

## تولید سوخت سبز از ضایعات گیاه زعفران به روش هیدرولیز با اسید رقیق

علی آراسته نوده<sup>۱\*</sup> و حسین صحابی<sup>۲</sup>

تاریخ پذیرش: ۶ تیر ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۱۶ دی ۱۳۹۴

آراسته نوده، ع. و صحابی، ح. ۱۳۹۶. تولید سوخت سبز از ضایعات گیاه زعفران به روش هیدرولیز با اسید رقیق. زراعت و فناوری زعفران، ۵(۳): ۲۴۱-۲۵۳.

### چکیده

در این تحقیق به منظور تولید شکر قابل تخمیر جهت تولید بیواتانول (سوخت سبز)، هیدرولیز اسید رقیق باقی مانده گیاه زعفران به عنوان یک نمونه مواد لیگنوسلولزی بررسی شده است. ضایعات گیاه زعفران جمع آوری شده ابتدا با آب مقطر شسته شده و در معرض هوا و نور - خورشید خشک شده و توسط آسیاب دیسکی ارتعاشی تا ۵۰ میکرومتر آسیاب و در پلاستیک‌های زیپ‌دار در هوای اتاق نگهداری شد. زیست توده تهیه شده در زمان معین و در محلول اسیدی در اتوکلاو به مدت تعیین شده حرارت داده شد. به جهت بررسی تأثیر سه متغیر اصلی دما، غلظت اسید و زمان بر روی شکر قابل تخمیر تولید شده دما در ۴ سطح ۱۱۶، ۱۲۴، ۱۳۲ و ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد غلظت اسید در ۴ سطح صفر، ۱، ۲، ۳، درصد و زمان در ۴ سطح ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ دقیقه انتخاب شد. محلول پس از خروج از اتوکلاو صاف شده و غلظت گلوکز، زایلوز و هم‌چنین فورفورال با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد و به وسیله یک معادله دو مجذوری مدل شد. نتایج نشان داد که تولید گلوکز تحت تأثیر توان دوم غلظت اسید و زمان است ولی زایلوز تحت تأثیر زمان و فورفورال وابسته به دما است. غلظت بالای اسید و دمای پایین و زمان متوسط می‌تواند بیشترین محصول (گلوکز و زایلوز) با کمترین بازدارنده (فورفورال) را تولید نماید.

**کلمات کلیدی:** اسید رقیق، روش پاسخ سطح، شکر قابل تخمیر، شیرین‌سازی.

### مقدمه

آن‌ها، این مواد می‌توانند سهم زیادی از تولید انرژی را در برگیرند. در نتیجه تحقیق و توسعه درباره نحوه استفاده از آن‌ها در تولید انرژی‌های تجدید شونده ضروری به نظر می‌رسد. بیواتانول به عنوان انرژی تجدید شونده، عمدتاً از گیاهان و محصولات زراعی تولید می‌گردد (Balat et al., 2008). تحقیقات در زمینه استفاده از مواد لیگنوسلولزی ارزان‌تر به عنوان ماده اولیه برای تولید اتانول نظیر کودزو (Rowan et al., 2009)، ماهولا درخت (Kumar et al., 2009)، ضایعات حاصل از آسیاب گندم

افزایش میزان ضایعات کشاورزی و جنگلی نیاز به یک برنامه‌ریزی دقیق جهت استفاده بهینه از آن‌ها را نمایان می‌سازد. با مدیریت در استفاده از این بقایای کشاورزی و تولید انرژی از

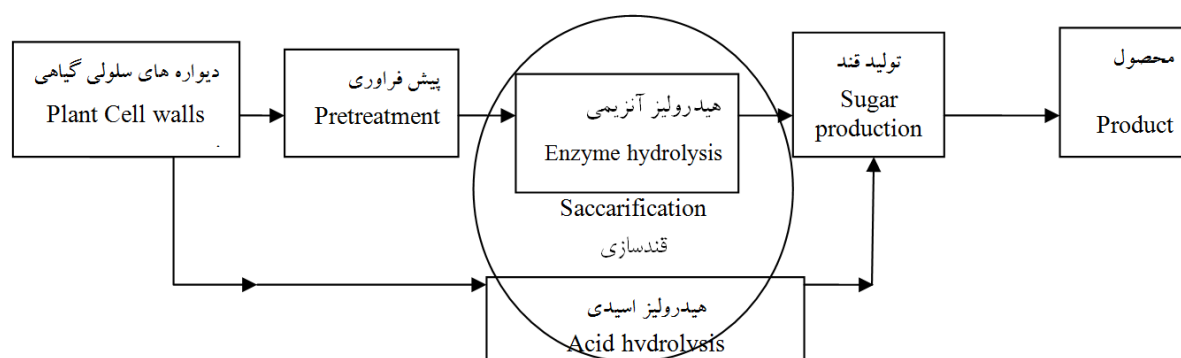
<sup>۱</sup> - استادیار گروه مهندسی شیمی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

<sup>۲</sup> - عضو هیات علمی دانشگاه تربیت‌حیدریه

(\*) نویسنده مسئول: Aliarastehnodeh@iauc.ac.ir

شرایط خاصی کلاله‌های قرمز زعفران از آن جداسازی می‌گردد و باقی‌مانده آن به‌عنوان ضایعات دفع می‌گردد و یا به مصرف خوراک دام می‌رسد. این ضایعات مانند هر گیاه دیگر حاوی سلولز و همی سلولز می‌باشد که می‌تواند به‌عنوان یک بیومس در فرایند هیدرولیز به قند قابل تخمیر جهت تولید بیواتانول مورد استفاده قرار گیرد. قندسازی به‌عنوان تبدیل پلیمرهای شکر دیواره سلولی به مونومرهای شکر، یک فرایند کلیدی در پالایش طبیعی دیواره سلولی می‌باشد. یک طراحی ساده شده از قندسازی از دیواره سلولی در نمودار شکل ۱ داده شده است (Galbe et al., 2002).

(Marcos et al., 2013)، لابلای کاج (Frederick, 2008)، ضایعات هرس درخت زیتون (Juan et al., 2013) و ضایعات ساقه گل آفتابگردان (Ruiz et al., 2013) صورت گرفته است. ایران با تولید سالانه بیش از ۲۵۰ تن زعفران بیش از ۹۵ درصد از زعفران جهان را تولید می‌نماید. کشت زعفران در ایران به‌ویژه در شهرستان‌های تربت‌حیدریه، تایباد، باخرز، گناباد، سبزوار و نیشابور در استان خراسان رضوی و شهرستان‌های قائن، بجستان، فردوس، سرایان و بیرجند در استان خراسان جنوبی و به‌تازگی در استان‌های فارس، کرمان و لرستان رواج دارد (Sahabi & Feizi, 2012). برای تولید ۲۵۰ تن کلاله زعفران ۲۵ میلیون تن گل زعفران باید جمع‌آوری شود و طی



شکل ۱- قندسازی از مواد لیگنوسلولوزی

Figure 1- Saccharification of Lignocellulose material.

دوم نفت ارزان در دسترس قرار گرفت و اتانول و سایر محصولات از این مواد خام که به مقدار فراوان موجود بودند، تولید شده است و علاقه به توسعه بیشتر در فنون تبدیل مواد خام لیگنوسلولوزی کاهش یافت. در پی بحران نفت در دهه ۱۹۷۰، تمایل زیادی به جایگزینی مواد شیمیایی نفتی به وجود آمد.

در حال حاضر برای تولید بیواتانول از نیشکر یا دانه غلات به‌عنوان مواد اولیه استفاده می‌گردد؛ اما به علت ارتباط مستقیم

علاقه و تمایل به قندسازی از مواد خام لیگنوسلولوزی تاریخیچه‌ای طولانی دارد. در سال ۱۸۱۹ کشف شد که چوب می‌تواند به محصول شکر توسط ماده واسطه اسیدی تبدیل شود و در سال ۱۸۹۸ اولین فرایند تجاری آن توسعه یافت (Sheehan & Himmel, 1999). تا زمان جنگ جهانی دوم، در آلمان، روسیه و ایالات متحده آمریکا، بسیاری از کارخانه‌ها از هیدرولیز اسیدی برای تولید اتانول از دیواره‌های سلولی استفاده می‌کردند (Katzen & Schell, 2006). در اواخر جنگ جهانی

(2008).

استفاده از اسید غلیظ باعث تبدیل سریع سلولز به گلوکز با حداقل تولید محصول جانبی می‌گردد. آراسته و همکاران هیدرولیز اسید غلیظ پوست سبز گردو را به عنوان یکی دیگر از ضایعات کشاورزی در محدوده اسید غلیظ مورد بررسی قرار دادند (Arasteh et al., 2012). ایران محبوب و همکاران (Iranmahboob et al., 2002). هیدرولیز اسید غلیظ چوب را انجام داده و دریافتند که حداکثر شکر به دست آمده (۷۸-۸۲٪ بازده تئوری) در هیدرولیز با غلظت اسید سولفوریک حدود ۲۶٪ طی زمان دو ساعت صورت می‌گیرد. فاکتور بحرانی برای اقتصادی کردن این پروژه سیکل چرخشی اسید بازیافتی می‌باشد (Chandel et al., 2007). مطالعات زانگ و همکاران (Zhang et al., 2007) نشان می‌دهد اسید فسفریک در  $50^{\circ}\text{C}$  بلورینگی<sup>۶</sup> سلولز را کاهش داده و با تولید محصولات جانبی بسیار ناچیز همراه است که با یک سم‌زدایی به‌وسیله جذب کربن فعال می‌توان این بازدارنده‌ها را جذب نمود.

فرآیندهای اسید رقیق شامل محلولی در حدود زیر ۱۰٪ غلظت اسید در یک راکتور در دمای بالا ( $121^{\circ}\text{C}$ ) می‌باشد. قدیمی‌ترین تکنولوژی برای تبدیل توده زیستی سلولز به بیواتانول هیدرولیز اسید رقیق است. بالاترین حد بازیابی قند در اکثر فرایندهای اسید رقیق به حدود ۵۰٪ محدود می‌شود. مشکل اصلی برای فرآیندهای اسید رقیق این است که چگونه می‌توان گلوکز را بالاتر از ۷۰٪ در یک فرآیند صنعتی به لحاظ اقتصادی رساند درحالی‌که نرخ بالای هیدرولیز سلولز را حفظ کرده و تجزیه گلوکز را به حداقل رساند (Rajeev et al., 2009). در مطالعه قبلی (Arasteh & Hemmati, 2015) هیدرولیز اسید رقیق پوست سبز گردو با هدف بررسی اثرات پارامترهای فرایند بر میزان شکر قابل تخمیر تولیدی با استفاده از مدل پاسخ سطحی بررسی شده است.

این مواد با تغذیه انسانی نیاز به پیدا نمودن مواد اولیه از بخش‌های دیگر می‌باشد (Wheals et al., 1999). از طرفی هزینه مواد اولیه ۵۵٪ هزینه‌های تولید را در بر می‌گیرد خوراک‌های ارزان قیمت نظیر مواد لیگنوسلولزی، بیومس و ضایعات کشاورزی برای کاهش هزینه‌های تولید و قابل رقابت ساختن بیواتانول تولیدی در بازار مصرف مورد توجه هستند.

بیواتانول طی ۴ مرحله از مواد لیگنوسلولزی تولید می‌گردد: پیش تیمار<sup>۱</sup>، هیدرولیز<sup>۲</sup>، تخمیر<sup>۳</sup> و جداسازی. پیش تیمار ساختار بیومس را تغییر داده و در نتیجه سطح دسترسی آن را افزایش می‌دهد. هیدرولیز بیومس، از آن شکر قابل تخمیر می‌سازد که بعداً به‌وسیله عملیات میکروبی و تخمیر به اتانول تبدیل می‌شود. تخمیر اغلب توسط مخمرها صورت می‌گیرد و الکل تولید شده از قند توسط مخمرها از سایر محصولات جانبی و مواد اولیه جدا می‌شود. در این میان هیدرولیز مرحله کلیدی در تبدیل بیومس به اتانول می‌باشد.

در فرایند هیدرولیز باندهای هیدروژنی مواد تشکیل دهنده بیومس که عمدتاً سلولز و همی سلولز هستند شکسته شده و آن‌ها به قندهای ساده پنتوز<sup>۴</sup> و هگوز<sup>۵</sup> تبدیل می‌گردند (Demirbas, 2005). این فرایند هیدرولیز به‌وسیله اسید رقیق، اسید غلیظ و آنزیم تسریع می‌گردند. آنزیم‌ها از نظر اقتصادی گران هستند. اسیدها ارزان‌تر از آنزیم بوده ولی هزینه‌های اضافی نظیر حذف اسید را سبب می‌گردد. علاوه بر این عیب بزرگ استفاده از اسیدها این است که قندها را در دماها و زمان‌های بالاتر از نیاز به محصولات جانبی تبدیل می‌نماید. در نتیجه یکی از مهم‌ترین مراحل این فرایند انتخاب دقیق میزان اسید، دما و زمان برای تولید محصول مطلوب‌تر می‌باشد (Balat et al., 2005).

- 1- Pretreatment
- 2- Hydrolysis
- 3- Fermentation
- 4- Pentose
- 5- Hexoses

$$Y_n = B_0 + \sum B_i x_i + \sum \sum B_{ij} x_i x_j + \sum B_{ii} x_i^2 + \varepsilon \quad (1)$$

که در آن  $Y_n$  یکی از پاسخ‌ها،  $B_0$  ضریب ثابت،  $B_i$  اثرات خطی،  $B_{ii}$  اثرات مربعی و  $B_{ij}$  اثرات متقابل می‌باشد. بر اساس مدل ارائه شده در رابطه ۱ برای بررسی اثر غلظت اسید، دما و زمان واکنش بر روی میزان شکر و بازدارنده تولیدی، معادله دو مجذوری<sup>۲</sup> به شکل معادله ۲ در نظر گرفته شده است که در آن تعداد متغیرها سه بوده ( $i=3$ ) و  $T, C$  و  $t$  به ترتیب غلظت، دما و زمان می‌باشند.

$$Y = A_0 + A_1.C + A_2.T + A_3.t + A_4.C^2 + A_5.T^2 + A_6.t^2 + A_7.C.T + A_8.C.t + A_9.T.t \quad (2)$$

این معادله ۱۰ ضریب ثابت دارد. برای محاسبه این ضرایب با استفاده از روش حداقل مربعات (Least Square) نیاز به حداقل ۱۰ آزمایش در شرایط مختلف وجود دارد. برای هر فاکتور تحت مطالعه ۴ سطح در نظر گرفته شده است. سطوح بر اساس نتایج قبلی (Dussan et al., 2014) از آزمایشات هیدرولیز اسید رقیق انتخاب شده‌اند به طوری که غلظت ۰٪، ۱٪، ۲٪ و ۳٪ وزنی برای اسید سولفوریک، زمان واکنش ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دقیقه و دمای واکنش ۱۱۶، ۱۲۴ و ۱۳۲ و ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شده است. با استفاده از روش ماتریس آزمایشات تاگوجی ۱۶ آزمایش پیش‌بینی شده که در جدول ۲ کدگذاری داده شده است. برای اطمینان از صحت پاسخ‌ها هر آزمایش دو بار انجام شده و در صورت نزدیک بودن نتایج از آن‌ها متوسط-گیری شده است. در صورت وجود اختلاف در جواب‌ها آزمایش بار سوم تکرار و با نزدیک‌ترین نتیجه متوسط‌گیری شده است.

#### پیش تیمار اسید رقیق

۵ گرم بیومس خرد شده به همراه ۹۵ گرم مخلوط آب و اسید به نسبت ۱۰، ۲، ۳ درصد وزنی اسید سولفوریک در

هدف نهایی این مقاله بررسی تأثیر ۳ فاکتور مهم دما، غلظت اسید و زمان با استفاده از روش پاسخ سطحی برای به دست آوردن بالاترین مقدار گلوکز و زایلوز به روش هیدرولیز اسید رقیق ضایعات گیاه زعفران می‌باشد. شرایط به دست آمده می‌تواند اطلاعات خوبی برای کاربرد این ضایعات و ضایعات مشابه در تولید قند قابل تخمیر در فرایند بیواتانول فراهم نماید.

## مواد و روش‌ها

### ماده اولیه

ضایعات حاصل از جداسازی کلاله‌های گیاه زعفران در آبان- ماه ۱۳۹۴ از شهرستان تربت‌حیدریه در خراسان رضوی جمع-آوری شده است و ابتدا با آب مقطر شسته و در معرض هوا و نور خورشید خشک و توسط آسیاب دیسکی ارتعاشی (Retsch RS 100) تا ۵۰ میکرومتر آسیاب و در پلاستیک‌های زیپ‌دار در هوای اتاق نگهداری شد.

### طراحی آزمایشات

به منظور استخراج مدل و یافتن نحوه تأثیر پارامترهای مختلف از روش پاسخ سطح<sup>۱</sup> استفاده شد. این روش مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری است که در بهینه‌سازی فرایندهایی بکار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در نهایت تأثیر متغیرها بر روی پاسخ به صورت یک گراف رسم می‌گردد که در روی آن نقاط ماکزیمم و یا مینیمم مشخص است (Bezerra et al., 2008). در این روش برای هر متغیر وابسته (گلوکز، زایلوز و فورفورال) مدلی تعریف می‌شود که آثار اصلی و متقابل متغیرهای تأثیرگذار روی آن (دما، غلظت اسید و زمان) را به صورت جداگانه بیان نماید. مدل بیان شده به صورت معادله ۱ می‌باشد.

برخوردار است. بهترین نتیجه زمانی حاصل می‌گردد که حداکثر تولید قند و حداقل تولید بازدارنده به دست آید (Arasteh et al., 2012).

#### مدل ریاضی (ضرایب و پاسخ‌ها)

مطابق آنچه در قبل گفته شد رابطه ۱ بر اساس مطالعات قبلی صورت گرفته در این زمینه (Castro et al., 2011; Bezerra et al., 2008) به عنوان مدل ریاضی تحلیل اثرات فاکتورهای مؤثر بر نتایج در نظر گرفته شده است. میزان گلوکز (% GI)، زایلوز (% Xy)، فورفورال (% F) موجود در مایع صاف شده به عنوان پاسخ‌ها (Y) و غلظت اسید (% C)، دما (°C) و زمان واکنش (min) t به عنوان فاکتورها در نظر گرفته شده است. تأثیر متقابل فاکتورها بر پاسخ‌ها به صورت ضرایب  $A_i$  تعیین گردیده‌اند. جدول ۲ ضرایب مدل به دست آمده از جدول آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA را برای پاسخ‌های متفاوت نشان می‌دهد.

بر اساس ضرایب به دست آمده معادله تأثیر دما و زمان و غلظت اسید بر روی پاسخ‌ها (غلظت گلوکز، زایلوز و فورفورال) را می‌توان به صورت معادلات ۳ تا ۵ نوشت.

$$GI (g.L^{-1}) = 12.511 - 0.5408.C - 0.1626T + 0.1708.t + 0.3135.C^2 - 0.000584T^2 - 0.0021.t^2 + 0.0078.C.T - 0.0198C.t - 0.000012.T.t \quad (3)$$

$$Xy (g.L^{-1}) = -2.22681 + 0.189.C + 0.03136.T + 0.05354.t + 0.003979.C^2 - 0.00006T^2 - 0.000058.t^2 - 0.00124.C.T + 0.00014.C.t - 0.00037.T.t \quad (4)$$

$$F (g.L^{-1}) = -21.902 - 0.9241.C + 0.4144.T + 0.08021.t + 0.1606.C^2 - 0.00182.T^2 - 0.00058t^2 - 0.0215C.T + 0.000271T.t - 0.04563C.t \quad (5)$$

شیشه‌های آزمایشگاهی درب‌دار (شیشه‌های پیرکس) در ۱۱۶، ۱۲۴، ۱۳۲ و ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دقیقه با هم‌زدن توسط همزن آزمایشگاهی در حمام آب گرم آماده شده و سپس در اتوکلاو قرار گرفته است و به ترتیب تمام موارد طبق جدول آزمایش طراحی شده در دما و زمان و غلظت-های مختلف پیش‌تیمار شده و سپس محلول توسط کاغذ صافی و قیف بوختر با استفاده از پمپ خلاء صاف شده و جامد باقیمانده بر روی صافی با آب مقطر شستشو داده شد تا زمانی که حجم محلول زیر صافی به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسید. ۲۰۰ سی‌سی از محلول برای آنالیز استفاده شده است. ترکیب محلول صاف شده با استفاده از کروماتوگرافی مایع<sup>۱</sup> (HPLC) مدل جاسکو به دست آمد. میزان قندها در این دستگاه با ستون Aminex Bio-Rad HPX-87P و به وسیله تشخیص دهنده ضریب شکست در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و میزان اسید استیک و فورفورال به وسیله ستون Aminex HPX-87H.Bio-Rad آنالیز و به وسیله تشخیص دهنده ماوراء بنفش در طول موج ۲۱۰ نانومتر شناسایی گردیدند.

#### نتایج و بحث

جدول ۱ نتایج حاصل از آنالیز مایع صاف شده را نشان می‌دهد. گلوکز محصول اصلی هیدرولیز بیومس است. این قند شش کربنه عمدتاً محصول اصلی هیدرولیز سلولز موجود در بیومس است در حالی که زایلوز محصول هیدرولیز همی سلولز و فورفورال محصول جانبی ناشی از تجزیه زایلوز می‌باشد. از آنجا که به دلیل ساختار مولکولی همی سلولز تبدیل قندهای پنج کربنه به شرایط ملایم‌تری نیاز دارد امکان تجزیه این قندها در شرایط سخت‌تر مورد نیاز برای شکستن مولکول‌های سلولز و تبدیل گلوکز وجود دارد. فورفورال به عنوان عامل بازدارنده تخمیر که مرحله بعد از هیدرولیز برای تولید بیواتانول می‌باشد نیز از غلظت بالایی

1- High-performance liquid chromatography (HPLC)

جدول ۱- شرایط انجام آزمایش هیدرولیز اسید رقیق ضایعات گیاه زعفران و نتایج به دست آمده

Table 1- Experimental conditions of dilute acid hydrolysis of saffron waste and results

شماره آزمایش Run	دما Temperature (°C)	غلظت اسید Acid (%)	زمان Time (min)	گلوکز Glucose (g.lit <sup>-1</sup> )	زایلوز Xylose (g.lit <sup>-1</sup> )	فورفورال Furfural (g.lit <sup>-1</sup> )
1	116	0	20	3.87	0.77	3.33
2	124	0	30	4.76	0.97	4.47
3	132	0	40	4.16	0.91	4.53
4	140	0	50	4.61	0.92	4.67
5	116	1	30	5.14	0.92	4.90
6	124	1	20	4.28	0.92	5.00
7	132	1	50	3.79	1.05	5.20
8	140	1	40	5.04	1.01	5.00
9	116	2	40	5.05	1.04	5.18
10	124	2	50	5.29	1.02	5.16
11	132	2	20	5.19	1.00	5.19
12	140	2	30	5.27	1.03	5.00
13	116	3	50	5.88	1.20	5.20
14	124	3	40	6.01	1.10	6.00
15	132	3	30	7.5	1.09	7.30
16	140	3	20	7.02	1.10	7.70

جدول ۲- ضرایب مدل ریاضی دو مجذور ی پیشنه‌ادی (معادله ۲) برای پیش‌بینی غلظت گلوکز، زایلوز و فورفورال حاصل از هیدرولیز اسید رقیق ضایعات گیاه زعفران

Table 2- Mathematical model coefficient of quadratic equation (Eq.2) for prediction of glucose, xylose, furfural concentration of saffron dilute acid hydrolysis

A	Glucose گلوکز	Xylose زایلوز	Furfural فورفورال
A <sub>0</sub>	+12.511	-2.2268	-21.9
A <sub>1</sub>	-0.5408	+0.189	+0.9241
A <sub>2</sub>	-0.1626	+0.03136	+0.4144
A <sub>3</sub>	-0.1708	+0.05354	+0.08021
A <sub>4</sub>	+0.3135	+0.003979	+0.1606
A <sub>5</sub>	+0.00058	-0.00006	-0.00183
A <sub>6</sub>	-0.0021	-0.000058	-0.00058
A <sub>7</sub>	+0.0078	-0.00124	+0.02150
A <sub>8</sub>	+0.0198	-0.00014	-0.04563
A <sub>9</sub>	-0.000012	0.00037	+0.000271

۰/۹۱ می‌باشد که ارتباط مناسب‌تری را بین معادله و نتایج عملی نشان می‌دهد. نتایج مشابه برای غلظت گلوکز ناشی از هیدرولیز ضایعات هرس چوب درخت زیتون مقدار  $R^2=0/95$  و برای ضایعات گیاه آفتابگردان  $R^2=0/99$  به دست آوردند که نتایج بهتری است. از مقدار F جهت مشخص شدن اینکه نتایج تصادفی است یا خیر استفاده شد. مقدار F با توجه به درجه آزادی و تعداد متغیرها احتمال تصادفی بودن نتیجه را مشخص می‌کند. متغیر  $\alpha$  را با توجه به اطمینان ۹۵٪ از نتایج در حدود

با قرار دادن شرایط دما، زمان و غلظت اسید در ۱۶ آزمایش طراحی شده (جدول ۱) می‌توان مقدار گلوکز، زایلوز و فورفورال را با معادلات ۳ تا ۵ پیش‌بینی نمود. شکل ۲ مقدار پیش‌بینی شده را با مقدار واقعی مقایسه می‌کند. ضریب زاویه این نمودارها ( $R^2$ ) بیانگر مقدار صحت تخمین صورت گرفته می‌باشد. برای گلوکز ضریب  $R^2$  در حدود ۰/۸۸ است که دلالت بر این دارد که ارتباط مناسبی بین متغیرهای وابسته بر اساس ضرایب و نتایج وجود دارد. این ضریب برای زایلوز و فورفورال

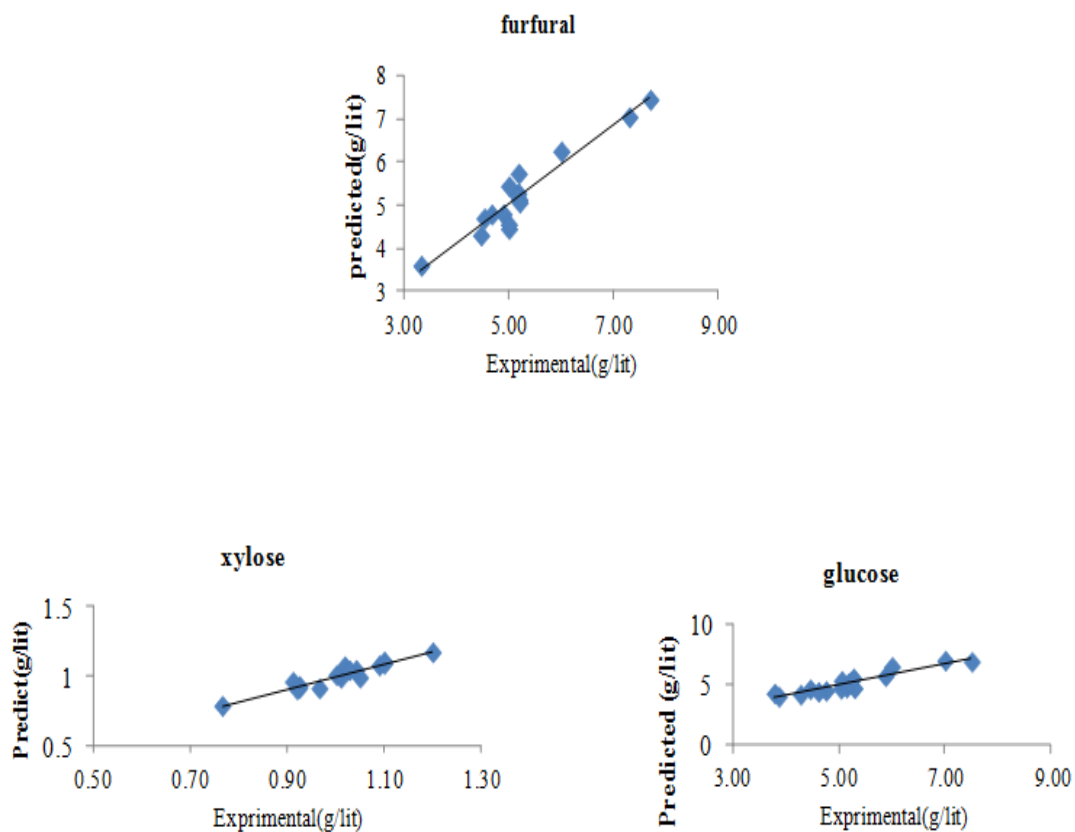
برای بررسی مفید بودن هریک از ضرایب، مقدار ضریب را بر میزان خطای استاندارد آن تقسیم شد. هرچه قدر قدر مطلق نتیجه مقدار بالاتری باشد متغیر آن مفیدتر خواهد بود. جدول ۳ نتایج حاصل را نشان می‌دهد.

۰/۰۵ در نظر گرفته شد. با توجه به درجه آزادی ۶ و تعداد متغیرهای ۱۶ مقدار احتمال تصادفی بودن معادلات ۰/۰۰۱۵۴ به دست می‌آید که با توجه به کوچک بودن عدد به دست آمده می‌توان ادعا کرد نتایج تصادفی به دست نیامده‌اند.

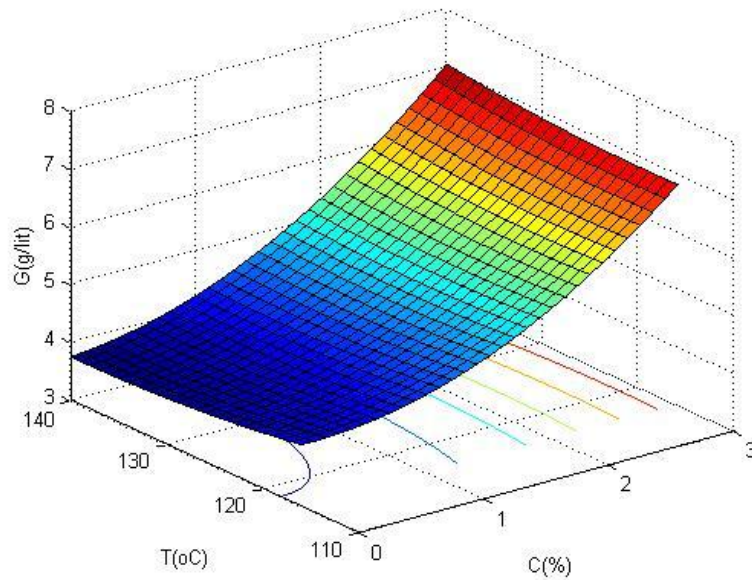
جدول ۳- اهمیت نسبی ضرایب معادله پیشنهادی برای پیش‌بینی غلظت محصولات هیدرولیز (معادلات ۳ تا ۵)

Table 3- Relative impotency of suggested equations coefficient to predict concentration of hydrolysis product (Eq. 3, 4, 5)

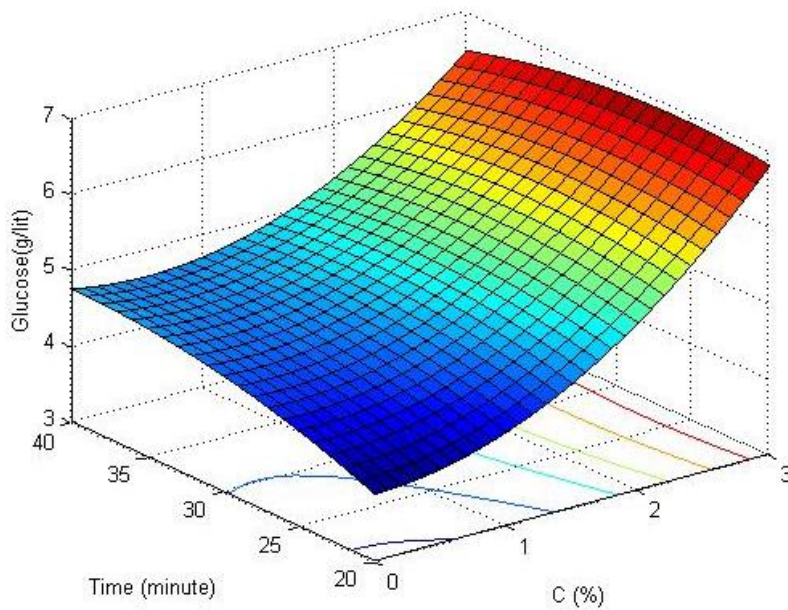
محصول Product	A <sub>0</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	A <sub>5</sub>	A <sub>6</sub>	A <sub>7</sub>	A <sub>8</sub>	A <sub>9</sub>
Glucose گلوکز	0.35	0.18	0.29	0.55	2.33	0.28	1.54	0.34	1.093	0.005
Xylose زایلوز	0.705	0.704	0.649	1.952	0.331	0.318	0.485	0.612	0.086	1.827
Furfural فورفورال	0.850	1.34	0.97	0.48	0.295	0.343	0.485	1.06	2.82	0.132



شکل ۲- مقایسه غلظت‌های به دست آمده توسط معادلات ۳، ۴ و ۵ با داده‌های آزمایشی برای غلظت موادهای مختلف حاصل از هیدرولیز بیومس  
Figure 2- The comparison of product concentration to experiments data of biomass hydrolysis.



شکل ۳- پاسخ سطحی برای غلظت گلوکز در محصول هیدرولیز به صورت تابعی از زمان و غلظت اسید بر طبق مدل (زمان واکنش ۲۰ دقیقه)  
 Figure 3- Response surface for glucose concentration in hydrolysate as a function of temperature and acid concentration (reaction time = 20 min).



شکل ۴- پاسخ سطحی برای غلظت گلوکز در محصول هیدرولیز به صورت تابعی از زمان و غلظت اسید بر طبق مدل (دما ۱۳۲ درجه سانتی‌گراد)  
 Figure 4- Response surface for glucose concentration in hydrolysate as a function of time and acid concentration (temperature: 132 °C).

دارند. از طرفی جملات مربوط به توان دوم تأثیر کمتری نشان می‌دهند. در معادلات مربوط به زایلوز بیشترین تأثیر

جدول ۳ نشان می‌دهد که در معادله گلوکز توان دوم غلظت اسید و زمان ( $A_4, A_6$ ) به ترتیب بیشترین تأثیر را بر روی نتیجه

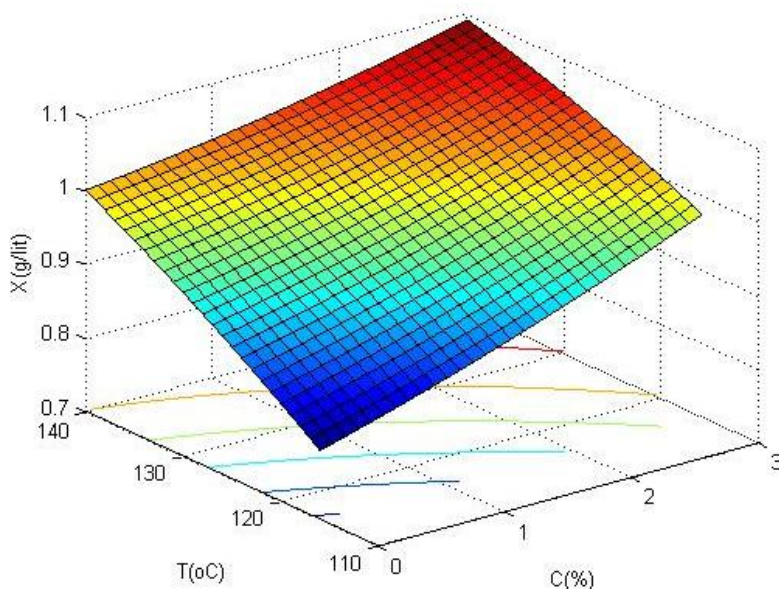


به صورت یک شیب ملایم افزایشی غلظت گلوکز را افزایش می‌دهد، اما افزایش غلظت اسید سولفوریک باعث افزایش شدید غلظت گلوکز می‌گردد؛ اما زمان نتیجه دیگری دارد، در اثر افزایش زمان به مرور غلظت گلوکز افزایش می‌یابد اما کم‌کم تجزیه گلوکز شروع می‌شود و غلظت آن کاهش می‌یابد، بنابراین بیشترین غلظت گلوکز در بالاترین غلظت اسید و دما و زمان متوسط به دست می‌آید.

همان‌طور که از شکل ۵ و ۶ مشهود است در محدوده مطالعه شده غلظت زایلوز در اثر دما و غلظت به صورت خطی افزایش می‌یابد؛ اما به مرور زمان شروع به کاهش می‌کند.

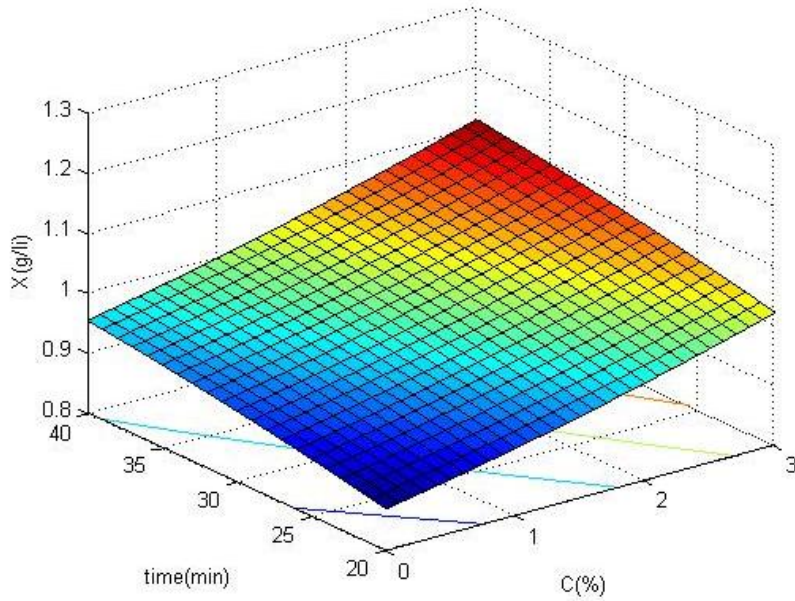
مربوط به جملات مربوط به زمان است. انتظار چنین پاسخی نیز می‌رفت زیرا در طی زمان زایلوز به محصولات فرعی تجزیه می‌گردد (Balat et al., 2011). همچنین در معادلات فورفورال ضرایب مربوط به غلظت اسید ( $A_2, A_5, A_9$ ) عامل اصلی تغییر غلظت فورفورال می‌باشد. نتایج مشابه در هیدرولیز اسید رقیق هرس درخت زیتون مشاهده می‌گردد. در حالی که در هیدرولیز ضایعات آفتابگردان در دماهای بالا ( $<150^{\circ}\text{C}$ ) دما بیشتر خود را نشان می‌دهد.

شکل ۳ و ۴ نتایج حاصل از جدول ۳ را تأیید می‌نمایند. در محدوده دمایی و غلظت اسید مطالعه شده، تأثیر اسید بسیار متفاوت‌تر از دما در تولید گلوکز می‌باشد. در حالی که تأثیر دما



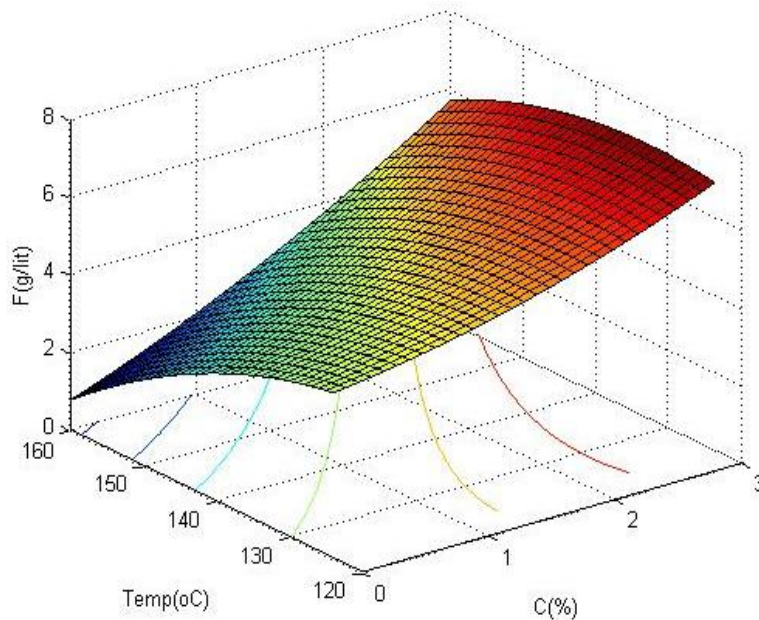
شکل ۵- پاسخ سطحی برای غلظت زایلوز در محصول هیدرولیز به صورت تابعی از دما و غلظت اسید بر طبق مدل (زمان ۲۰ دقیقه)

Figure 5- Response surface for xylose concentration in hydrolysate as a function of temperature and acid concentration (reaction time= 20 min).



شکل ۶- پاسخ سطحی برای غلظت زایلوز در محصول هیدرولیز به صورت تابعی از زمان و غلظت اسید بر طبق مدل (دمای ۱۳۲ درجه سانتی‌گراد)  
 Figure 6- Response surface for xylose concentration in hydrolysate as a function of time and acid concentration (temperature: 132 °C).

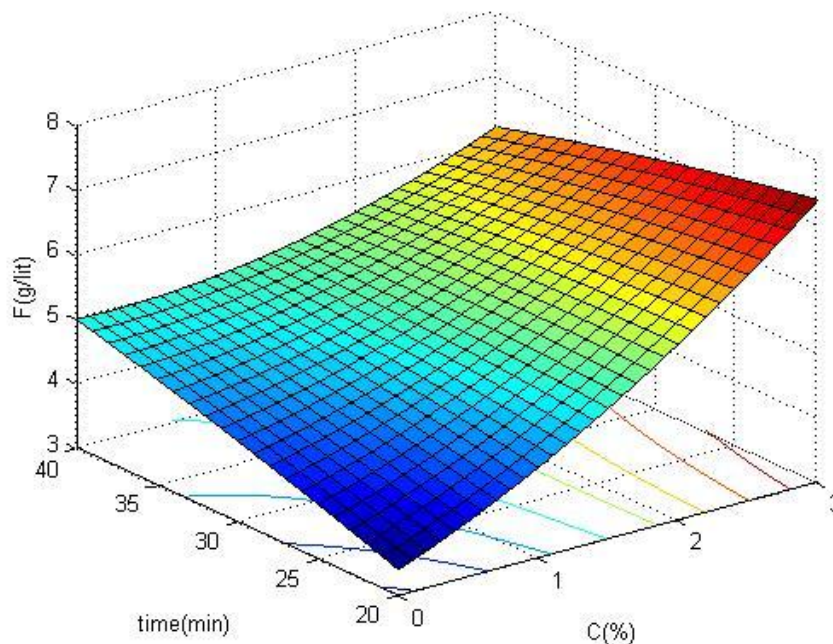
زایلوز به دلیل ساختار شکننده همی سلولز سریعاً تولید و در ادامه هیدرولیز به محصولات جانبی یعنی فورفورال که قدرت بازدارندگی دارد، تجزیه می‌گردد. شکل‌های ۷ و ۸ نتایج حاصل از مدل را نشان می‌دهند.



شکل ۷- پاسخ سطحی برای غلظت فورفورال در محصول هیدرولیز به صورت تابعی از دما و غلظت اسید بر طبق مدل (زمان واکنش ۲۰ دقیقه)  
 Figure 7- Response surface for furfural concentration in hydrolysate as a function of temperature and acid concentration (reaction time= 20 min).

اسید پایین و دمای بالا به دست می‌آید؛ اما زمان با توجه به مباحثی که در خصوص زایلوز گفته شد باعث افزایش غلظت فورفورال می‌گردد.

در محدوده دمایی و غلظت اسید مطالعه شده، غلظت اسید تولید فورفورال را افزایش می‌دهد اما دما باعث کاهش تولید آن می‌گردد و کمترین میزان فورفورال (وضع مطلوب) در غلظت



شکل ۸ - پاسخ سطحی برای غلظت فورفورال در محصول هیدرولیز به صورت تابعی از غلظت و زمان بر طبق مدل (دما ۱۳۲ درجه سانتی‌گراد)  
Figure 8- Response surface for furfural concentration in hydrolysate as a function of time and acid concentration (temperature: 132 °C).

بالا و دمای پایین و زمان متوسط می‌تواند بیشترین میزان محصول (گلوکز و زایلوز) با کمترین میزان بازدارنده (فورفورال) را تولید نماید. در این تحقیق بهترین شرایط در غلظت ۳٪ و دمای ۱۳۲ °C و زمان ۳۰ دقیقه می‌باشد که مقدار گلوکز آن ۷/۲ گرم بر لیتر می‌باشد. دوسان و همکاران (Dussan et al., 2014) با استفاده از هیدرولیز رقیق باگاس با اسید سولفوریک ۲٪ در ۱۵۵ °C درجه سانتی‌گراد و طی ۱۰ دقیقه بالاترین نتیجه یعنی حدود ۲۲/۷ گرم بر لیتر گلوکز را به دست آوردند. هم‌چنین کاسترو و همکاران (Castro et al., 2011) با استفاده از این روش در هیدرولیز اسید رقیق کاه کلزا مقدار بهینه را با ۲٪ اسید

### نتیجه‌گیری

نتایج نشان می‌دهد که از ضایعات گیاه زعفران با استفاده از فرآوری اسیدی می‌توان قند قابل تخمیر برای تولید اتانول استفاده نمود. میزان تولید سه محصول عمده هیدرولیز یعنی گلوکز و زایلوز به عنوان قند و فورفورال به عنوان بازدارنده تحت تأثیر سه عامل غلظت اسید، زمان و دما می‌باشد. این تأثیر را می‌توان به صورت یک معادله درجه دوم نوشت و ضرایب آن را محاسبه نمود. محاسبه ضرایب و رسم شکل نشان داد که گلوکز تحت تأثیر توان دوم غلظت اسید و زمان است ولی زایلوز تحت تأثیر زمان و فورفورال تحت تأثیر دماست، بنابراین غلظت اسید

به دست آوردند که مقدار آن ۲۷/۹۵ می باشد. این نتایج نشان می دهد که گرچه ضایعات گیاه زعفران می تواند یک منبع مناسب برای تولید شکر قابل تخمیر در فرایند بیواتانول باشد اما با توجه میزان قند تولید شده منبع ضعیفتری نسبت به سایر ضایعات کشاورزی می باشد.

و ۱۴۴ °C در ۶ دقیقه ۳۶ گرم بر لیتر به دست آورند. کمپو و همکاران (Campo et al., 2006) در هیدرولیز اسید رقیق گیاه فلفل قرمز در ۱۱۰ °C با ۰/۵ درصد اسید سولفوریک در ۵ دقیقه مقدار گلوکز را ۲۱/۴۴ گرم بر لیتر به دست آوردند. هم چنین لنینهان و همکاران (Leninhan et al., 2010) بهترین شرایط هیدرولیز پوست سیبزمینی را ۱۵ دقیقه در ۱۵۰ °C و اسید ۲٪

## منابع

- Arasteh, A., Ardmand, M., Fanaei M., and Safekordi, A. 2012. Kinetic modeling of concentrated acid hydrolysis of walnut green skin. *African journal of Biotechnology* 11 (4): 878-887.
- Arasteh, A., and Hemmati, H. 2015. Using response surface method for optimizing dilute acid hydrolysis of walnut green skin. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences* 4 (11): 209-212.
- Balat, M., Balat, H., and Cahide, O.Z. 2008. Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science* 34: 551-573.
- Bezerra, M., Santelli, R., Oliveira, E., and Leonardo, S. 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta* 76: 965-977.
- Campo, D., Alegria, I., Zazpe, M., Echeverria, M., and Echeverria, I. 2006. Diluted acid hydrolysis pretreatment of agri-food wastes for bioethanol production. *Industrial Crops and Products* 24: 214-221.
- Castro, E., Díaz, M., Cara, C., Ruiz, E., Romero, I., and Moya, M. 2011. Dilute acid pretreatment of rapeseed straw for fermentable sugar generation. *Bioresource Technology* 102: 270-276.
- Chandel, A.,K., Chan, ES., Rudravaram, R., Lakshmi Narasu, M., Venkateswar L., and Ravindra, P. 2007. Economics and environmental impact of bioethanol production technologies. *Biotechnology and Molecular Biology Review* 2 (1): 14-32.
- Demirbas, A. 2005. Bioethanol from Cellulosic Materials: A Renewable Motor Fuel from Biomass. *Energy Sources* 27 (4): 327-337.
- Dussan, K.J., Silva, D.V., Moares, J.C., Arruda, P.V., and Felipe, G.A. 2014. Dilute-acid Hydrolysis of Cellulose to Glucose from Sugarcane Bagasse. *Chemical engineering transaction* 38: 433-440.
- Frederick, W.J. 2008. Production of ethanol from carbohydrates from loblolly pine. *Bioresource Technology* 99: 5051-5057.
- Galbe, M., and Zacchi, G. 2002. A review of the production of ethanol from softwood. *Applied Microbiology and Biotechnology* 59 (6): 618-628.
- Iranmahboob, J., Nadim, F., and Monemi, S. 2002. Optimizing acid hydrolysis: a critical step for production of ethanol from mixed wood chips. *Biomass and Bioenergy* 22 (5): 401-404.
- Juan, F., Martín, G., Sánchez, S., and Cuevas, M. 2013. Evaluation of the effect of the dilute acid hydrolysis on sugars release from olive pruning. *Renewable Energy* 51: 382-387.
- Katzen, R., and Schell, D.J. 2006. Lignocellulosic Feedstock Biorefinery: History and Plant Development for Biomass Hydrolysis. Wiley-VCH, Germany. pp. 129-138.
- Leninhan, P., Orozco, A., O'Neill, E., Ahmad, M., Rooney, D.W., and Walker, G.M. 2010. Dilute

- acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Chemical Engineering Journal* 156 (2): 395–403.
- Marcos, M., García-Cubero, M.T., González-Benito, G., Coca, M., Bolado, S., and Lucas, C. 2013. Improvement of enzymatic hydrolysis of steam-exploded wheat straw by simultaneous glucose and xylose liberation. *Biochemical Engineering Journal* 27 (4): 499–509.
- Rajeev, K.S., Reeta, R., Mathew, G., and Pandey, A. 2009. Cellulose production using biomass feed stock and its application in lignocelluloses saccharification for bio-ethanol production. *Renewable Energy* 34 (2): 421-424.
- Rowan, F., Heather, A., Coiner, Danielle, A., Brett, G., Stephen, A., Allen Torbert, H., Sicher, R., and Ziska, L. 2009. Kudzu: A new source of carbohydrate for bioethanol production. *Biomass and bioenergy* 33 (1): 57–61.
- Ruiz, E., Romero, I., Moya, M., Cara, C., Vidal, J.D., and Castro, E. 2013. Dilute sulfuric acid pretreatment of sunflower stalks for sugar production. *Bioresource Technology* 140: 292-298.
- Sahabi, H., and Feizi, H. 2012. Investigate in production and market of saffron. National conference on the latest research achievements of saffron, 30 October 2013, 44 pp. (In Persian).
- Sheehan, J., and Himmel, M. 1999. Enzymes, energy, and the environment: a strategic perspective on the U.S. department of energy's research and development activities for bioethanol. *Biotechnology Progress* 15 (5): 817-827.
- Kumar, M.S., Behera, S., Ranjan, M., and Ramesh, C.S. 2009. Bioethanol production from Mahula flowers by solid-state fermentation. *Applied Energy* 86 (5): 640–644.
- Wheals, A.E., Basso, T.C, Alves, D.M.G., and Amorim, H.V. 1999. Fuel ethanol after 25 years. *Trends in Biotechnology* 17: 482-487.
- Zhang, X., Yu, H., Huang, H., and Liu, Y. 2007. Evaluation of biological pretreatment with white rot fungi for the enzymatic hydrolysis of bamboo culms. *International Biodeterioration and Biodegradation* 60 (3): 159-164.

## Green fuel production from saffron waste by dilute acid hydrolysis

*Ali Arasteh Nodeh<sup>1\*</sup> and Hossein Sahabi<sup>2</sup>*

Submitted: 6 January, 2016

Accepted: 26 June, 2016

Arasteh Nodeh, A., and Sahabi, H. 2017. Green fuel production from saffron waste by dilute acid hydrolysis. *Saffron Agronomy & Technology* 5(3): 241-253.

### Abstract

In this study, the dilute acid Hydrolysis of saffron waste as a lignocellulose biomass for fermentable sugar production as a green fuel is investigated. Saffron plant waste was collected, washed with distilled water, dried by being exposed to air and sunlight, milled by a disk mill up to 50 micrometers and kept in plastic at room temperature. The prepared biomass was heated in a specified acidic solution for a predetermined time period in the autoclave. The influences of 3 major parameters including temperature, acid concentration and time on the produced fermentable sugar is investigated by the response surface method. According to previous studies, the levels for pretreatment were: temperature (116, 124, 132, and 140oC), process time (20, 30, 40, and 50 minute and sulfuric acid concentration (0, 1, 2, and 3%). To determine the type and quantity of products, the filtered solution was analyzed by HPLC and the results (glucose, xylose and furfural) were modeled by a quadratic equation. This model showed that glucose concentration was influenced by the quadratic power of acid concentration and time while xylose concentration was influenced by time and furfural depends on time alone. It may be concluded that high acid concentration, low temperature and medium time could produce maximum products (glucose and xylose) with minimum inhibitor (furfural).

**Keywords:** Dilute acid, Fermentable sugar, Response surface methodology, Saccharification.

---

1 - Assistant professor, Chemical engineering group, Quchan branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran

2 - Member of the Scientific Board, University of Torbat Heydarieh

(\*- Corresponding author Email: Aliarastehnodeh@iauu.ac.ir)

DOI: 10.22048/jsat.2017.46262.1132