

کنترل عوامل بازدارنده در پالایشگاه زیستی مغز باگاس

نیلوفر داودی پهنه کلایی^۱، اسماعیل رسولی گرمارودی^{۲*}، امید رضانی^۳ و سپیده حامدی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی پالایش زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، پردیس زیرآب، سوادکوه، مازندران، ایران

۲* - نویسنده مسئول، استادیار، گروه مهندسی پالایش زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، پردیس زیرآب، سوادکوه، مازندران، ایران،

پست الکترونیک: e_rasooly@sbu.ac.ir

۳- استادیار، گروه مهندسی پالایش زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، پردیس زیرآب، سوادکوه، مازندران، ایران

۴- استادیار، گروه مهندسی پالایش زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، پردیس زیرآب، سوادکوه، مازندران، ایران

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۷

چکیده

در این تحقیق، برای کنترل عوامل بازدارنده در پالایشگاه زیستی، مغز باگاس ابتدا تحت تأثیر هیدرولیز اسیدی رقیق با شرایط ۸٪ اسیدسولفوریک، ۹۰ دقیقه و در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد پیش‌تیمار گردید. سپس، با استفاده از روش‌های سم‌زدایی اورلایمینگ، کربن فعال و تلفیق دو روش نسبت به حذف عوامل بازدارنده از محلول هیدرولیز به‌دست‌آمده از پیش‌تیمار فوق اقدام شد. در روش اورلایمینگ از هیدروکسید کلسیم و اسیدسولفوریک، در روش کربن فعال از کربن فعال در سه سطح (۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵٪) و در روش تلفیقی از ترکیب مواد دو روش استفاده شد. پس از تیمار اسیدی و هریک از روش‌های سم‌زدایی بازده قندها احیا شده و نیز مقادیر عوامل بازدارنده فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال موجود در محلول هیدرولیز، به‌عنوان دو شاخص مهم اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که اعمال روش‌های فوق بر روی محلول هیدرولیز باعث افزایش بازده قندهای احیا شده می‌شود، به‌طوری‌که بیشترین بازده قند (بیشتر از ۳۲) پس از روش مستقل اورلایمینگ حاصل شد. بعلاوه، در اعمال روش‌های مستقل کربن فعال و تلفیقی (اورلایمینگ و کربن فعال) میزان بهینه مصرف کربن فعال به‌ترتیب ۲/۵٪ و ۱/۵٪ بود. بررسی عوامل بازدارنده در محلول هیدرولیز نشان داد که فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال حداکثر جذب خود را در طول‌موج‌های ۲۷۶ و ۲۸۲ نانومتر داشتند. همچنین، روش تلفیقی اورلایمینگ با ۲/۵٪ کربن فعال به‌عنوان بهترین روش توانست تا ۱۰۰٪ عوامل بازدارنده را حذف نماید. از سویی روش مستقل اورلایمینگ با حذف بیش از ۹۰٪ عوامل بازدارنده، از بیشترین بازده قند نیز برخوردار بود. از این‌رو، با در نظر گرفتن توأمان میزان بازده قند و حذف عوامل بازدارنده، می‌توان دو گزینه مستقل اورلایمینگ و تلفیقی اورلایمینگ با ۲/۵٪ کربن فعال را برای تولید محصولات زیست پایه مانند بیواتانول، زایلیتول و ... از مغز باگاس پیشنهاد داد.

واژه‌های کلیدی: پالایشگاه زیستی، مغز باگاس، عوامل بازدارنده، فورفورال، هیدروکسی متیل فورفورال، هیدرولیز اسیدی.

مقدمه

می‌شوند (Zhang et al., 2007). از میان منابع مختلف ماده اولیه، پسماندهای کشاورزی مانند باگاس به دلیل عدم کاربرد در مصارف غذایی (زنجیره غذایی انسان) و داشتن

مواد لیگنوسلولزی، فراوانترین نوع زیست‌توده می‌باشد که سالانه حدود ۲۰۰ میلیارد تن در سراسر جهان تولید

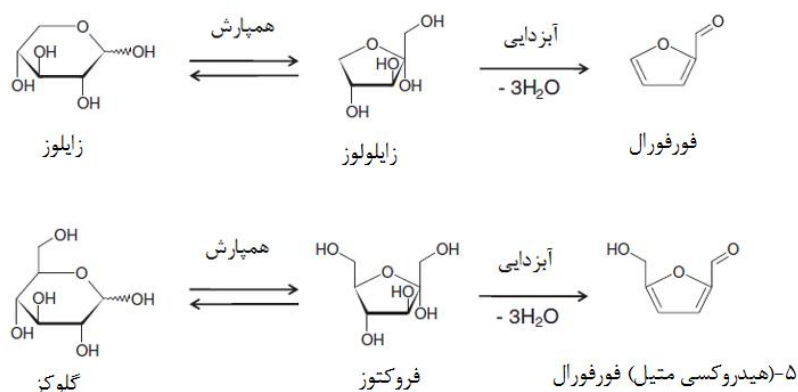
نموده، به طوری که فرایند تخمیر بعدی (تبدیل قند به محصولات دیگر) را تحت تأثیر قرار داده و بازده آنها را پائین می آورد. این سموم در حقیقت شامل ترکیبات فنلی، ترکیبات آروماتیک، اسید استیک، فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال می باشند (Cavka & Jönsson, 2013; Jönsson & Martín, 2016). از میان موارد مذکور، عمدتاً دو ترکیب فورفورال که از آبزدایی قندهای ۵ کربنه و هیدروکسی متیل فورفورال که از آبزدایی قندهای ۶ کربنه تولید می شوند غلظت قابل توجهی داشته و در زمان عملیات تخمیر به عنوان سمیت برای مخمرها مطرح می شوند (Kim, 2018). در شرایط اسیدی و به ویژه در دمای بالا ۲- فورفورالدئید (فورفورال) عموماً از پنتوزها و ۵- (هیدروکسی متیل)-۲- فورفورالدئید (HMF) به راحتی از هگزوزها تشکیل می شوند (Chi et al., 2009). شکل الف سازوکار تشکیل فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال را نشان می دهد.

عوامل بازدارنده بالا، می توانند اثرهای نامطلوبی را بر روی فرایندهای بعدی تولید محصولات زیستی مانند تخمیر، تخلیص و ... بجا بگذارند که لازم است راهکارهایی برای کاهش یا حذف این عوامل از محلول هیدرولیز به دست آمده مورد استفاده قرار گیرند. در این مورد می توان به تیمار محلول هیدرولیز با آهک، کربن فعال، رزین های آنیونی، آنزیم ها (Vallejos et al., 2016) و یا تیمار با دی تیونیت و سولفیت (Alriksson et al., 2011) اشاره نمود.

Vallejos و همکارانش (۲۰۱۶) در تحقیقی مبتنی بر راهبردهای سمزدایی و تخمیر برای تولید زایلیتول از باگاس نیشکر انجام دادند که روش های سمزدایی شامل استفاده از Ca(OH)_2 ، کربن فعال، رزین IR-120 و رزین IRA-67 بود که روش های اول و دوم برای حذف فورفورال و HMF، روش سوم برای حذف یون کلسیم و روش چهارم برای حذف اسید استیک می باشد. نتایج این کار نشان داد که روش اول و تلفیق روش اول و دوم در حذف فورفورال به ترتیب ۳۵ و ۸۱ درصد و در حذف HMF به ترتیب ۱۸ و ۱۰۰ درصد کارایی داشته اند.

کاربرد صنعتی در تولید کاغذ، محصولات پانلی و ... جزء اصلی ترین منابع تأمین مواد لیگنوسلولزی محسوب می شوند (Inoe et al., 2008). بخش سلول های پارانشیمی باگاس (۳۵٪-۳۰) که مغز (pith) نامیده می شود، ماهیت غیر فیبری داشته و سرشار از مواد قندی و استخراجی است که در صورت حضور به عنوان ماده اولیه کاغذسازی، منجر به مشکلات زیادی در فرایند تولید کاغذ می شود که از جمله می توان به مصرف زیاد مواد شیمیایی در پخت و رنگبری، افزایش تولید کف، افزایش هزینه حمل و نقل و ذخیره سازی، کیفیت پایین خمیر و کاغذ، ویژگی های ضعیف مایع پخت سیاه، کاهش میزان آبگیری در ماشین کاغذ و دیگر اثرهای منفی زیست محیطی اشاره کرد (Lois-Correa, 2012). از این رو، کارخانجات کاغذسازی سعی بر آن دارند تا حد امکان مغز را از مجموعه باگاس جدا نموده تا مضرات آن را به حداقل برسانند. در حال حاضر در کشور ما، این پسماند تنها به مصرف خوراک دام می رسد و یا برای تأمین انرژی گرمایی سوزانده می شود. این در حالی است که مغز باگاس به دلیل دارا بودن بیش از ۷۰٪ کربوهیدرات در ساختار شیمیایی خود، می تواند به عنوان یک منبع بالقوه برای تولید فراورده های با ارزش افزوده بیشتر مانند سوخت های زیستی و مواد شیمیایی زیست پایه مورد استفاده قرار گیرد (Jain, 2011). بررسی مقدار و نوع ترکیبات شیمیایی موجود در الیاف و مغز باگاس نشان می دهد که مغز باگاس دارای مقادیر زیادی پنتوزان می باشد که به عنوان یک قند ۵ کربنه و بر اساس مفهوم پالایش زیستی می تواند قابلیت بالقوه دیگری برای تولید بیواتانول و سایر مواد زیست پایه باشد (Sanjuan et al., 2001).

در پالایشگاه زیستی و به دلیل دستیابی به قندهای موجود در مواد لیگنوسلولزی، قبل از فرایند تخمیر و تولید محصول نهایی لازم است پیش تیمارهایی مانند فیزیکی، شیمیایی، بیولوژیکی و ... بر روی زیست توده انجام شود (Agbor et al., 2011). در این راستا، در طی برخی پیش تیمارهای شیمیایی مانند هیدرولیز اسیدی، ترکیب پیچیده ای از مواد بوجود می آیند که در سیستم ایجاد سمیت



شکل الف- سازوکار تشکیل فورفورال و ۵- (هیدروکسی متیل) فورفورال (Takagaki et al., 2010)

مواد و روش‌ها

پسماند مغز باگاس، به‌عنوان ماده اولیه از کارخانه کاغذسازی پارس واقع در هفت تپه استان خوزستان، با رطوبت ۱۰٪ تهیه و پس از شستشو، در هوای آزاد خشک گردید. فنول ذوب شده از شرکت Applichem آلمان و سایر مواد مصرفی از شرکت مرک آلمان تهیه شد. هیدرولیز اسیدی: براساس مطالعات قبلی (Jain, 2011)، هیدرولیز اسیدی در شرایط ۸٪ اسیدسولفوریک، ۹۰ دقیقه و در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد در دایجستر دو مخزنی ساخت داخل انجام شد. پس از انجام عمل هیدرولیز، محتوای داخل دایجستر به وسیله پمپ خلأ به دو بخش جامد (تفاله به جا مانده از مغز باگاس) و مایع (محلول هیدرولیز) جداسازی شد. براساس روش مورد استفاده و مطالعات قبلی (Lavarack et al., 2002; Karimi, 2016) (Aghchek et al., 2016) محلول هیدرولیز حاصل سرشار از قند زایلوز می‌باشد. از این رو، در ادامه بازده قند محلول هیدرولیز اسیدی با روش DNS^۲ مورد ارزیابی قرار گرفت (Miller, 1954).

سم‌زدایی محلول هیدرولیز باگاس

دو تکنیک اورلایمینگ و کربن فعال به صورت مستقل و

Chi و همکاران (۲۰۰۹) بر روی تعیین فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال تولید شده از زیست‌توده در شرایط اسیدی را مطالعه کردند. آنان روشی سریع برای تعیین همزمان فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) در فیلتراسیون محلول اسیدی زیست‌توده بر اساس اسپکتروفتومتر UV طراحی کرده و گزارش نمودند که حداکثر جذب فورفورال و HMF به ترتیب در محدوده طول‌موج‌های ۲۷۷ و ۲۸۵ نانومتر است.

Rao و همکاران (۲۰۰۶) در تحقیقی مبتنی بر تولید زایلیتول از الیاف ساقه ذرت و باگاس نیشکر به روش تخمیر با مخمر *کاندیدای تروپیکالیس*^۱ انجام دادند که محلول هیدرولیز حاوی زایلوز، به روش جذب با کربن فعال و رزینهای تبادلگر یونی سم‌زدایی و عوامل بازدارنده با موفقیت حذف شدند.

با توجه به نکات عنوان شده، این پژوهش می‌کوشد تا موفقیت دو روش اورلایمینگ و جذب با کربن فعال را به‌عنوان راهبردهای متداول و در دسترس برای یکی از پسماندهای بزرگ صنعت تولید منابع نیشکر اعلام کند؛ همچنین با حذف و کنترل عوامل بازدارنده در جهت تسریع حصول به محصولات با ارزش افزوده بالا گام بردارد.

پس از اعمال روش‌های جذب، اورلایمینگ و تلفیقی، ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و طیف جذب نمونه‌های رقیق شده در محدوده طول‌موج ۳۵۰-۲۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه UV-Vis اسکن شد.

به منظور بررسی کمی عوامل بازدارنده، شدت جذب نمونه‌های اورلایمینگ، کربن فعال و تلفیقی پس از رقیق‌سازی در طول‌موج‌های ۲۷۶ و ۲۸۲ نانومتر که به ترتیب مشخصه‌های وجود فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال هستند، اندازه‌گیری شد.

ابتدا محلول‌های استاندارد فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال به صورت جداگانه در محدوده غلظت mmol/L ۰/۱-۰/۱ تهیه شدند. سپس شدت جذب محلول‌های استاندارد هر دو ماده فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در دو طول‌موج ۲۷۷ و ۲۸۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Chi et al., 2009).

در مرحله بعد کربن فعال ۲/۵٪ به میزان ۰/۲۵ گرم به محلول‌های استاندارد فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال تهیه شده در مرحله بالا اضافه شده و ظروف حاوی محلول‌ها به مدت ۵ دقیقه درون حمام آب با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها در معرض سانتریفیوژ با دور 2000g به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفته و روماندها جدا شدند. در پایان، شدت‌های جذب روماندها در دو طول‌موج ۲۷۷ و ۲۸۵ نانومتر اندازه‌گیری شده و به‌عنوان نمونه بلانک در محاسبه کمی عوامل بازدارنده یادشده استفاده گردید.

نتایج

نتایج ارائه شده در شکل ۱، نشان می‌دهد که بازده اولیه قند در محلول هیدرولیز به‌دست‌آمده از هیدرولیز اسیدی ۱۹/۹۴٪ می‌باشد. Jain و همکاران (۲۰۱۱) با پیش‌تیمار اسیدی مغز باگاس با شرایط بهینه دما (۱۲۰ درجه سانتی‌گراد)، غلظت اسید (۸٪) و زمان (۹۰ دقیقه)، بیشترین بازده قند را برابر ۳۸٪ گزارش کردند. همچنین، اثر سم‌زدایی تقریباً در بیشتر موارد باعث افزایش بازده قند گردیده است.

تلفیقی به دلیل سهولت انجام، سرعت عمل و ارزان‌قیمت بودن برای سم‌زدایی مورد استفاده قرار گرفت (Vallejos et al., 2006; Marton et al., 2016).

روش اورلایمینگ (Overliming): ابتدا pH محلول هیدرولیز را توسط Ca(OH)_2 در دمای ۶۰ درجه به ۱۰ و در ادامه پس از عبور از پمپ خلأ، محلول نارنجی رنگ یکدستی به‌دست آمد که pH آن توسط H_2SO_4 به ۵/۵ رسانده شد. سپس محلول تا دمای اتاق خنک شد و در سانتریفیوژ با دور 2000g بمدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت تا رسوبات آن خارج شود (Converti et al., 2000). آنگاه بازده قند موجود در آن به روش DNS تعیین گردید.

روش جذب با کربن فعال: ابتدا pH محلول هیدرولیز که در حدود کمتر از ۱ بود توسط Ca(OH)_2 در دمای ۶۰ درجه به ۵/۵ و در ادامه پس از عبور از کاغذ صافی، محلول زرد رنگ کدوری به‌دست آمد که در ۳ فالكون به حجم مساوی ریخته شد و متناسب با آن، درصد‌های کربن فعال به ترتیب ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵٪ به آنها اضافه شد. سپس به مدت یک ساعت در داخل شیکر انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و 200 rpm گذاشته و پس از آن محلول‌های حاوی کربن فعال در سانتریفیوژ با گرانش ۲۰۰۰g بمدت ۲۰ دقیقه قرار گرفته تا کربن فعال آنها جدا شود (Sene et al., 2000). سپس بازده قند با استفاده از روش DNS اندازه‌گیری شد.

روش تلفیقی Overliming و جذب با کربن فعال نیز با تلفیق دو روش قبل انجام و بعد بازده قند به روش DNS اندازه‌گیری شد.

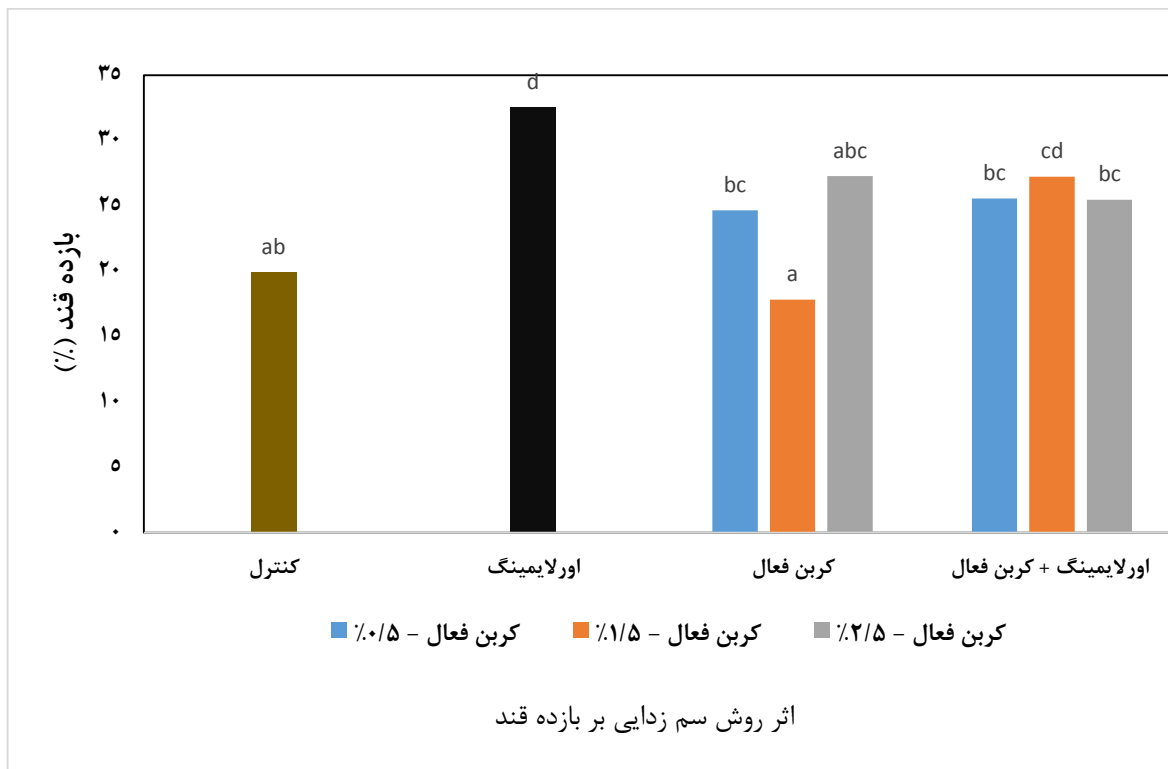
اندازه‌گیری عوامل بازدارنده با دستگاه طیف‌سنج نور مرئی- ماوراء بنفش (UV-Vis)

وجود عوامل بازدارنده فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال به ظهور باند جذب به ترتیب در طول‌موج‌های ۲۷۶ و ۲۸۲ نانومتر مربوط می‌شوند (Chi et al., 2009; Zhang et al., 2013).

به منظور بررسی کیفی کاهش عوامل بازدارنده در نمونه‌ها

بازدارنده بسیار خوب عمل نموده، به طوری که توانسته بطور معنی داری بازده قند را بیش از ۶۵ درصد افزایش دهد.

به طوری که به تنهایی با اعمال روش اورلایمینگ بیشترین بازده قند حدود ۳۲/۵۴۸ درصد حاصل شده است. این موضوع نشان می دهد که این روش در جذب عوامل



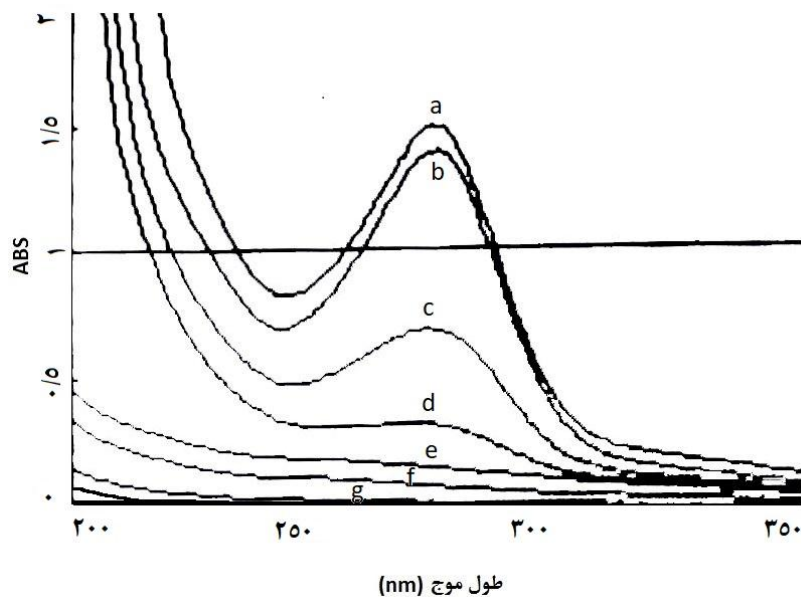
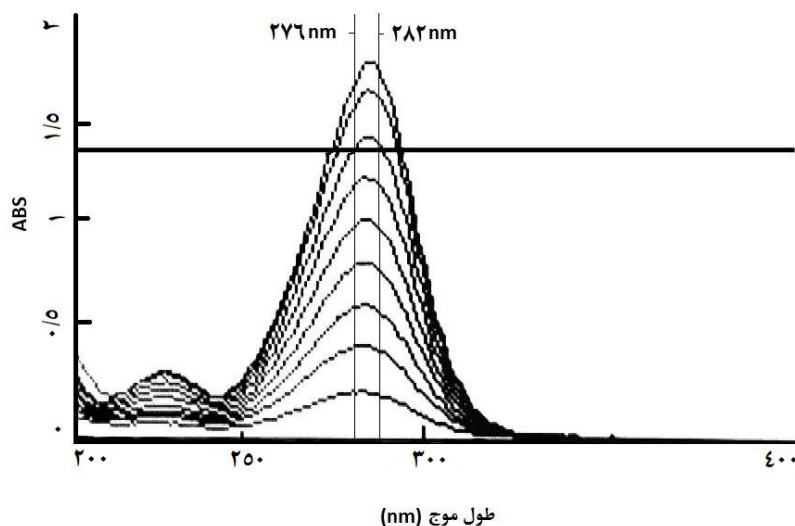
شکل ۱- اثر روش های مختلف سم زدایی محلول هیدرولیز بر بازده قند

محلول حاوی ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ درصد کربن فعال به ترتیب ۲۵/۵۶، ۲۷/۲۴ و ۲۵/۴۷ درصد به دست آمد که حکایت از افزایش بازده قند به ترتیب برابر ۲۸/۸، ۳۶/۶ و ۲۷/۷۳ درصد نسبت به نمونه کنترل دارد. این یافته ها نشان می دهد در صورت استفاده از روش تلفیقی گزینه مناسب استفاده از ۱/۵ درصد کربن فعال می باشد.

طیف های UV-Vis محلول استاندارد فورفورال و HMF قبل و بعد از کاهش با کربن فعال در غلظت های مختلف به ترتیب در شکل ۲ نشان داده شده اند. همان طور که مشاهده می شود، حداکثر جذب فورفورال و HMF به ترتیب در طول موج های ۲۷۶ و ۲۸۲ نانومتر می باشد. البته هر دو حداکثر جذب به طور کامل پس از کاهش با کربن فعال

همچنین، در بخش سم زدایی تنها با کربن فعال نیز مشاهده می شود که بازده قند برای محلول های حاوی ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ درصد کربن فعال، به ترتیب ۲۴/۶۶، ۱۷/۸۲ و ۲۷/۲۷ درصد به دست آمد که به ترتیب نسبت به نمونه کنترل برای کربن فعال ۰/۵ و ۱/۵ برابر ۲۳/۶۷ و ۳۶/۷۶ درصد افزایش و برای نمونه ۱/۵ درصد کربن فعال حدود ۱۰ درصد کاهش در بازده قند رخ داده است. هرچند بین این نتایج و نتایج به دست آمده در نمونه کنترل اختلاف معنی دار آماری وجود ندارد، این نتایج بیانگر آن است که در صورت استفاده از کربن فعال به تنهایی برای سم زدایی محلول هیدرولیز میزان ۲/۵ درصد مناسب تر می باشد. بعلاوه، در تلفیق روش های اورلایمینگ و کربن فعال، بازده قند برای

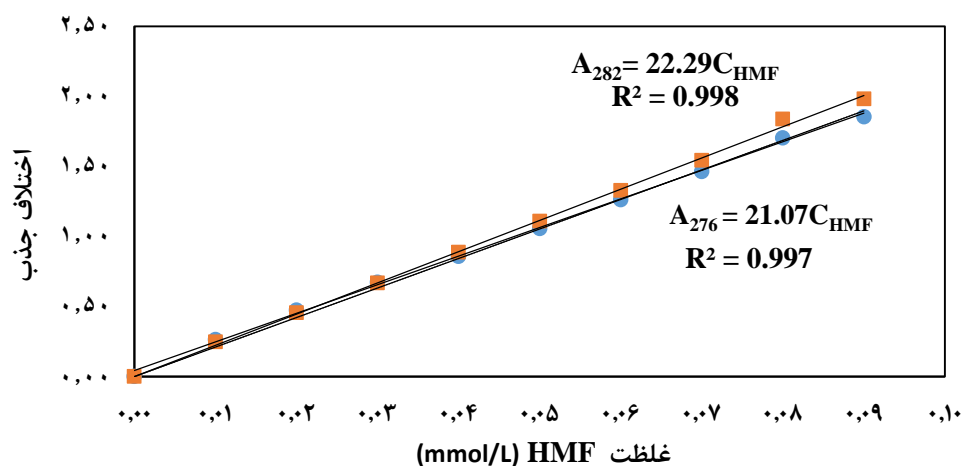
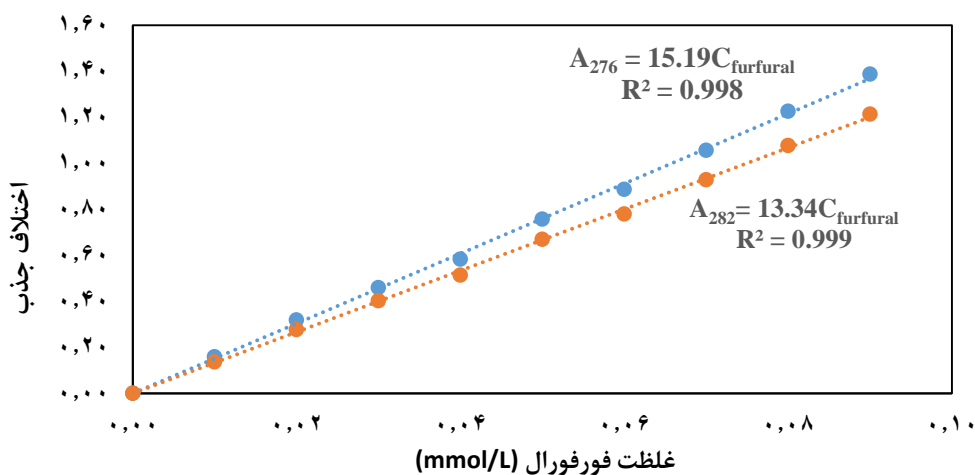
ناپدید شد؛ بنابراین، مقدار فورفورال یا HMF را می‌توان از اختلاف جذب قبل و بعد از کاهش (ΔA) در هر دو طول موج و با مدنظر قرار دادن منحنی‌های استاندارد این دو ترکیب محاسبه کرد.



شکل ۲- طیف فورفورال و HMF قبل (بالا) و بعد (پائین) از جذب با کربن فعال

هر خط مستقیم، ضریب جذب مولار (ΔE) ترکیب در طول موج مدنظر است؛ بنابراین، برای فورفورال $\Delta E_{276} = 15,190 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ و $\Delta E_{282} = 13,340 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ می‌باشد. درحالی‌که اعداد مربوطه برای HMF $\Delta E_{276} = 21,070 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ و $\Delta E_{282} = 22,290 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ است.

ΔA به‌عنوان تابع غلظت‌های مختلف در هر دو طول موج برای فورفورال و HMF در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که در هر دو شکل دیده می‌شود، رابطه خطی عالی برای هر دو ترکیب در هر دو طول موج (ΔA_{276} و ΔA_{282}) وجود دارد که به‌عنوان قانون بیر-لامبرت معرفی می‌شود.



شکل ۳- منحنی استاندارد فورفورال و HMF

$$\Delta A_{282} = 22.29 C_{HMF} + 13.34 C_{Furfural} \quad (2)$$

بر اساس قانون بیر-لامبرت، به منظور تعیین میزان ترکیبات فورفورال و HMF در محلول هیدرولیز (شامل هر دو ترکیب) از معادلات ۱ و ۲ استفاده شده است.

که با قرار دادن اختلاف جذب در معادلات فوق و حل دو معادله دو مجهولی، غلظت‌های فورفورال و HMF به صورت جدول شماره ۱ محاسبه گردید.

$$\Delta A_{276} = 21.07 C_{HMF} + 15.19 C_{Furfural} \quad (1)$$

جدول ۱- اثر روش‌های تیمار محلول هیدرولیز اسیدی بر کنترل غلظت عوامل بازدارنده

نمونه‌ها	غلظت فورفورال (mmol/l)	غلظت هیدروکسی متیل فورفورال (mmol/l)	مجموع غلظت فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال (mmol/l)
کنترل	۱۷/۲۰۲	۰	۱۷/۲۰۲
OL	۰/۹۳۳	۰/۶۷	۱/۶۰۳
AC. 0.5%	---	---	---
AC. 1.5%	۴/۳۴۴	۱/۲۰۶	۵/۵۵
AC. 2.5%	۰/۸۲	۱/۹۰۶	۲/۷۲۶
OL- AC. 0.5%	۰/۶۹۱	۰	۰/۶۹۱
OL- AC. 1.5%	۰/۰۸۶	۰/۰۴۸	۰/۱۳۴
OL- AC. 2.5%	۰	۰	۰

AC: کربن فعال؛ OL: اورلایمینگ؛ OL-AC: تلفیق اورلایمینگ و کربن فعال

بحث

این تحقیق به منظور بررسی روش‌های کنترل عوامل بازدارنده در پالایشگاه زیستی مغز باگاس انجام شد که نتایج زیر را در پی داشته است. اثر استفاده از روش‌های سم‌زدایی به منظور کنترل عوامل بازدارنده تقریباً در بیشتر موارد باعث افزایش بازده قند در محلول هیدرولیز اسیدی می‌گردد، به طوری که در این میان روش مستقل اورلایمینگ در جذب عوامل بازدارنده به خوبی عمل نموده و بیشترین بازده قند به دست می‌آید. در صورت استفاده از تیمار مستقل کربن فعال برای سم‌زدایی محلول هیدرولیز میزان ۲/۵ درصد مصرف آن مناسب‌تر است. تیمار اسیدی در کنار تجزیه پلی‌ساکاریدها و تبدیل آنها به قند، باعث تبدیل برخی از قندها به عوامل بازدارنده‌ای می‌شود که از بازده قند در محلول هیدرولیز می‌کاهد. استفاده از روش سم‌زدایی در حقیقت با جذب این عوامل بازدارنده و خروج آنها باعث افزایش نسبت قندها در محلول هیدرولیز اسیدی می‌گردد. به عبارت دیگر با این کار غلظت قندها زیاد می‌شود که می‌توان انتظار داشت محصول نهایی بیشتری نیز از این محلول سم‌زدایی شده به دست بیاید. شایان ذکر است که استفاده از $\text{Ca}(\text{OH})_2$ در روش اورلایمینگ در ابتدا به حذف H_2SO_4 موجود در محلول هیدرولیز کمک

نموده و تا حدی نیز باعث کاهش مقادیر فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال و سایر عوامل بازدارنده می‌شود که این موضوع به صورت رسوب آهک در محلول هیدرولیز درمی‌آید که با صاف کردن از محلول هیدرولیز خارج شده و بدین وسیله بازده قند در این تحقیق بیش از ۶۵٪ زیاد شده است. همچنین استفاده از کربن فعال به تنهایی در روش سم‌زدایی اساساً باعث کاهش عوامل بازدارنده یادشده و برخی دیگر از این عوامل در محلول هیدرولیز می‌شود. این موضوع نیز به دلیل برهم‌کنش‌هایی است که در pH پائین بین کربن فعال و عوامل موردنظر رخ می‌دهد و باعث خروج آنها و در نهایت افزایش بازده قند در محلول هیدرولیز می‌گردد که در اینجا با افزایش مقدار مصرف کربن فعال میزان خروج عوامل بازدارنده افزایش و از سوی دیگر بازده قند موجود در آن بیش از ۳۶ درصد افزایش می‌یابد. بعلاوه، با استفاده از روش تلفیقی، با افزایش قابل توجه قند نسبت به نمونه کنترل، مقادیر عوامل بازدارنده به صورت ۱۰۰٪ حذف می‌گردد. در این مورد نتایج تحقیقات Kamal و همکاران (۲۰۱۱) با پیش تیمار اسیدی محلول هیدرولیز ساقه نخل ساگو با شرایط اسیدسولفوریک ۸٪ در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه به بازده قند حدود ۲۱٪ دست یافتند و این مقدار بعد از افزودن کربن فعال

۲/۵٪ با شرایط مشابه با ۴٪ کاهش و به میزان ۱۷٪ رسید. همچنین، در صورت استفاده از روش تلفیقی، گزینه مناسب استفاده از ۱/۵٪ کربن فعال می‌باشد. شفیع و همکاران در سال ۱۳۹۴ با پیش تیمار اسیدی مغز باگاس با شرایط مشابه، بعد از یک مرحله استخراج زایلان به بازده قند حدود ۵۰ گرم بر لیتر دست یافتند. همچنین بعد از افزودن کربن فعال، حدود ۸ برابر از میزان قند تولید شده کاسته شد و به ۷/۳۵۷ گرم بر لیتر رسید. بررسی وضعیت نمودارهای مختلف در شکل ۲ نشان می‌دهد که بهترین روش در سم‌زدایی محلول هیدرولیز قندی روش اورلایمینگ می‌باشد.

در بررسی کنترل عوامل بازدارنده مشخص گردید که فورفورال و HMF حداکثر جذب خود را در طول موج‌های ۲۷۶ و ۲۸۲ نانومتر دارند و در تأیید تحقیقات گذشته، رابطه خطی ممتازی برای هر دو ترکیب در هر دو طول موج وجود دارد (شکل‌های ۲ و ۳). Chi و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی میزان فورفورال و HMF در محلول هیدرولیز حاصل از پیش تیمار اسیدی خرده چوب‌های سوزنی‌برگ و پهن‌برگ، قبل و بعد از احیا با NaBH_4 ، نتیجه گرفتند که بیشترین جذب فورفورال و HMF در طول موج‌های ۲۷۷ و ۲۸۵ نانومتر قبل از احیا بوده است و پس از احیا با حذف عوامل بازدارنده فوق هیچ باند جذبی یافت نشد. پس از تیمار اسیدی مقادیر بازدارنده‌های فورانی فقط به صورت فورفورال بوده و حاوی HMF نمی‌باشد (جدول ۱). Li و همکاران (۲۰۱۴) در پیش تیمار اسیدی بامبو با اسیدهای سولفوریک، تلفیق اسیدسولفوریک و اسید بوریک، اسید اگزالیک، اسید فرمیک، اسید استیک و تلفیق اسید استیک و سولفیت سدیم گزارش کردند که عمده عوامل بازدارنده در تیمار اسیدسولفوریک تولید شده، به طوری که بیشترین موارد به ترتیب مربوط به تولید فورفورال، اسید استیک و اسید فرمیک می‌باشد و سایر عوامل شامل HMF و لوولینیک اسید به مقدار کمتری تولید می‌شوند. البته با انجام تیمار اورلایمینگ در این مطالعه، بیش از ۹۰٪ از مجموع عوامل بازدارنده در محلول هیدرولیز حذف می‌شوند (فورفورال ۹۴٪ کاهش + HMF ۶۷٪ افزایش). Alriksson و همکاران

(۲۰۱۱) در سم‌زدایی محلول هیدرولیز ناشی از پیش تیمار اسیدی باگاس و نوئل به روش اورلایمینگ توانسته‌اند همه عوامل بازدارنده را تقریباً تا بیش از ۵۰٪ و اسید استیک را تا ۴۰ درصد کاهش دهند. استفاده از کربن فعال در کنترل عوامل بازدارنده محلول هیدرولیز در این پژوهش اثر مثبت فاحشی داشته، به طوری که با به کارگیری ۱/۵ و ۲/۵ درصد کربن فعال به ترتیب بیش از ۶۷٪ (فورفورال ۷۴٪ کاهش + HMF ۱۲٪ افزایش) و ۸۴٪ از مجموع عوامل بازدارنده کاسته می‌شود (فورفورال ۹۵٪ کاهش + HMF ۱۹۰٪ افزایش). هنگامی که روش‌های کنترل به صورت تلفیقی به شکل OL- AC. 0.5%، OL- AC. 1.5% و OL- AC. 2.5% بکار گرفته می‌شوند به ترتیب ۹۶٪ (فورفورال ۹۵٪ کاهش + HMF ۹۹٪ بدون تغییر)، ۱۰۰٪ (فورفورال ۹۹/۵٪ کاهش + HMF ۴/۸٪ افزایش) و ۱۰۰٪ از مجموع عوامل بازدارنده حذف می‌شود. Mussatto و Roberto (۲۰۰۱) در سم‌زدایی از محلول هیدرولیز پیش تیمار اسیدی کلش برنج با استفاده از روش اورلایمینگ توانستند تا ۱۸ درصد از عوامل بازدارنده را خارج سازند. بعلاوه، پژوهشگران فوق در روش تلفیقی سم‌زدایی اورلایمینگ به همراه کربن فعال با نسبت ۷۵-۱۵ درصد توانستند عوامل بازدارنده را از ۴۰۰ g/g به ۱۰ g/g کاهش دهند که دلیل آن را تقویت رسوب عوامل بازدارنده فوق که عمدتاً شامل ترکیبات فنلی بوده‌اند، ذکر کرده‌اند.

بررسی نتایج مربوط به تیمار محلول هیدرولیز در روش‌های مختلف این تحقیق بیانگر آن است که روش تلفیقی OL- AC. 2.5% بهترین گزینه از نظر حذف عوامل بازدارنده می‌باشد. همچنین با در نظر گرفتن بازده قند احیا شده پس از هر روش، تیمار مستقل اورلایمینگ گزینه مناسب برای حذف عوامل بازدارنده در محلول هیدرولیز اسیدی حاصل از مغز باگاس می‌باشد؛ بنابراین، با در نظر گرفتن توأمان میزان بازده قند و حذف عوامل بازدارنده می‌توان دو گزینه مستقل اورلایمینگ و تلفیقی OL- AC. 2.5% را برای تولید محصولات زیست‌پایه مانند بیواتانول، زایلیتول و ... از مغز باگاس پیشنهاد داد.

منابع مورد استفاده

- Preparation of Sugarcane Bagasse Fibers in Pulp and Paper Industry. *Ingenieria Investigacion y Tecnologia*, 8(4): 417-424.
- Marton, J. M., Felipe, M. G. A., Almeida e Silva, J. B. and Pessoa Júnior, A., 2006. Evaluation of the Activated Charcoals and Adsorption Conditions Used in The Treatment of Sugarcane Bagasse Hydrolysate for Xylitol Production. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23: 9 – 21.
- Miller, G. L., 1954. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31: 426-428.
- Mussatto S. I. and Roberto I. C., 2001. Hydrolysate detoxification with activated charcoal for xylitol production by *Candida guilliermondii*. *Biotechnology Letters*, 23: 1681-1684.
- Rao, R. S., Jyothi, Ch. P., Prakasham, R. S., Sarma, P. N., and Rao, L. V., 2006. Xylitol production from corn fiber and sugarcane bagasse hydrolysates by *Candida tropicalis*. *Bioresource Technology*, 97: 1974-1978.
- Sanjuan R., Anzaldo J., Vargas J., Turrado J. and Patt R., 2001. Morphological and Chemical Composition of Pith and Fibres from Mexican Sugarcane Bagasse. *Holzals Roh-und Werkstoff*, 59: 447-450.
- Sene, L., Vitolo, M., Felipe, M. G. A. and Silva, S. S., 2000. Effects of Environmental Conditions On xylose reductase and Xylitol Dehydrogenase Production by *Candida guilliermondii*. *Application of Biochemical Bioengineering*, 84-86: 371-380.
- Shafiei Amrehee, S. SH., 2016. Production Bioethanol from Bagasse Pith Xylan. MSc. Thesis, Department of Bio-refinery, Shahid Beheshti University, Tehran.
- Takagaki A., Ohara M., Nishimura Sh and Ebitani K., 2010. One-pot Formation of Furfural from Xylose via Isomerization and Successive Dehydration Reactions over Heterogeneous Acid and Base Catalysts. *Chemistry Letters Journals*, 39: 838-840.
- Vallejosa, M. E., Chade, M., Mereles, E. B., Bengoechea, D. I., Brizuela, J. G., Felissia, F. E., and Area, M. C., 2016. Strategies of detoxification and fermentation for biotechnological production of xylitol from sugarcane bagasse. *Industrial Crops and Products*, 91: 161-169.
- Zhang, J., Li, J., Tang, Y. and Xue, G., 2013. Rapid Method for the Determination of 5-Hydroxymethylfurfural and Levulinic Acid Using a Double-Wavelength UV Spectroscopy. *The Scientific World Journal*, 2013: 1-6.
- Zhang, Yi, Ding, sh., R. Mielenz, j., Cui, j., T. Elander, r., Laser, m., E. Himmel, m., R. McMillan, j. R. and Lynd, l., 2007. Fractionating Recalcitrant Lignocellulose at Modest Reaction Conditions. *Biotechnology and Bioengineering*, 97: 214-223.
- Agbor, V. B., Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A. and Levin, D. B., 2011. Biomass pretreatment: fundamental toward application. Review paper, *Biotechnology Advances*, (29): 675-685.
- Aghcheh, R. K., Bonakdarpour, B. and Zokae Ashtiani, F., 2016. The Influence of Sugar Cane Bagasse Type and Its Particle Size on Xylose Production and Xylose-to-Xylitol Bioconversion with the Yeast *Debaryomyces hansenii*. *Applied Biochemistry Biotechnology*, 180(6): 1141-1151.
- Alriksson, B., Cavka, A. and Jönsson, L. J., 2011. Improving the fermentability of enzymatic hydrolysates of lignocellulose through chemical in-situ detoxification with reducing agents. *Bioresource Technology*, 102(2): 1254-1263.
- Cavka, A. and Jönsson, L. J., 2013. Detoxification of lignocellulosic hydrolysates using sodium borohydride. *Bioresource Technology*, (136): 368-376.
- Chi, C., Zhang, Z., Chang, H. and Jameel, H., 2009. Determination of Furfural and Hydroxymethylfurfural Formed From Biomass Under Acidic Conditions. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 29: 265-276.
- Converti, A., Dominguez, J. M., Perego, P., Da Silva, S. S. and Zilli, M., 2000. Word Hydrolysis and Hydrolyzate Detoxification for Subsequent Xylitol Production. *Chemical Engineering and Technology*, 23(11): 1013-1020.
- Inoue, H., Tanapongpipat, S., Kosugi, A. and Yano, S., 2008. Saccharification and ethanol fermentation of sugarcane bagasse and rice straw from Thailand, The 10th biomass Asia workshop, Thailand.
- Jain R. K., 2011. Bioethanol from bagasse pith a lignocellulosic waste biomass from paper/sugar industry, *Indian Pulp & Paper Technical Association Journal*, 23(1): 169-173.
- Jönsson, L. J. and Martín, C., 2016. Pretreatment of lignocellulose: formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects. *Bioresources Technology*, (199): 103-112.
- Kim, D., 2018. Physico-Chemical Conversion of Lignocellulose: Inhibitor and Detoxification Strategies: A Mini Review. *Molecules*, 23(2): 309.
- Lavaracka, B. P., Griffin, G. J. and Rodman, D., 2002. The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products. *Biomass and Bioenergy*, 23: 367 – 380.
- Li, Zh., Fei, B. and Jiang Z., 2014. Comparison of dilute organic and sulfuric acid pretreatment for enzymatic hydrolysis of bamboo. *BioResources*, 9(3): 5652-5661.
- Lois-Correa J.A., 2012. Depithers for Efficient

Control of inhibitory compounds in the bio-refinery of bagasse pith

N. Davoodi¹, E. Rasooly Garmarody², O. Ramezani³ and S. Hamed⁴

1-M.Sc. student of Pulp and paper industries, Dept. of Bio-Refinery, Shahid Beheshti University, Zirab Campus, Savadkooh, Mazandaran, Iran

2*-Corresponding Author, Assistant Professor, Dept. of Bio-Refinery, Shahid Beheshti University, Zirab Campus, Savadkooh, Mazandaran, Iran, Email: e_rasooly@sbu.ac.ir

3-Assistant Professor, Dept. of Bio-Refinery, Shahid Beheshti University, Zirab Campus, Savadkooh, Mazandaran, Iran

4-Assistant Professor, Dept. of Bio-Refinery, Shahid Beheshti University, Zirab Campus, Savadkooh, Mazandaran, Iran

Received: June, 2018

Accepted: Jan., 2019

Abstract

In the present study, in order to control the inhibitory compounds in the bio-refinery, bagasse pith was pretreated under acidic hydrolysis with % 8 dilute sulfuric acid, for 90 minutes at 120 °C. Then, by using de-depleting methods of annealing, activated carbon and combining the above mentioned methods, removal of deterrent compounds from the hydrolyzates obtained from this pretreatment was performed. In the method of overlimming, calcium hydroxide and sulfuric acid, in activated carbon method, activated carbon was used at three levels (0.5, 1.5 and 2.5%) and in the combined method of the combination of materials in the two previous methods. Became After acid treatments and each of the methods of insemination, the amount of recovered sugars and the values of the inhibitory compounds of furfural and hydroxymethylfurfural in the hydrolyzate were measured as two important indicators. The results showed that application of the above methods on hydrolyzate increased the yield of reduced sugars, so that the highest sugar yield (more than 32%) was obtained after the independent method of overlimming. In addition, active and combined carbon autonomous methods (overlimming and activated carbon) have an optimum activated carbon consumption of 2.5% and 1.5, respectively. The qualitative study of the presence of inhibitory agents in hydrolyzates showed that furfural and hydroxymethylfurfural have maximum absorption at wavelengths of 276 and 282 nm. Also, an overlaying method with 2.5% activated carbon as the best method could eliminate up to 100% of inhibitory compounds. On the other hand, the autonomous method of overlimming, with the removal of more than 90% of the inhibitory compounds, also has the highest sugar yield. Therefore, taking into account simultaneously the rate of sugar yield and the elimination of deterrent compounds, two independent alternatives of Overlimming and Overlimming in combination with 2.5% active carbon could be proposed for the production of bioassays, such as bioethanol, xylitol, and ... from the pith of bagasse.

Keywords: Biorefinery, bagasse pith, inhibitors, furfural, Hydroxymethylfurfural, acid hydrolysis.