها قوی ترین و خطرناک ترین آن ها هستند.وجود آفلاتوکسین ها در غذای دام علاوه براین که برای آن ها بیماری زاست، وارد شیر شده و از طریق مصرف شیر و دیگر فراورده های لبنی وارد بدن انسان می شوند. این فراورده های غذایی برای انسان بسیار مضر و خطرناک می باشند (ترابی و همکاران، ۱۳۹۷). پتانسیل ضایعات نان به عنوان ماده ی خام تجدیدپذیر یک پیشنهاد جذاب برای دولت ها خواهد بود. یکی ازراه های استفاده ازاین پتانسیل ازطریق تولید محصولات باارزش افزوده براساس تخمیرتحقق می یابد (Wang et al, 2010; Koutinas et al,2007; Webb et al, 1997). بررسی ها نشان می دهد که سالانه حدود ۳/۹ میلیون تن نان در کشور مصرف شده و به رغم اقدامات مهمی که در زمینه افزایش کیفی نان تولیدی صورت گرفته است، در شرایط فعلی از این مقدار نان تولیدی، حدود ۱۰ - ۳۰ درصد به دورریز و ضایعات تبدیل می شود (ترابی و همکاران، ۱۳۹۷). مطالعات مختلفی در زمینه ی تخمیر ضایعات نان برای محصولات مختلف انجام شده است. نان شامل پلی ساکارید هایی است که قبل از تخمیر باید هیدرولیز شده و به گلوکوز شکسته شود. هرچه هیدرولیز موثرتر باشد به بازده بالاتری از اتانول می توان دست یافت (PIETRZAK et al, 2014). هدف این مطالعه بهینه سازی هیدرولیز آنزیمی ضایعات نان قبل از تخمیر و دست یابی به گلوکوز قابل تخمیر بوده که پارامترهای اصلی بهینه سازی نسبت سوبسترای اولیه و زمان ساکاریفیکاسیون در هیدرولیز آنزیمی می باشد.

۲- بخش مواد و روش‌ها

۲-۱ هیدرولیز آنزیمی

برای هیدرولیز آنزیمی ابتدا پیش فراوری فیزیکی صورت گرفت. پیش فراوری فیزیکی شامل آسیاب و خرد کردن نان ها به صورت دستی می باشد. محصول پیش فراوری شده توزین و سپس با نسبت ۸۹-۱۶۰ گرم بر لیتر با آب مخلوط شد. این مخلوط تا دمای جوش حرارت داده شد تا ژلاتینه شود و محلول آماده هیدرولیز به دست آید. درادامه فرایند هیدرولیز آنزیمی در دو مرحله ی مایع سازی و گلوکوز سازی به ترتیب توسط دو آنزیم آلفاآمیلاز و گلوکوآمیلاز انجام گرفت. در مرحله مایع سازی با توجه به شرایط فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز pH محلول توسط بدیم هیدروکسید یک مولار روی ۵,۸ تنظیم شد. آنزیم آلفاآمیلاز با مقادیر ۰,۵ میلی گرم به ازای هر گرم نان توزین گردید. واکنش به مدت ۱ ساعت در دمای ۵۰ درجه و پس از آن به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۱۰ درجه و همزنی ۶۰۰ rpm انجام شد. در مرحله ی گلوکوز سازی جهت فراهم کردن شرایط فعالیت آنزیم گلوکوآمیلاز pH محلول روی ۴,۳ تنظیم شده و آنزیم گلوکوآمیلاز با مقادیر ۵۰,۴ میلی گرم به ازای هرگرم نان به محلول واکنش اضافه شد. واکنش به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه و همزنی ۶۰۰rpm ادامه یافت.

۲-۲ اندازه گیری گلوکوز به وسیله ی کیت گلوکوز

اساس این روش بدین گونه می باشد، که گلوکوز تحت تاثیر آنزیم گلوکوز اکسیداز آب اکسیژنه آزاد می کند. که در مجاورت آنزیم پراکسیداز بافنل و ۴-آمینو آنتی پیرین تشکیل کمپلکس رنگی کینونیمین می دهد. شدت رنگ حاصل متناسب بامقدار گلوکوز موجود در نمونه می باشد که در طول موج ۴۹۰-۵۱۰ نانومتر اندازه گیری می شود. روش اندازه گیری دستی بدین صورت می باشد که به ۱۰ میکرولیتر از هرنمونه ۱۰۰۰

میکرولیتر معرف اضافه می گردد. به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه نگه داری شده. سپس جذب نمونه ها در مقابل بلانک معرف در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه گیری می شود.

۳- نتایج و بحث

دامنه و مقادیر هر یک از پارامترها به نرم افزار داده شد و نرم افزار به روش RSM به ۲ فاکتور و ۱ سطح کدبندی نمود. ۱۳ روش آزمایش طراحی شده به همراه پاسخ به دست آمده به شرح جدول ۱ می باشد. با استفاده از تحلیل واریانس، میزان ضریب واریانس 7.06 به دست آمده است. همچنین ضریب رگرسیون برای این معادله 0.9646 است که نشان از دقت بالای این مدل و معنا دار بودن عوامل موثر بر غلظت گلوکوز به دست آمده است. برای آن که تشخیص بدهیم آیاداده های به دست آمده از طریق آزمایشات کیفیت آماری دارند، شکل ۲ توافق بین مقادیر تجربی و پیش بینی شده توسط مدل را نشان می دهد. نقاط بالا یا پایین خط می توانند نواحی بیشتر یا کمتر از پیش بینی را مشخص کنند.

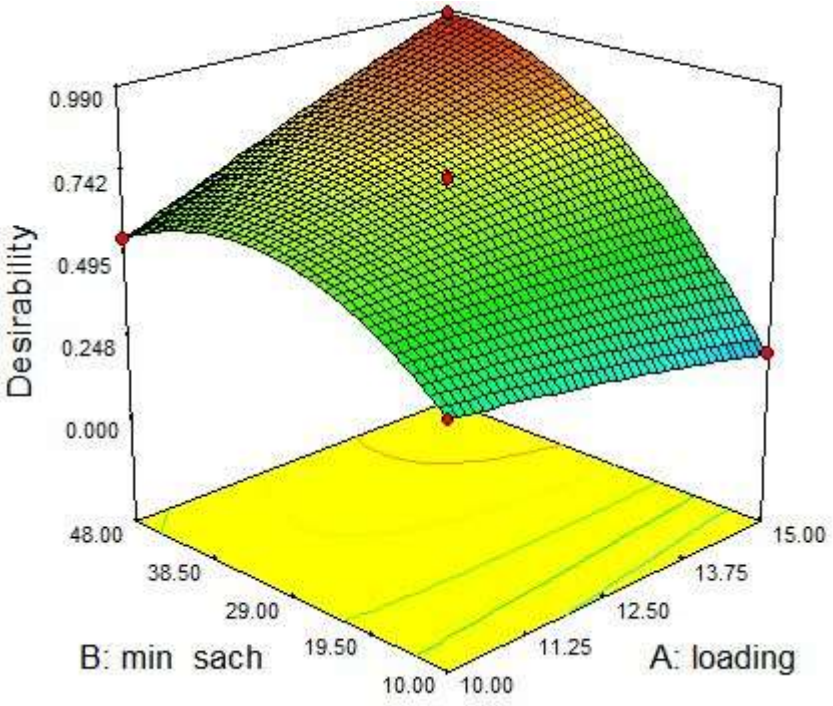
جدول ۱ طرح آزمایش با 2 فاکتور و۱ سطح برای مطالعه سطح پاسخ هیدرولیز آنزیمی

Table 1. Experiment design with 2 factors and 1 level for studying the level of enzymatic hydrolysis response

Glucose concentration (g/l)	loading (g/l)	Saccharification time (h)	Number experiment
60.01	89.6	29	1
73.33	160.4	29	2
69.45	125	29	3
73.82	125	29	4
48.92	100	10	5
70.2	125	29	6
21.6	125	2.13	۷
65.76	125	55.87	۸
61.23	125	29	۹
74.43	125	29	۱۰
35.64	150	10	۱۱
60.23	100	48	۱۲
88.34	150	48	۱۳

یازدهمین کنگره ملی مهندسی مکانیک بیوسیستم (ماشین های کشاورزی) و مکانیزاسیون ایران

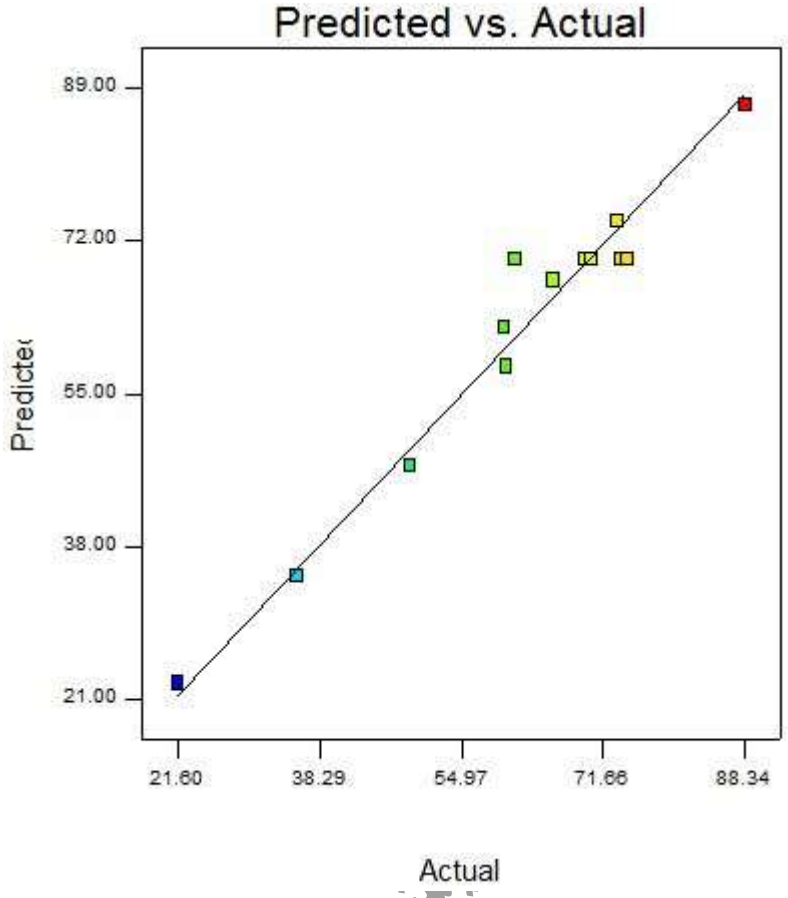
با توجه به داده های به دست آمده از طریق آزمایش و شکل ۱، با افزایش زمان میزان گلوکوز تولیدی روندی افزایشی داشته و در مقابل با افزایش میزان بارگزاری روند افزایشی مطلوبی مشاهده نشده است.



شکل ۱ اثر دوپارامتر زمان ساکاریفیکاسیون و بارگزاری اولیه برمیزان گلوکوز تولیدی

Figure 1 The effect of two parameters of saccharification and initial loading in the production of glucose

یازدهمین کنگره ملی مهندسی مکانیک بیوسیستم (ماشین‌های کشاورزی) و مکانیزاسیون ایران



شکل ۲ مقادیر پیش بینی شده توسط مدل در مقابل مقادیر واقعی برای غلظت گلوکوز در هیدرولیز آنزیمی.

Figure 2 shows the predicted values of the model versus actual values for glucose concentration in enzymatic hydrolysis.

۴- نتیجه‌گیری

هیدرولیز آنزیمی که ضایعات نان را به قندهای قابل تخمیر تبدیل می کند ممکن است به علت اثرات مربوط به ماده یا آنزیم و برهمکنش های آنها، پیچیده ترین مرحله در فرآیند تولید بیواتانول باشد و به وضوح مشخص شده است که هیدرولیز به قندهای کاهنده یکی از فاکتورهای تعیین کننده تأثیرگذار بر هزینه تولید بیواتانول می باشد. در این مقاله مناسب ترین شرایط برای هیدرولیز آنزیمی ضایعات نان مورد بررسی قرار گرفته است. چندین سوسپانسیون نان و آب مقطر با درصدهای مختلف ایجاد شد. مطابق با نتایج تحلیل نرم افزار ۱۵۰ گرم برلیتر مناسب ترین غلظت نان و ۴۸ ساعت مناسب ترین زمان برای ساکاریفیکاسیون در هیدرولیز است. که میزان گلوکوز تولیدی در این شرایط 88.34 گرم برلیتر می باشد.

یازدهمین کنگره ملی ماشین‌های کشاورزی و مکانیزاسیون ایران

۵- مراجع

ترابی، س. حسن بیگی، ر. ۱۳۹۷. مروری براستفاده ازضایعات نان در تولید سوخت بیواتانول. دومین کنفرانس ملی زیرساخت های انرژی، مهندسی برق و نانوفناوری. تهران.

Battista, F., Fino, D., Mancini, G., 2016a. Optimization of the biogas production from coffee production waste. Bioresour. Technol. 200, 884–890.

EBRAHIMI, F., KHANAHMADI, M., ROODPEYMA, S. and TAHERZADEH, M. 2008. Ethanol production from bread residues. Biomass and Bioenergy, 32(4): 333–337.

Koutinas, A.A., Wang, R., Webb, C., 2007. The biochemurgist Bioconversion of agricultural raw materials for chemical produc tion. Biofuels, Bioprod. Biorefin. 1, 24-38.

LEUNG, C., CHEUNG, A., ZHANG, A., LAM, K. and LIN, C. 2012. Utilisation of waste bread for fermentative succinic acid production. Biochemical Engineering Journal, 65: 10–15.

PIETRZAK, W. and KAWA-RYGIELSKA, J. 2014. Ethanol fermentation of waste bread using granular starch hydrolyzing enzyme. Fuel, 134: 250–256.

Wang, R., Shaarani, S.M., Casas Godoy, L., Melikoglu, M., Sola Vergara, C., Koutinas, A., Webb, C., 2010. Bioconversion of rape seed meal for the production of a generic microbial feedstock. Enzyme. Microb. Technol. 47, 77-83

Webb, C., Wang, R., 1997. Development of a generic fermentation feedstock from whole wheat flour. In: Campbell, G.M., Webb, C., McKee, S.L. (Eds.), Cereals: Novel Uses and Processes. Plenum Press, New York, pp 205-218.

یازدهمین کنگره ملی مهندسی مکانیک بیوسیستم (ماشین‌های کشاورزی) و مکانیزاسیون ایران