



## Investigation of the Hydrodynamic Condition Effects and Mass Transfer Rate on Enzymatic Hydrolysis of Mixed Microalgae

H. Shokrkar<sup>1\*</sup>, A. Keighobadi<sup>2</sup>

1- Assistant Professor of Chemical Engineering, Sahand University of Technology

2- M. Sc. Student of Chemical Engineering, Sahand University of Technology

Email: H\_shokrkar@sut.ac.ir

### Abstract

*Microalgae with reserves of carbohydrates, high growth rate have been introduced as one of the most promising sources for bioethanol production. In this study, after culturing mixed microalgae species in photobioreactors, a nitrogen starvation strategy was used to increase the accumulation of carbohydrates in microalgae. Then, the sugars in the biomass were extracted using enzymatic hydrolysis by cellulase enzyme. For the first time, the enzymatic hydrolysis of microalgae is investigated by considering the dynamic conditions of the fluid inside the reactor. The results showed that increasing the system agitation more than the enzyme concentration affects the hydrolysis efficiency. At high speeds of 250 rpm, where the flow regime changes from slow to turbulent, the amount of sugar released is much higher than the values at low speeds of the stirrer. Also, adding baffle increases the mass transfer rate by preventing the formation of vortices and consequently increases the hydrolysis efficiency. But changing the type of stirrer does not have a significant effect on the hydrolysis process. Also in this study, the effect of agitation during the hydrolysis process was investigated by evaluating the mass transfer rate.*

Received: 16 January 2021

Accepted: 8 March 2021

Page Number: 64-78

### Keywords:

Baffle,  
Mixed Microalgae,  
Hydrodynamic Fluid  
Condition,  
Stirrer,  
Enzymatic Hydrolysis,  
Mass Transfer

### Please Cite this Article Using:

Shokrkar, H., Keighobadi, A., "Investigation of the Hydrodynamic Condition Effects and Mass Transfer Rate on Enzymatic Hydrolysis of Mixed Microalgae", Iranian Chemical Engineering Journal, Vol. 20, No. 117, pp. 64-78, In Persian, (2021).



## بررسی تأثیر شرایط هیدرودینامیکی و نرخ انتقال جرم در آبکافت آنزیمی ریزجلبک مختلط

هانیه شکرکار<sup>۱\*</sup>، امین کیقبادی<sup>۲</sup>

۱- استادیار دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند

۲- کارشناس ارشد مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند

پیام نگار: h\_shokrkar@sut.ac.ir

### چکیده

ریزجلبک‌ها با داشتن ذخایر زیاد کربوهیدرات‌ها و سرعت بالای رشد، به‌عنوان یکی از نوید بخش‌ترین منابع برای تولید بیواتانول معرفی شده‌اند. در این تحقیق، بعد از کشت گونه‌های مختلط ریزجلبک در فتوبیوراکتور، برای افزایش تجمع کربوهیدرات‌ها در ریزجلبک از راهبرد قحطی نیتروژن استفاده شد. سپس، استخراج قندهای موجود در زیست‌توده با استفاده از فرایند آبکافت آنزیمی به‌وسیله آنزیم سلولاز انجام شد. در این مقاله برای نخستین‌بار، فرایند آبکافت آنزیمی ریزجلبک با در نظر گرفتن شرایط هیدرودینامیکی سیال درون راکتور بررسی شد. نتایج نشان داد که افزایش همزدگی سامانه بیش از غلظت آنزیم، بر بازده آبکافت تأثیر می‌گذارد. در دورهای بالاتر از ۲۵۰ rpm که رژیم جریان از آرام به متلاطم تغییر می‌کند، میزان قند آزادشده بسیار بیشتر از مقادیر در دوره‌های پایین همزن است. هم‌چنین، افزودن بافل با جلوگیری از تشکیل گردابه میزان انتقال جرم را و به‌تبع آن بازده آبکافت را افزایش می‌دهد؛ اما تغییر نوع همزن تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر فرایند آبکافت ندارد. هم‌چنین در این تحقیق، تأثیر همزدگی در طول فرایند آبکافت از راه ارزیابی نرخ انتقال جرم بررسی شد.

### کلیدواژه‌ها:

انتقال جرم،  
بافل،  
ریزجلبک،  
شرایط هیدرودینامیکی سیال،  
همزن، آبکافت آنزیمی

\* تبریز، شهر جدید سهند، دانشگاه صنعتی سهند، دانشکده مهندسی شیمی

### استناد به مقاله:

شکرکار، ه.، کیقبادی، ا.، "بررسی تأثیر شرایط هیدرودینامیکی و نرخ انتقال جرم در آبکافت آنزیمی ریزجلبک مختلط"، نشریه مهندسی شیمی ایران، سال بیستم، شماره ۱۱۷، صص. ۷۸-۶۴، (۱۴۰۰).

## ۱. مقدمه

استفاده از جلبک، ریزجلبک و سیانوباکتری برای تولید نسل سوم سوخت‌های زیستی برتری‌های زیادی نسبت به نسل اول و دوم دارد. این امر به دلیل نرخ رشد بالای آن‌ها، قابلیت رشد در شرایط مختلف از جمله رشد با استفاده از فاضلاب که نیاز برای استفاده از منابع آب شیرین را کاهش می‌دهد و هم‌چنین بی‌نیازی از زمین‌های قابل کشت حاصل‌خیز است [۱ و ۲]. ریزجلبک‌ها، ریزاندام‌های فتوسنتز کننده‌ای هستند که شرایط آن‌ها برای رشد در قیاس با دیگر زیست‌توده‌ها بسیار ساده است. طی فرایند فتوسنتز، ریزجلبک‌ها با جذب گاز دی‌اکسید کربن و با استفاده از آب و نور، ذخایر درون سلولی خود را تولید می‌کنند. برخی گونه‌های ریزجلبک حاوی مقادیر بسیار بالایی از کربوهیدرات به شکل سلولز و پلی‌ساکارید محلول در دیواره سلولی خود هستند، که می‌توانند به عنوان منبع بالقوه کربن برای تخمیر به‌کار روند [۳ و ۴]. ریزجلبک‌ها به دلیل داشتن برتری‌هایی مانند نرخ بالای رشد و حجم بالای تولید، نداشتن لیگنین<sup>۱</sup> و پایین بودن محتوای همی سلولزی<sup>۲</sup> و در نتیجه کاهش مراحل پیش‌تیمار مورد نیاز، جذب بالای CO<sub>2</sub> به همراه فتوسنتز و کاهش تولید گازهای گلخانه‌ای، قابلیت رشد در آب‌های شور و فاضلاب، قابلیت رشد در مناطق نامناسب برای کشاورزی (کویر و ساحل دریا) و در نتیجه نداشتن رقابت با زمین‌های حاصل‌خیز برای تولید غذا، کوتاه‌بودن چرخه داشت برداشت (۱۰-۱ روز) در مقایسه با منابع دیگر زیست‌توده (برداشت ۱-۲ بار در سال) به‌عنوان منبع زیست‌توده پر بازده، پاک و پایدار برای تولید سوخت زیستی معرفی شده‌اند [۵ و ۶].

چاکرپورتی و همکاران اثرات اختلاط برای آبکافت آنزیمی سلولز به گلوکز با استفاده از راکتور CSTR<sup>۳</sup> را در شرایط اختلاط متفاوت بررسی کردند. نتایج نشان داد که از بین‌بردن محدودیت‌های اختلاط، سازوکار مهمی برای افزایش بازده کل فرایند آبکافت آنزیمی است [۷]. هم‌چنین، پالمگوییست و همکارانش اثرات اختلاط در آبکافت آنزیمی صنوبر پیش‌تیمار شده با بخار را با استفاده از راکتور همزن دار در سرعت‌ها و مقادیر مختلف بارگذاری آنزیم بررسی کردند و تفاوت زیادی در میزان آبکافت، در سرعت‌های

مختلف همزن به دست آمد [۸]. در تحقیقات مذکور، اثر اختلاط در طول فرایند آبکافت آنزیمی در مخزن راکتورهای همزن دار بررسی شده است؛ لذا نکته مغفول پژوهش‌ها بررسی انتقال جرمی در فرایند آبکافت آنزیمی است. در این تحقیق، نتایج آبکافت آنزیمی ریزجلبک مختلط با محاسبه ضریب انتقال جرم و بیشینه نرخ انتقال جرم و ارتباط آن‌ها با فرایند آبکافت آنزیمی ارائه می‌شود.

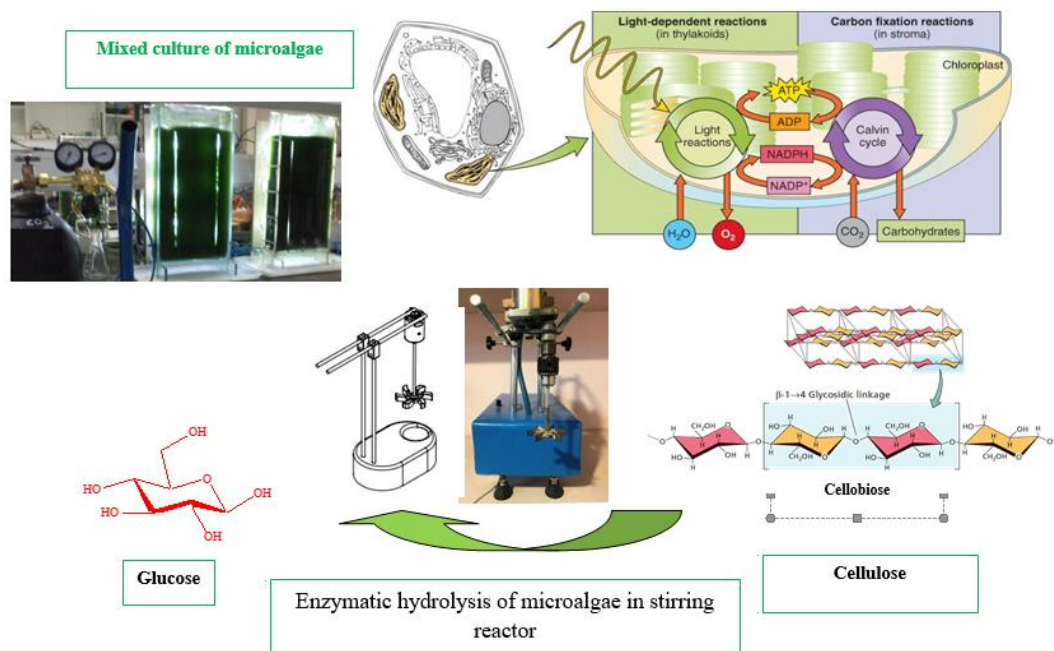
با توجه به تعداد بسیار اندک مقالات درباره استفاده از کشت مختلط جلبک [۹ و ۱۰] در این تحقیق از کشت‌های مختلط ریزجلبک استفاده شده است. کشت ریزجلبک‌ها به صورت کشت خالص، نیازمند ضدعفونی کردن فرایند است. این موضوع، سبب بالارفتن هزینه‌های سرمایه‌گذاری و عملیاتی خواهد شد. بنا بر این استفاده از کشت مختلط به دلیل بی‌نیازی از فرایندهای استریل کردن و سازگاری در شرایط مختلف عملیاتی، باعث توجیه‌پذیری اقتصادی فرایند خواهد شد [۱۱]. هم‌چنین، مطالعه حاضر با هدف ارائه بینش جدیدی در مورد نقش اختلاط و نوع همزن و حضور بافل در راکتور بر شکستن دیواره سلولی و تسهیل استخراج قندها از ریزجلبک‌ها در طول آبکافت آنزیمی انجام شده است. در این مقاله، برای نخستین بار تأثیر شرایط هیدرودینامیکی در آبکافت آنزیمی ریزجلبک مختلط بررسی شده است. در شکل (۱) طرحواره‌ای از کل فرایند نشان داده شده است.

## ۲. مواد و روش‌ها

در این تحقیق، همزن با قابلیت شبیه‌سازی راکتور STBR<sup>۴</sup> با سه درجه آزادی برای تغییر شرایط همزن داخل راکتور طراحی شد. منظور از درجات آزادی قابلیت تغییر همزن از نظر ارتفاع از کف راکتور، فاصله از کناره راکتور و زاویه با افق است. این همزن دارای گیربکس دو به یک برای بهبود عمل همزدن در دوره‌های پایین است، که در دوره‌های پایین به علت کاهش جریان ورودی به موتور و کاهش توان همزدگی در اثر کاهش گشتاور این طراحی انجام گرفته است. هم‌چنین برای شبیه‌سازی شرایط مخازن گوناگون و نصب انواع مختلف همزن با پره‌های متفاوت، سامانه نگهدارنده سه نظام، برای سهولت در تعویض پره‌ها طراحی شده است.

1. Lignin  
 2. Hemicellulose  
 3. Continuous Tank Batch Reactor

4. Stirred tank Batch Reactor



شکل ۱. طرحواره کلی از فرایند.

Figure 1. The general schematic of the process.

دمای محیط، pH برابر ۹ و دبی هوادهی ۸ لیتر بر دقیقه به همراه ۰/۰۴٪ دی اکسید کربن قرار گرفت. بعد از رشد ریزجلبک‌ها در فتوبیوراکتور، برداشت ریزجلبک با روش ته‌نشینی انجام شد. این زیست‌توده، بعد از برداشت فاسدشدنی است و باید خشک شود. بنابراین، ریزجلبک در آن تحت دمای ثابت ۶۰ °C تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد. این فرایند ۲۴ ساعت زمان نیاز داشت.

## ۲-۲ آبکافت آنزیمی

فرایند آبکافت آنزیمی با استفاده از آنزیم سلولاز (Celluclast 1.5 L) با فعالیت آنزیمی ۴۰ U/mg خریداری شده از شرکت Novozyme انجام می‌گیرد. مقادیر پروتئین اندازه‌گیری شده در هر میلی‌گرم از آنزیم سلولاز، ۰/۰۵۴ mg protein/ mg است. در مرحله اول، در ۹ آزمایش جداگانه، با استفاده از پره نوع روشتون<sup>۱</sup> و با غلظت اولیه آنزیم ۰/۴۱۶ mg protein/mL، واکنش آبکافت آنزیمی در دوره‌های ۵۰ rpm تا ۵۰۰ rpm انجام شد. سپس آزمایش با تغییر دور همزن طی ۹ ساعت از ۵۰ تا ۵۰۰ rpm (آزمایش ۱۰)، تغییر غلظت آنزیم با گذشت ۹ ساعت از آزمایش مقدراری برابر با آنزیم اولیه به راکتور با

۱-۲ کشت ریزجلبک و مواد استفاده‌شده در محیط کشت ابتدا گونه‌های مختلط و بومی ریزجلبک از آب‌های برکه ائل‌گلی تبریز در استان آذربایجان شرقی جمع‌آوری شد. سپس عملیات کشت ریزجلبک ابتدا در ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری همراه با همزدگی انجام گرفت. بعد از رشد ریزجلبک‌ها در ارلن، از آن برای کشت اصلی جلبک در فتوبیوراکتور صفحه‌ای تخت از جنس پلی‌کربنات، به حجم ۱۲ لیتر و حجم کاری ۱۰ لیتر، استفاده شده است. هم‌چنین نوردی این سامانه کشت با استفاده از لامپ‌های فلورسنت با شدت نور  $260 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  انجام و برای اندازه‌گیری شدت نور از نورسنج استفاده شد. محیط کشت ریزجلبک در ارلن و فتوبیوراکتور، شامل بی‌کربنات سدیم، نیترات سدیم، فسفات پتاسیم، سولفات منیزیم، کلرید کلسیم، کلرید پتاسیم به ترتیب با غلظت‌های ۱/۲۵، ۰/۸، ۰/۱۲، ۰/۱، ۰/۱، ۰/۱، ۰/۱ گرم بر لیتر و ۲ mL/L محلول تریس المنت خریداری شده از شرکت Merck آلمان است. محلول تریس المنت حاوی EDTA،  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ،  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  به ترتیب با غلظت‌های ۱۰، ۱۰، ۱۲، ۱۰، ۱۰، ۴، ۴، ۳، ۳، ۲۲، ۳، ۱۴، ۳ میلی‌گرم بر لیتر است. برای فراهم‌آوردن شرایط رشد ریزجلبک، فتوبیوراکتور در

1. Rushton

در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت به دست آمد. جرم آلی معلق (VSS) از راه اختلاف جرم زیست‌توده خشک شده و مقدار خاکستر حساب شد. برای اندازه‌گیری مقدار کل کربوهیدرات‌ها از معرف آنترون استفاده شد [۱۲]. برای اطمینان از صحت نتایج، هر آزمایش دو بار تکرار شده است.

#### ۲-۴ مدل‌سازی فرایند

##### ۲-۴-۱ محاسبه نرخ واکنش آبکافت آنزیمی

با استفاده از داده‌های آزمایشگاهی غلظت گلوکز حاصل از آبکافت آنزیمی سلولز در طول زمان، میزان نرخ واکنش آبکافت آنزیمی با رابطه (۱) به دست آمد. بدین منظور مقدار نرخ واکنش با استفاده از روش‌های عددی دیفرانسیلی با نرم افزار اکسل محاسبه حساب شد.

۵۰ rpm افزوده شد (آزمایش ۱۱)، افزایش غلظت اولیه آنزیم به دو برابر در راکتور با ۵۰ rpm (آزمایش ۱۲)، افزودن بافل به راکتور با همزن روتون با ۵۰ rpm (آزمایش ۱۳)، تغییر نوع همزن به پروپلر<sup>۱</sup> به همراه بافل با ۵۰ rpm (آزمایش ۱۴) انجام شد. در جدول (۱) آزمایش‌های انجام‌گرفته نشان داده شده است.

#### ۲-۳ روش‌های تجزیه

غلظت زیست‌توده جلبک از راه اندازه‌گیری جرم خشک کل (TSS)<sup>۲</sup> حساب می‌شود. برای اندازه‌گیری مقدار (TSS)، ۴۰ میلی‌لیتر از آویزش ریزجلبکی برداشته شد. سپس از راه سانتریفیوژ در ۶۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه، خالی کردن مایع رویی، خشک‌کردن زیست‌توده به مدت ۲۴ ساعت در آون مقدار آن اندازه‌گیری شد. مقدار خاکستر، از راه سوزاندن زیست‌توده خشک‌شده در کوره،

جدول ۱. آزمایش‌های آبکافت آنزیمی.

Table 1. Enzymatic hydrolysis experiments.

Experimental number	Stirring Speeds (rpm)	Enzyme concentration $D_E$ (mg protein/mL)	Impeller type
1	500	0.416	Rushton
2	400		
3	300		
4	250		
5	200		
6	150		
7	100		
8	75		
9	50		
10	The impeller speed changed from 50 to 500 rpm during 9 hours		
11	50	An enzyme concentration equal to the initial enzyme concentration was added to the reactor at 9 hours after the start of the experiment. 0.416+0.416	
12	50	0.832	
13	500	0.416	Rushton + Baffle
14	500	0.416	Propeller + Baffle

1. Propeller

2. Total Suspended Solid

3. Vaporised Suspended Solid

واکنش ( $\text{g.s}^{-1}.\text{m}^{-1}$ ) است:

$$\text{Re} = \frac{\rho \cdot N \cdot d_T^2}{\mu_a} \quad (5)$$

هم‌چنین برای عدد اشمیت به‌عنوان تابعی از گرانشی محیط واکنش  $\mu_a$ ، چگالی  $\rho$  و نفوذپذیری آنزیم  $D$  رابطه زیر برقرار است:

$$\text{Sc} = \frac{\mu_a}{\rho D} \quad (6)$$

با برابر قراردادن مقادیر عدد شرود به‌دست‌آمده از رابطه (۲) با رابطه (۴) مقادیر  $K_c$  (ضریب انتقال جرم) در دوره‌های مختلف همزن و زمان‌های مختلف قابل محاسبه است؛ اما برای محاسبه عددی  $K_c$  ضروری است فرضیاتی در نظر گرفته شود. می‌توان فرض کرد که طی فرایند آبکافت آنزیمی، آنزیم‌های دی‌پلمیرکننده در محیط حضور دارند و برای رسیدن به سطح زیست‌توده نفوذ می‌کنند. این نفوذ پس از رسیدن آنزیم به سطح میکروفیبرهای آمورفی سلولز انجام می‌گیرد [۱۷-۱۴]. بر همین اساس در رابطه (۳) برای محاسبه  $L$  طول مشخصه نفوذ آنزیم درون میکروفیبرهای آمورفی سلولز، قطر این میکروفیبرها، ( $0.16$  میکرومتر) به‌عنوان طول مشخصه برای محاسبات انتقال جرم در نظر گرفته شد [۱۸، ۱۷، ۱۵]. هم‌چنین نفوذپذیری آنزیم را می‌توان با استفاده از رابطه (۷) حساب کرد [۱۹].

$$D = 7.4 \times 10^{-8} \frac{T \cdot M_E^{0.5}}{\mu_a \cdot V_E^{0.6}} \quad (7)$$

که در آن  $T$  دمای کلوین،  $M_E$  وزن مولکولی آنزیم ( $\text{g/mol}$ )،  $\mu_a$  شعاع مولکولی آنزیم و  $V_E$  نیز به‌عنوان حجم مولکولی آنزیم از رابطه (۸) قابل محاسبه است [۱۹]:

$$V_E = N_A \cdot \frac{4}{3} \pi \cdot r^3 \quad (8)$$

آنزیم مورد استفاده در این تحقیق سلولاز است که با فرض کروی بودن شکل فضایی آنزیم و هم‌چنین با توجه به اطلاعات شرکت سازنده آنزیم سلولاز، مقدار  $M_E$  را  $68 \text{ kDa}$ ،  $N_A$  عدد

$$R = \frac{dC_G}{dt} \quad (1)$$

باید در نظر داشت که میزان نرخ واکنش به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری غلظت گلوکز و حاصل داده‌های تجربی است. در صورتی که اعداد به‌دست‌آمده برای ضریب انتقال جرم ( $K_c$ ) و نرخ انتقال جرم ( $J$ ) حاصل محاسبات ریاضی است.

#### ۲-۴-۲ محاسبه نرخ انتقال جرم

به‌طور منطقی می‌توان فرض کرد که افزایش یا کاهش دور همزن طی فرایند آبکافت آنزیمی با تأثیر بر میزان دسترسی آنزیم‌های آبکافت‌کننده به سطح سوبسترا، نرخ واکنش آبکافت آنزیمی را تغییر می‌دهد. در نتیجه میزان نرخ انتقال جرم حاصل از تغییرات دور همزن حساب شد. برای این کار، ابتدا مقادیر ضریب انتقال جرم ( $K_c$ ) حساب شد. در بیان انتقال جرمی عدد شرود را به‌عنوان یک عدد بی بعد داریم:

$$\text{Sh} = \frac{\text{نرخ انتقال جرم همرفتی}}{\text{نرخ نفوذ}} \quad (2)$$

با بیان رابطه به‌صورت پارامتری رابطه زیر بدست می‌آید:

$$\text{Sh} = \frac{K_c \cdot L}{D} \quad (3)$$

که در آن  $K_c$  ضریب انتقال جرم ( $\text{m.s}^{-1}$ )،  $L$  طول مشخصه آنزیم محلول ( $\text{m}$ ) و  $D$  نفوذپذیری آنزیم ( $\text{m}^2.\text{s}^{-1}$ ) است. از طرفی عدد شرود ( $\text{Sh}$ ) با استفاده از رابطه (۴) [۱۳] که آن را به‌عنوان تابعی از عدد رینولدز ( $\text{Re}$ ) و عدد اشمیت ( $\text{Sc}$ ) بیان می‌کند قابل محاسبه است:

$$\text{Sh} = 0.69 \cdot \text{Re}^{0.5} \cdot \text{Sc}^{\frac{1}{3}} \quad (4)$$

برای محاسبه عدد رینولدز درون رابطه عدد شرود (رابطه (۴))،  $\rho$  چگالی محیط واکنش برابر با چگالی آب در نظر گرفته شد ( $\text{g/L}$ )،  $N$  دور همزن ( $\text{rad/s}$ )،  $d_T$  قطر راکتور ( $\text{m}$ ) و  $\mu_a$  گرانشی محیط

آوگادرو و برای  $n_E$  ۵ nm می‌توان در نظر گرفت [۲۲-۲۰]. با توجه به محتوای آبی محیط واکنش، چگالی محلول ثابت مانده و نزدیک به چگالی آب است ( $10^3 \text{ Kg.m}^{-3}$ ). پس از محاسبه  $k_c$  نرخ انتقال جرم با معادله زیر به دست می‌آید:

$$J = K_c \cdot a \cdot (C_E^0 - C_E) \quad (9)$$

در زمان اولیه واکنش و همچنین هنگامی که نرخ انتقال جرم بسیار پایین است، مقدار  $C_E$  (غلظت آنزیم) در مقایسه با  $C_E^0$  (غلظت اولیه آنزیم) به دلیل این که بسیاری از مولکول‌های آنزیم به سطح ماتریس سلولز نرسیده‌اند، قابل نظر است. در نتیجه میزان حد اکثر نرخ انتقال جرم برابر است با:

$$J_{\max} = K_c \cdot a \cdot C_E^0 \quad (10)$$

برای محاسبه حداکثر نرخ انتقال جرم  $C_E^0$  و  $a$  (سطح مخصوص خارجی جامد) از معادلات زیر استفاده می‌شود:

$$a = S_s \cdot G' \cdot T_s \cdot \rho \quad (11)$$

که در آن  $S_s$  سطح مخصوص سوبسترا ( $\text{m}^2/\text{g}$ ) برابر با  $(\text{m}^2 \cdot \text{g}_{\text{cell}}^{-1}) \times 10^{-5} \cdot [4/2] \cdot T_s$  جزء جامد کل (w/w)،  $G'$  جزء گلوکان در زیست‌توده (W/W) است. برای محاسبه غلظت اولیه آنزیم نیز از رابطه ۱۲ که  $D_E$  در آن غلظت آنزیم با واحد  $\text{g protein. g glucane}^{-1}$  استفاده می‌شود.

$$C_E^0 = D_E \cdot G' \cdot T_s \cdot \rho \quad (12)$$

## ۳. نتایج و بحث

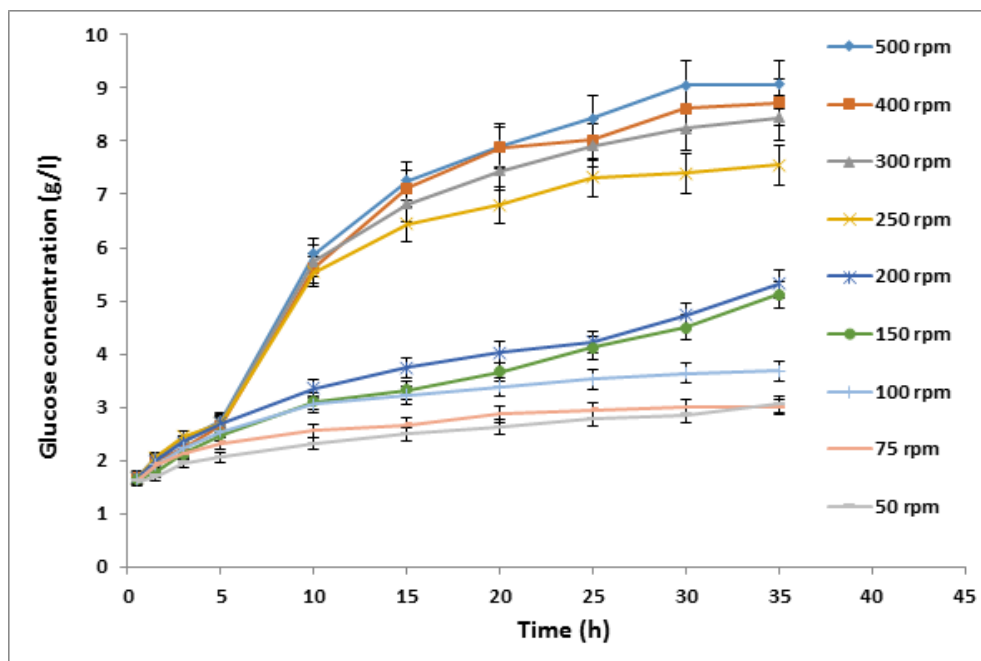
### ۳-۱- مشخصه‌یابی ریزجلبک‌های کشت‌شده

پس از گذشت ۴۲ روز از کشت ریزجلبک‌ها، میزان کربوهیدرات از کل جرم زیست‌توده ۱۵/۸۴٪ اندازه‌گیری شد. سپس برای افزایش ذخیره کربوهیدراتی زیست‌توده، به راکتور قحطی نیترا داده شد؛ زیرا ریزجلبک‌ها با تغییر مواد مغذی در دسترس و عدم وجود ماده

مورد نیاز خود، چرخه متابولیکی خود را تغییر می‌دهند و درصد مواد ذخیره شده در آن‌ها تغییر می‌کند. با توجه به مطالعات گذشته [۲۴، ۱۰] مشاهده شده بود که قحطی نیترا در اکثر گونه‌های مختلط کشت ریزجلبک موجب افزایش ذخیره کربوهیدراتی در ریزجلبک می‌شود؛ بنابراین در این پژوهش نیز طی دو مرحله اعمال قحطی، مقدار کربوهیدرات کل زیست‌توده به ۲۶٪ بر اساس TSS رسید. غلظت زیست‌توده طی ۷۴ روز کشت از  $0.3 \text{ g/L}$  به  $3/1 \text{ g/L}$  افزایش یافت. مقادیر خاکستر، VSS و کربوهیدرات کل در پایان کشت به ترتیب برابر با  $0.1815$ ،  $2/2847$  و  $0.803$  گرم بر لیتر اندازه‌گیری شدند. مقادیر کربوهیدرات ذخیره‌شده بر اساس TSS برابر با ۲۶٪ و یا ۳۵٪ بر اساس VSS است.

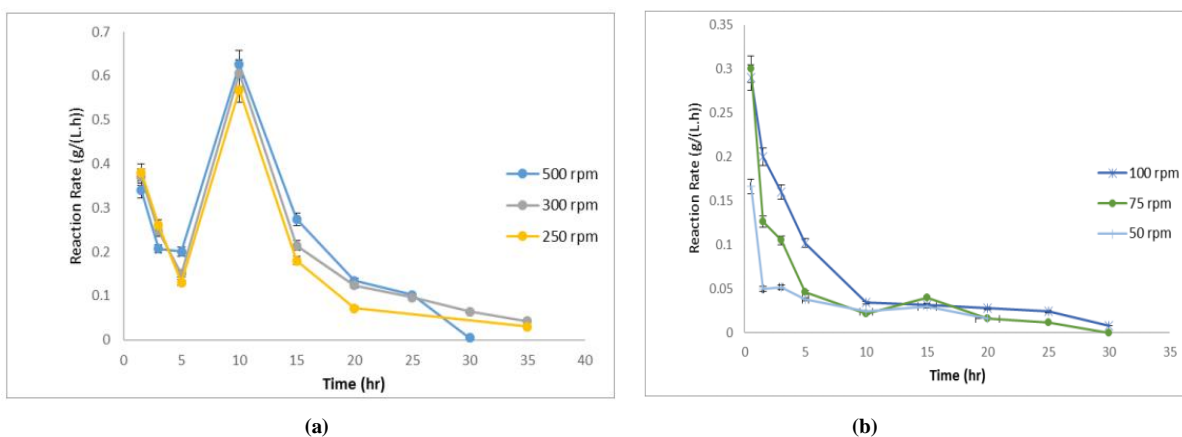
### ۳-۲- آبکافت آنزیمی زیست‌توده ریزجلبک

شکل (۲) نتایج در دوره‌های همزن بین ۵۰ تا ۵۰۰ rpm و با غلظت اولیه آنزیم  $(0.416 \text{ mg protein/mL})$  را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج، سرعت دور همزن تأثیر مهمی بر میزان گلوکز تولیدی در طول فرایند آبکافت آنزیمی دارد. افزایش سرعت دور همزن، منجر به افزایش مقادیر نهایی غلظت گلوکز آزاد و همچنین سرعت واکنش آبکافت می‌شود. حد اکثر غلظت گلوکز آزاد شده برابر  $9.07 \text{ g/L}$  و بازده بالای تولید قند در فرایند آبکافت زمانی به دست می‌آید که سرعت دور همزن بیشتر از ۳۰۰ rpm و برابر با ۵۰۰ rpm است. نتایج برای دوره‌های بین ۳۰۰ تا ۵۰۰ rpm تقریباً یکسان بوده و تنها در سرعت ۲۵۰ rpm غلظت گلوکز حاصل از آبکافت کمتر از آزمایش‌های مشابه با دور بالاتر است. علت ناپیوستگی مقادیر قند آزاد شده مابین دوره‌های ۲۰۰ و ۲۵۰ rpm را می‌توان مرتبط به تغییر رژیم جریان از متلاطم به آرام دانست؛ زیرا با کاهش تلاطم میزان دسترسی آنزیم به سطح میکروفیبر سلولز و آبکافت آن‌ها کاهش می‌یابد که این میزان کاهش تلاطم مابین دوره‌های ۲۵۰ و ۲۰۰ منجر به تغییر رژیم جریان از متلاطم به آرام است. هم‌چنین دیگر در آزمایش‌های انجام‌شده در سرعت‌های پایین (۵۰ تا ۱۰۰ rpm)، غلظت گلوکز حاصل از آبکافت برابر با  $3/05 \text{ g/L}$  و بسیار کمتر از مقادیر گلوکز در سرعت‌های بالای همزن است.



شکل ۲. گلوکز آزاد شده طی آزمایش‌های ۱ تا ۹ در دوره‌های مختلف همزن بین ۵۰ تا ۵۰۰ rpm و طی زمان.

Figure 2. Glucose concentration at different stirring speeds ranging from 50 to 500 rpm versus time at experiments 1 to 9.



شکل ۳. نرخ کلی واکنش آبکافت در طول زمان در دوره‌های (a) ۵۰۰، ۳۰۰ و ۲۵۰ rpm (b) ۷۵، ۱۰۰ و ۵۰ rpm.

Figure 3. The hydrolysis rate versus time at (a) 500, 300, and 250 rpm, (b) 75, 100, and 50 rpm.

در شکل (۳) - a مشاهده می‌شود که نرخ کلی واکنش در دوره‌های بالای همزن پس از مصرف مقدار اولیه آنزیم تا ۵ ساعت از شروع آزمایش کاهش می‌یابد، که این اتفاق با توجه به کاهش غلظت آنزیم منطقی است؛ اما بین ساعت ۵ تا ۱۰ در همه آزمایش‌های با دور بالای همزن نرخ کلی واکنش به شدت افزایش یافته است. این در حالی است که در دوره‌های پایین نرخ کلی واکنش پس از شروع واکنش تا انتها روندی نزولی از خود نشان می‌دهد. که این موضوع

در شکل (۳) - b مشاهده می‌شود. دلیل این امر را می‌توان این گونه توضیح داد که در آزمایش‌هایی با دور بالای همزن، هنگام شروع واکنش، غلظت بالای آنزیم موجب آزادسازی مقدار بالایی گلوکز می‌شود، که با گذشت زمان و مصرف آنزیم شیب این افزایش مقدار گلوکز آزاد شده یعنی نرخ واکنش آبکافت کاهش می‌یابد. در زمان‌های ۵ تا ۱۰ ساعت با کاهش بیشتر گرانیوی سیال درون مخزن، میزان همزدگی و در دسترس بودن سوبسترا (سلولز) برای



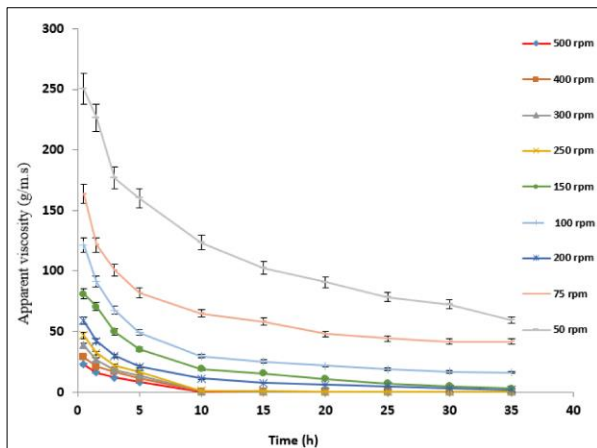
تحت تأثیر قرار می‌دهد که مقادیر بالای انتقال جرم (سرعت بالای همزن) به معنای مقادیر بالای قند آزاد شده در طول زمان واکنش آبکافت آنزیمی است.

### ۳-۳ بررسی عدد رینولدز در طول فرایند آبکافت آنزیمی

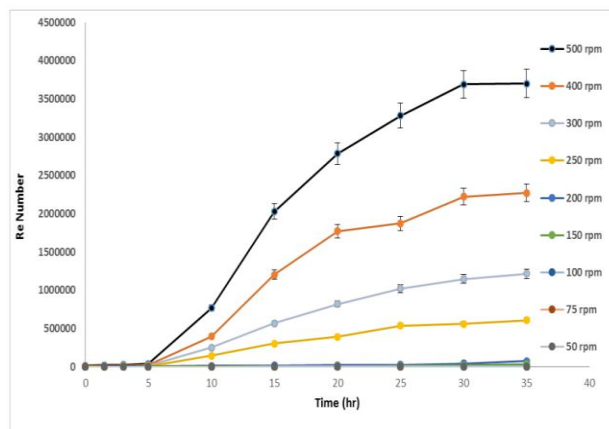
به منظور تعمیم نتایج به دست آمده، اثر میزان اغتشاش بر انتقال جرم در سرعت‌های مختلف همزن، با بررسی مقادیر عدد رینولدز مطالعه شد. تغییرات گرانیوی محیط و عدد رینولدز به‌عنوان تابعی از سرعت همزن در شکل (۴) نشان داده شده است.

چنان که مشاهده می‌شود، عدد رینولدز، با وجود ثابت بودن دور همزن در هر یک از آزمایش‌های ۱ تا ۹ با گذشت زمان به‌صورت قابل توجهی افزایش پیدا کرده است. علت آن کاهش گرانیوی سیال محیط آزمایش است، که با عدد رینولدز رابطه عکس دارد. سیال محیط آزمایش با گذشت زمان و رسیدن آنزیم‌های سلولاز به فیبرهای سلولز و آبکافت آن‌ها، باعث کاهش گرانیوی محیط آزمایش می‌شود. به‌طور خلاصه می‌توان گفت که زیست‌توده حاوی سلولز بسیار گرانیوتر از محیط آبکافت‌شده قندی حاوی گلوکز است. از این رو عدد رینولدز را می‌توان به‌عنوان یک عامل مهم برای سرعت واکنش آبکافت آنزیمی در نظر گرفت. به این ترتیب که با کاهش گرانیوی و افزایش عدد رینولدز و تغییر رژیم جریان از جریان آرام به متلاطم میزان انتقال جرم و احتمال رسیدن مولکول‌های آنزیم (سلولاز) به سوبسترای مورد نظر برای آبکافت (سلولز) افزایش

واکنش با آنزیم تأثیر کاهش غلظت آنزیم را جبران کرده، میزان نرخ کلی واکنش به‌شدت افزایش می‌یابد؛ اما در دوره‌های پایین این میزان کاهش گرانیوی به اندازه‌ای نیست که کاهش میزان آنزیم در دسترس و تأثیر آن بر نرخ کلی واکنش را جبران نماید. در نتیجه در طول آزمایش نرخ واکنش پیوسته کم می‌شود. در آزمایش‌های با مقادیر بالای سرعت همزن، غلظت گلوکز به‌صورت پیوسته افزایش می‌یابد تا این‌که تقریباً به مقدار بالای ۹ g/L می‌رسد. اما در آزمایش‌های با سرعت همزدن پایین، افزایش غلظت گلوکز وابسته به میزان آنزیم موجود در محیط است. هم‌چنین مقدار آزادسازی گلوکز یا آبکافت سلولز در طول فرایند قندی‌سازی آنزیمی در تمامی آزمایش‌ها تا ساعت ۵ پس از شروع آزمایش، مشابه هم است. پس از آن میزان انتقال جرم به‌تبع افزایش دور همزن تأثیر خود را بر قندی‌سازی نشان می‌دهد و تغییر چشم‌گیری در آزمایش‌های با دور پایین و دور بالا مشاهده می‌شود. این نتایج با یافته‌های چاکرابورتی و همکاران [۷] و هم‌چنین، وجتوسکی و همکارانش انطباق دارد [۱۳]. برای آزمایش‌های انجام‌شده در دور همزن متوسط (دوره‌های بین ۱۵۰ تا ۲۰۰ rpm) یک رفتار انتقالی بین دوره‌های همزن بالا و پایین می‌تواند مشاهده شود، اگرچه بازه نهایی گلوکز مشابه آزمایش‌هایی است که در سرعت‌های بالای همزن به دست می‌آید؛ اما سرعت آبکافت پایین‌تر است. در پایان بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از شکل (۳) می‌توان گفت سرعت همزدن و در نتیجه سرعت انتقال جرم، کارایی آبکافت آنزیمی زیست‌توده ریزجلبک را



(a)



(b)

شکل ۴. (a) تغییرات گرانیوی ظاهری با زمان (b) تغییر عدد رینولدز طی زمان در آزمایش‌های ۱ تا ۹.  
Figure 4. (a) The apparent viscosity versus time; (b) Reynolds number versus time at experiments 1 to 9.

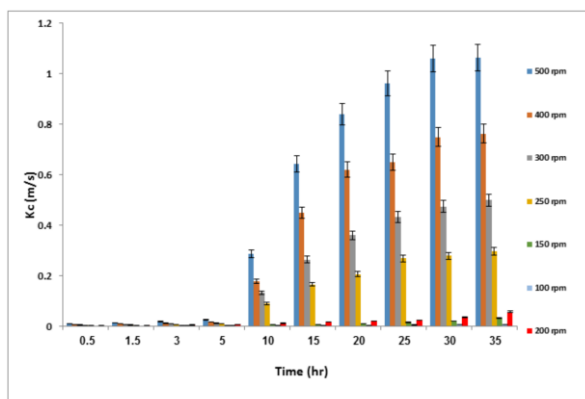
که دیده می‌شود مقادیر  $k_c$  با گذشت زمان واکنش، در تمامی آزمایش‌ها به دلیل افزایش همزدگی و فرصت کافی برای انتقال جرم افزایش می‌یابد؛ اما افزایش  $k_c$  برای آزمایش‌هایی که با دور بالا انجام می‌شوند بسیار بالاتر است. این تفاوت‌ها خود را در مقادیر نهایی گلوکز آزاد شده به وسیله آبکافت آنزیمی سلولاز نیز نشان می‌دهد که این امر را می‌توان در شکل (۵) - a مشاهده کرد. سپس با استفاده از معادله (۱۰) بیشینه نرخ انتقال جرم ( $J_{max}$ ) نیز قابل محاسبه شد، که نتایج این محاسبات در شکل (۵) - b پیداست. براساس شکل (۵) - b، بیشینه نرخ انتقال جرم در دوره‌های بالا به شدت افزایش می‌یابد. در حالی که در دوره‌های پایین، در نتیجه وجود مقاومت انتقال جرم به علت بالا بودن گرانیوی سیال، این عدد بسیار ناچیز است. به عبارت دیگر در دوره‌های پایین تأثیر انتقال جرم در آبکافت آنزیمی بسیار کم است.

برای نشان دادن اهمیت نسبی مقاومت انتقال جرم، بیشینه نرخ انتقال جرم با نرخ کلی واکنش آبکافت آنزیمی باید مقایسه شود. در شکل (۶) تغییرات بیشینه انتقال جرم و نرخ کلی فرایند آبکافت آنزیمی طی زمان واکنش در دوره‌های مختلف همزن نشان داده شده است.

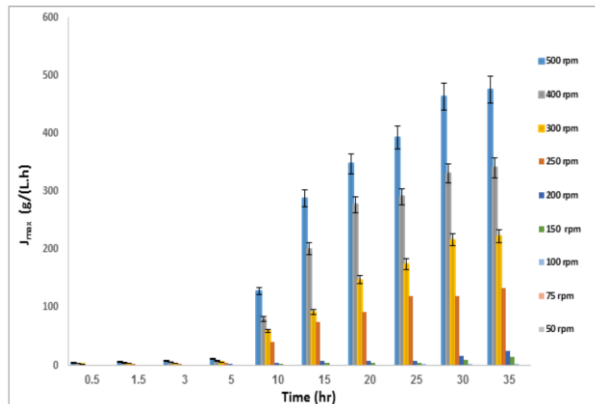
می‌یابد. به بیان دیگر اگر سرعت همزدگی محیط داخل راکتور بالا باشد، عدد رینولدز بالای حاصل از آن موجب افزایش میزان انتقال جرم و افزایش نرخ واکنش آبکافت آنزیم خواهد شد. این نتایج با نتایج پژوهش و جتوسکی و همکارانش [۱۳] انطباق دارد.

### ۳-۴ ارزیابی انتقال جرمی در واکنش آبکافت آنزیمی

با استفاده از معادلات ۲ تا ۱۰ مقادیر ضریب انتقال جرم ( $K_c$ ) و بیشینه نرخ انتقال جرم ( $J_{max}$ ) در زمان‌های مختلف برای آزمایش‌های ۱ تا ۹ تخمین زده شده است که نتایج در شکل (۴) - a، b نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود مقادیر  $k_c$  در سرعت‌های مختلف دور همزن بسیار متفاوت است. به‌طور مثال در آزمایش شماره ۱ (۵۰۰ rpm) مقدار  $k_c$  عدد  $(1/06 \text{ m/s})$  به دست آمده است و در آزمایش شماره ۹ (۵۰ rpm) مقدار  $k_c$  به  $(0/0149 \text{ m/s})$  رسیده است که این اختلاف زیاد، بازدهی بالای فرایند آبکافت را نشان می‌دهد و بیانگر آن است که انتقال جرم بیشتر در سرعت‌های بالای همزن به وقوع می‌پیوندد. علت این پدیده آن است که در دور پایین همزن نرخ انتقال جرم پدیده کنترل‌کننده فرایند آبکافت آنزیمی است. هم‌چنین همان‌طور



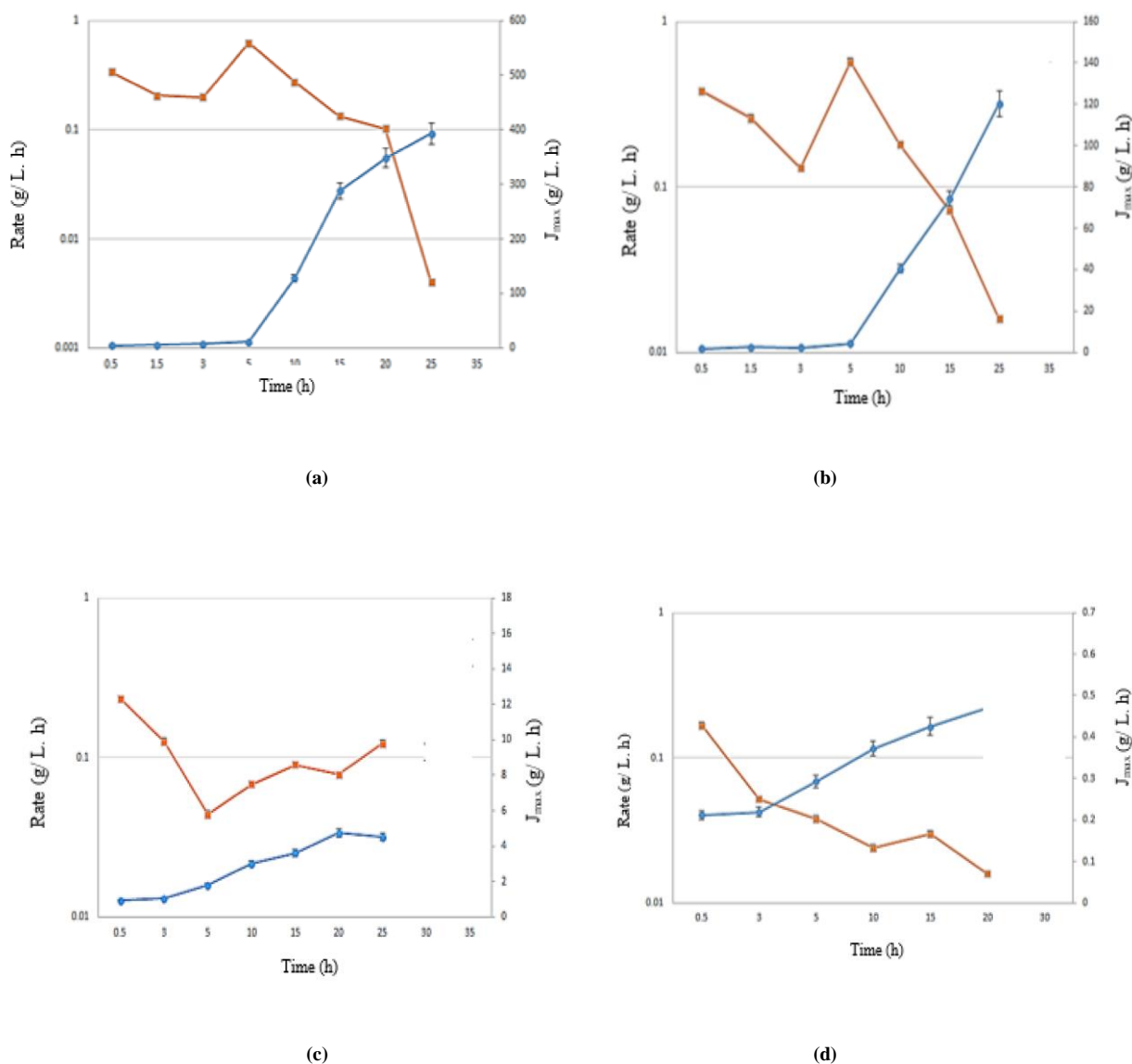
(a)



(b)

شکل ۵. (a) مقادیر ضرایب انتقال جرم در دوره‌های مختلف همزن طی زمان، (b) بیشینه انتقال جرم در دوره‌های مختلف همزن طی زمان

Figure 5. (a) The mass transfer coefficients at different impeller speeds versus time, (b) Maximum mass transfer at different impeller speeds versus time.



شکل ۶. تغییرات نرخ کلی واکنش آبکافت و بیشینه نرخ انتقال جرم در مقابل زمان در دوره‌های مختلف همزن (a) ۵۰۰، (b) ۲۵۰، (c) ۱۵۰، (d) ۵۰ rpm. (مربع قرمز: نرخ واکنش، دایره آبی: بیشینه نرخ انتقال جرم).

Figure 6. Figure 6. The rate of hydrolysis reaction and the maximum mass transfer rate versus time at different impeller speeds (a) 500, (b) 250, (c), 150 (d) 50 rpm. (Red square: reaction rate, blue circle: maximum mass transfer rate).

از ۵ تا ۱۰ ساعت با کاهش یافتن بیشتر گرانیوی سیال درون مخزن و افزایش تلاطم سامانه، بیشینه انتقال جرم افزایش یافته و در نتیجه نرخ واکنش آبکافت آنزیمی با شیبی تند بالا رفته است. بعد از گذشت ۱۰ ساعت، دلیل کاهش نرخ واکنش آبکافت آنزیمی را می‌توان، در مصرف آنزیم سلولاز و کاهش غلظت آن در راکتور جستجو کرد. به عبارت دیگر بین ساعت‌های ۵ تا ۱۰ با کاهش گرانیوی و افزایش اختلاط و در نتیجه نرخ افزایش انتقال جرم،

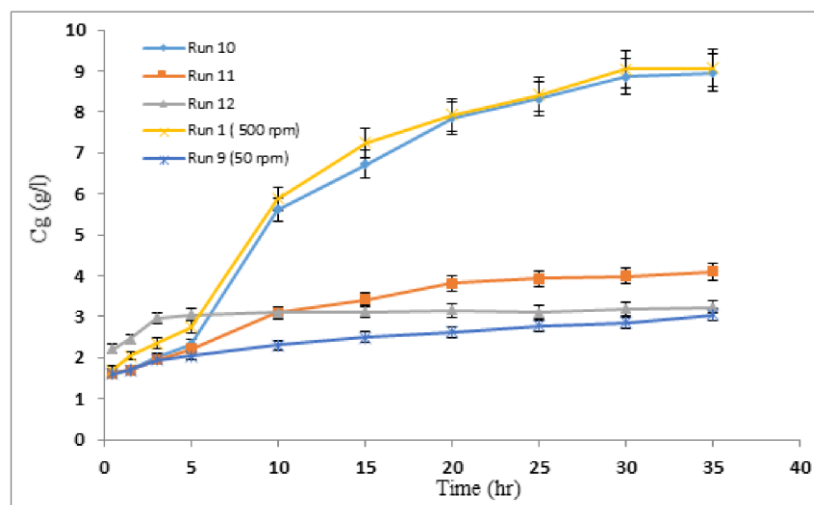
در چهار آزمایش ابتدایی با دوره‌های ۵۰۰-۴۰۰-۳۰۰-۲۵۰ rpm بعد از گذشت ۵ ساعت از شروع واکنش، رژیم جریان سیال درون مخزن متلاطم می‌شود. (نتایج دوره‌های ۵۰۰ و ۲۵۰ rpm در شکل‌های (۶) - a, b نشان داده شده است). چنان که پیداست همراه با افزایش بیشینه نرخ انتقال جرم، نرخ واکنش آبکافت آنزیمی نیز افزایش یافته است. به عبارت دیگر در ۵ ساعت ابتدایی، پدیده انتقال جرم پیشرفت کلی واکنش آبکافت را کنترل کرده است.

بازه‌ای از آزمایش که این افزایش نرخ انتقال جرم بر کاهش غلظت آنزیم غلبه می‌کند، نرخ کلی واکنش به‌صورت مقطعی افزایش می‌یابد؛ اما در دوره‌های پایین همزن که رژیم جریان سیال آرام است مقادیر نرخ انتقال جرم با وجود دارا بودن روند صعودی به اندازه‌ای پایین است که نمی‌تواند بر تأثیر کاهش غلظت آنزیم غلبه کند و نرخ کلی واکنش را افزایش دهد. در نتیجه می‌توان گفت که در دوره‌های پایین همزن نرخ کلی فرایند آبکافت آنزیمی به‌وسیله نرخ انتقال جرم کنترل می‌شود؛ اما در دوره‌های بالاتر همزن نرخ انتقال جرم دیگر مرحله کنترل‌کننده نرخ واکنش آنزیمی نیست، بلکه به‌علت کاهش غلظت آنزیم در دسترس، خود واکنش آنزیمی که تابع غلظت آنزیم است، پدیده کنترل‌کننده نرخ کلی واکنش است. این نتایج با نتایج پژوهش وجتوسکی و همکارانش [۱۳] انطباق دارد.

### ۳-۵ اثر سرعت همزن در مقایسه با تغییر غلظت اولیه آنزیم بر فرایند آبکافت آنزیمی

برای بررسی تأثیر تغییر دور همزن و همچنین تغییر غلظت آنزیم طی فرایند آبکافت سه آزمایش ۱۰ تا ۱۲ انجام شد. در آزمایش شماره ۱۰، همزدگی از دور پایین ۵۰ rpm طی ۹ ساعت به ۵۰۰ rpm رسید. همان‌طور که در شکل (۷) مشاهده می‌شود نرخ آبکافت آنزیمی با افزایش دور همزن رشد بسیار بالایی داشته است که علت

آنزیم‌هایی که قبل از این بازه زمانی نمی‌توانستند خود را به سطح مولکول‌های سلولز برسانند، به سوپسترای مورد نظر می‌رسند و با نرخ بالایی مصرف می‌شوند. پس از این بازه زمانی (ساعت ۱۰ به بعد) به‌علت کاهش غلظت آنزیم در محیط، نرخ واکنش آبکافت نیز کاهش می‌یابد. در شکل (۶) - c مشاهده می‌شود که در آزمایش با دور ۱۵۰ rpm که پس از گذشت ۵ ساعت از شروع واکنش، رژیم جریان به حالت گذار وارد می‌شود، افزایش نرخ کلی واکنش آبکافت آنزیمی ناشی از افزایش بیشینه نرخ انتقال جرم با تأخیر نسبت به آزمایش‌هایی با دور بالا رخ می‌دهد. علت این تأخیر نسبت به دوره‌های بالا، پایین بودن تلاطم سامانه و پایین بودن مقادیر بیشینه نرخ انتقال جرم است. در پایان با توجه به شکل (۶) - d مشاهده می‌شود که بر خلاف آزمایش‌های با دور بالا و دور متوسط در سرعت‌های پایین همزن که رژیم جریان آرام است، افزایش بیشینه نرخ انتقال جرم تأثیری بر روی نرخ کلی واکنش آبکافت آنزیمی ندارد و این مؤلفه پیوسته در حال کاهش است. به‌طور کلی واکنش‌های آنزیمی با کاهش غلظت آنزیم طی زمان واکنش پیوسته کاهش می‌یابد؛ اما در دوره‌های بالا و متوسط همزن ما بین ۲۵۰ تا ۵۰۰ rpm، که رژیم جریان سیال محیط آزمایش آرام و متلاطم است، همزدگی منجر به افزایش نرخ انتقال جرم در سامانه شده، در



شکل ۷. مقدار گلوکز آزادشده در آزمایش‌های ۱۰ تا ۱۲ در مقایسه با آزمایش‌های ۱ و ۹.

Figure 7. The glucose concentration at experiments 10,11, and 12 compared to experiments 1 and 9.

آن افزایش نرخ انتقال جرم به‌علت همزدگی است. از همین رو بعد از ۹ ساعت تولید گلوکز تشدید شد تا با نتایج آزمایش شماره ۱ (دور

۵۰۰ rpm ثابت) برابر شود. در آزمایش شماره ۱۱ با دور همزن ۵۰ rpm پس از طی ۹ ساعت بار دیگر یک دوز آنزیم برابر با دوز اولیه یعنی ۰/۴۱۶ mg protein/mL سلولاز، به محیط آزمایش افزوده شد. پیداست که افزودن آنزیم در حالتی که آزمایش در حال انجام است، باعث افزایش نرخ آبکافت به صورت بسیار آرام می‌شود، این امر به علت افزایش غلظت آنزیم است؛ ولی این تأثیر بسیار کمتر از افزایش نرخ آبکافت حاصل از افزایش دور همزن در آزمایش قبلی است. در نهایت در آزمایش ۱۲ غلظت اولیه‌ای معادل با دو برابر غلظت اولیه آنزیم در آزمایش‌های قبلی یعنی ۰/۸۳۲ mg protein/mL در دور ۵۰ rpm به راکتور اضافه شد. افزایش غلظت گلوکز در این آزمایش را می‌توان با مقادیر به دست آمده در آزمایش شماره ۱ (۵۰۰ rpm) و شماره ۹ (۵۰ rpm) مقایسه کرد. چنان که در شکل (۶) پیداست، نتیجه آزمایش ۱۲ با چشم‌پوشی از مقدار اختلاف بسیار کمی که به علت خطای آزمایش می‌تواند باشد، بسیار نزدیک به آزمایش انجام گرفته در دور ۵۰ rpm (آزمایش شماره ۹) است؛ با این تفاوت که در ابتدای واکنش به علت بالا بودن غلظت آنزیم اولیه مقدار گلوکز آزاد شده بسیار بالاتر از آزمایش‌های دیگر است؛ اما با گذشت زمان و کاهش غلظت آنزیم در دسترس، سرعت آزادسازی گلوکز کاهش یافت. غلظت گلوکز بعد از ۳۵ ساعت از شروع آزمایش به عدد ۳/۲۴ g/l رسید. در حالی که مقدار نهایی گلوکز آزاد شده در آزمایش شماره ۹ با همان دور همزن و با نصف غلظت اولیه آنزیم (آزمایش شماره ۱۲)، برابر با ۳/۰۵ g/l است. به عبارت دیگر تأثیر افزایش دور همزن (آزمایش شماره ۱۰) در افزایش نرخ واکنش آبکافت آنزیمی بسیار بیشتر از تأثیر افزایش غلظت آنزیم (آزمایش‌های شماره ۱۱ و ۱۲) است. با بررسی آزمایش‌های شماره ۱۱ و ۱۲ که میزان قند آزاد شده در آن‌ها متفاوت است، می‌توان گفت که افزودن یک‌بارۀ مقدار بالای آنزیم (آزمایش شماره ۱۲) در ابتدای واکنش موجب کاهش بهره‌وری مصرف آنزیم نسبت به گلوکز آزاد شده در قیاس با افزودن مقطعی آنزیم تازه طی واکنش آبکافت (آزمایش شماره ۱۱) می‌شود. علت این امر را می‌توان به کاهش فعالیت آنزیم سلولاز طی واکنش نسبت داد؛ زیرا زمانی که مقادیر بالای آنزیم در ابتدای آزمایش به راکتور اضافه می‌شود، احتمال از بین رفتن و کاهش فعالیت آنزیم‌ها به سبب شرایط عملیاتی افزایش می‌یابد.

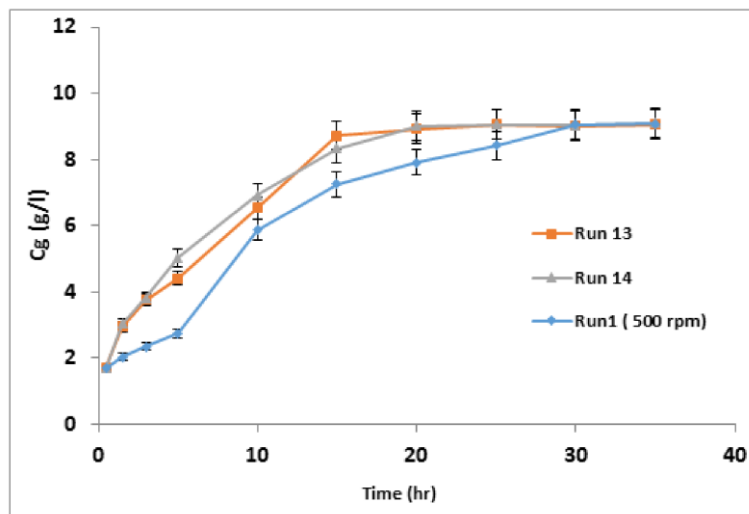
### ۳-۶ بررسی تأثیر بافل و نوع همزن بر واکنش آبکافت

#### آنزیمی

برای بررسی تغییر نوع همزن و افزودن بافل به سامانه در آزمایش‌های شماره ۱۳ و ۱۴ انجام شد و نتایج حاصل در شکل (۸) نتایج نشان داده شده است. این آزمایش‌ها به علت برابر بودن سرعت دور همزن با آزمایش شماره ۱ قابل قیاس هستند. در آزمایش ۱۳ که با اضافه شدن بافل به راکتور در دور ۵۰۰ rpm انجام شد، مشاهده شد که در زمان‌های اولیه آزمایش، نرخ واکنش آبکافت بیشتر از مقادیر اندازه‌گیری شده در آزمایش با دور یکسان همزن و بدون بافل (آزمایش شماره ۱) است. دلیل این امر تشکیل نشدن گردابه به علت نصب بافل و در نتیجه افزایش اغتشاش در سامانه و متعاقب آن افزایش نرخ انتقال جرم است. هم‌چنین، برای بررسی تأثیر نوع همزن، آزمایش شماره ۱۴ انجام شد. این آزمایش با دور ۵۰۰ rpm به همراه بافل با تغییر نوع همزن از Rushton به Propeller انجام شد. بر اساس نتایج، تغییر نوع همزن تأثیر چندانی بر روی واکنش آبکافت آنزیمی ندارد. می‌توان گفت که افزایش نرخ انتقال جرم وابسته به آشفتگی سامانه است. هم‌چنین، عدد رینولدز معیار مناسبی برای اندازه‌گیری این اغتشاش و تأثیر آن بر فرایند آبکافت آنزیمی است.

#### ۴. نتیجه‌گیری

مقدار غلظت قندهای استخراج شده از ریزجلبک در فرایند آبکافت داخل راکتور همزن‌دار در دوره‌های بین ۵۰ تا ۵۰۰ rpm و غلظت‌های متفاوت آنزیم سلولاز در طول زمان اندازه‌گیری شد. مقایسه مقادیر قند آزاد شده در طول فرایند آبکافت و محاسبه ضریب انتقال جرم از راه مدل‌سازی ریاضی به وسیله محاسبه عدد شرود از دو بیان سیالاتی و انتقال جرمی نشان داد که افزایش دور همزن با افزایش ضریب انتقال جرم، باعث افزایش میزان نرخ واکنش آبکافت آنزیمی می‌شود. هم‌چنین، مقایسه بازده فرایند نشان داد که در دوره‌های بالا ۲۵۰ دور بر دقیقه که رژیم جریان از آرام به متلاطم تغییر می‌کند، میزان قند آزاد شده در دوره‌های بالای همزن که



شکل ۸. مقدار قند آزاد شده در آزمایش‌های ۱۳ (نصب بافل به راکتور) و ۱۴ (تغییر نوع همزن از Rushton به Propeller) در مقایسه با آزمایش ۱ (بدون بافل و با همزن Rushton) در طول زمان.

Figure 8. The amount of sugar released in experiment 13 (installing the baffle to the reactor) and 14 (changing the type of impeller from Rushton to Propeller) compared to experiment 1 (no baffle and with the Rushton impeller) over time.

mesophilic microbial communities", *Current Opinion in Biotechnology*, 67, pp.175-183, (2021).

- [5] Kumar, B. R., Mathimani, T., Sudhakar, M., Rajendran, K., Nizami, A. S., Brindhadevi, K., Pugazhendhi, A., "A state of the art review on the cultivation of algae for energy and other valuable products., Application, challenges, and opportunities", *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, p. 138, (2021).
- [6] Alami, A. H., Alasad, S., Ali, M., Alshamsi, M., "Investigating algae for CO<sub>2</sub> capture and accumulation and simultaneous production of biomass for biodiesel production", *Science of The Total Environment*, 759, p. 143529, (2021).
- [7] Chakraborty, S., Gaikwad, A., "Mixing effects in cellulase-mediated hydrolysis of cellulose for bio-ethanol production", *Industrial & engineering chemistry research*, 49 (21), pp. 10818-10825, (2010).
- [8] Palmqvist, B., Wiman, M., Lidén, G., "Effect of mixing on enzymatic hydrolysis of steam-pretreated spruce., a quantitative analysis of conversion and power consumption", *Biotechnology for biofuels*, 4 (1), pp. 1-8, (2011).
- [9] Shokrkar, H., Ebrahimi, S., Zamani M., "Extraction of sugars from mixed microalgae culture using enzymatic hydrolysis., Experimental study and modeling", *Chemical Engineering Communications*, 204 (11), pp. 1246-1257, (2017).
- [10] Shokrkar, H., Ebrahimi, S., Zamani, M., "Bioethanol production from acidic and enzymatic hydrolysates of mixed microalgae culture", *Fuel*, 200, pp. 380-386, (2017).

موجب ایجاد جریان متلاطم می‌شود تا سه‌برابر بیشتر از مقادیر اندازه‌گیری شده در دوره‌های پایین و شرایط رژیم جریان آرام است. بر اساس نتایج، افزایش همزدگی سامانه به مراتب بیشتر از افزایش غلظت آنزیم، میزان قند آزاد شده را افزایش می‌دهد. افزودن بافل به مخزن راکتور باعث جلوگیری از ایجاد گردابه می‌شود و مقدار تلاطم در سامانه افزایش می‌یابد؛ در نتیجه شار انتقال جرم آنزیم سلول‌ها برای رسیدن به سطح سلولز نیز بیشتر می‌شود و متعاقب آن مقدار قند آزاد شده و نرخ واکنش آبکافت آنزیمی افزایش می‌یابد.

#### مراجع

- [1] Shokrkar, H., Ebrahimi, S., "Evaluation of different enzymatic treatment procedures on sugar extraction from microalgal biomass, experimental and kinetic study", *Energy*, 148, pp. 258-268, (2018).
- [2] Shokrkar, H., Ebrahimi, S., Zamani, M., "Enzymatic hydrolysis of microalgal cellulose for bioethanol production, modeling and sensitivity analysis", *Fuel*, 228, pp. 30-38, (2018).
- [3] Mushlihah, S., Husain, D. R., Langford, A., Tassakka, A. C. M. A., "Fungal pretreatment as a sustainable and low cost option for bioethanol production from marine algae", *Journal of Cleaner Production*, 265, p. 121763, (2020).
- [4] Moscoviz, R., Kleerebezem, R., Rombouts, J. L., "Directing carbohydrates toward ethanol using

- [11] Hassanpour, M., Abbasabadi, M., Ebrahimi, S., Hosseini, M., Sheikhabaglou A., "Gravimetric enrichment of high lipid and starch accumulating microalgae", *Bioresource technology*, 196, pp. 17-21. (2015).
- [12] Hedge, J., Hofreiter, B., "Methods of estimating starch and carbohydrates", *Carbohydrate chemistry*, 17, pp. 163-201, (1962).
- [13] Wojtusik, M., Zurita, M., Villar, J. C., Ladero, M., Garcia-Ochoa, F., "Influence of fluid dynamic conditions on enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass., Effect of mass transfer rate", *Bioresource technology*, 216, pp. 28-35, (2016).
- [14] Arantes, V., Saddler, J. N., "Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis., the role of amorphogenesis", *Biotechnology for biofuels*, 3 (1), pp. 1-11, (2010).
- [15] Gao, D., Chundawat, S. P., Sethi, A., Balan, V., Gnanakaran, S., Dale, B. E., "Increased enzyme binding to substrate is not necessary for more efficient cellulose hydrolysis", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110 (27), pp. 10922-10927, (2013).
- [16] Leu, S. Y., Zhu, J., "Substrate-related factors affecting enzymatic saccharification of lignocelluloses., our recent understanding", *Bioenergy Research*, 6 (2), pp. 405-415, (2013).
- [17] Meng, X., Ragauskas, A. J., "Recent advances in understanding the role of cellulose accessibility in enzymatic hydrolysis of lignocellulosic substrates", *Current opinion in biotechnology*, 27, pp. 150-158, (2014).
- [18] Bansal, P., Hall, M., Realff, M. J., Lee, J. H., Bommarius, A. S., "Modeling cellulase kinetics on lignocellulosic substrates", *Biotechnology advances*, 27(6), pp.833-848. (2009).
- [19] Wilke, C., Chang, P., "Correlation of diffusion coefficients in dilute solutions", *AIChE journal*, 1 (2), pp. 264-270, (1955).
- [20] Buchholz, K., Kasche, V., Bornscheuer, U.T., "Biocatalysts and enzyme technology", John Wiley & Sons, (2012).
- [21] Liu, D., Zhang, R., Yang, X., Zhang, Z., Song, S., Miao, Y., Shen, Q., "Characterization of a thermostable  $\beta$ -glucosidase from *Aspergillus fumigatus* Z5, and its functional expression in *Pichia pastoris* X33", *Microbial Cell Factories*, 11 (1), p. 25, (2012).
- [22] Rawat, R., Kumar, S., Chadha, B. S., Kumar, D., Oberoi, H. S., "An acidothermophilic functionally active novel GH12 family endoglucanase from *Aspergillus niger* HO., purification, characterization and molecular interaction studies", *Antonie Van Leeuwenhoek*, 107 (1), pp. 103-117, (2015).
- [23] Hu, G., Heitmann, J. A., Zhong, B., Lucia, L. A., Argyropoulos, D. S., "Quantitative Study of the Interfacial Adsorption of Cellulase to Cellulose", *The Journal of Physical Chemistry C*, 119 (25), pp. 14160-14166, (2015).
- [24] Shokrkar, H., Ebrahimi, S., "Synergism of cellulases and amylolytic enzymes in the hydrolysis of microalgal carbohydrates", *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 12 (5), pp. 749-755, (2018).