

## تحلیل امکانسنجی آنزیم ها در کیفیت بخشی به پروسه ی هضم بی هوازی و پیامد تولید بیوگاز و انرژی پاک

امیرحسین خوارزمی خراسانی

دانشجوی مقطع کارشناسی ارشد، مهندسی عمران، گرایش مهندسی محیط زیست دانشگاه فردوسی مشهد

### چکیده

این مقاله متکفل بررسی تحلیل امکانسنجی آنزیم ها در کیفیت بخشی به پروسه ی هضم بی هوازی و تولید انرژی پاک به روش علمی می باشد. استفاده بیش از حد از سوخت های فسیلی موجب تشدید تغییرات آب و هوایی، بحران انرژی و آلودگی های زیست محیطی می شود؛ بنابراین آنزیم ها به عنوان جایگزین بالقوه با پتانسیل تولید انرژی پایدار و تجدید پذیر در درازمدت در نظر گرفته شده اند. بی شک گام هیدرولیز در روند انجام آن یک امر مهم است که می تواند نرخ تولید متان را محدود کند. علاوه بر این آنزیم در طول هیدرولیز سوبسترا به عنوان یک جایگزین امیدوار کننده برای غلبه بر این محدودیت گزارش شده است. تولید تولید بیوگاز و هوای پاک از هضم بی هوازی به زمین های بزرگ زراعی و منابع آب شیرین نیاز ندارد، یک منبع انرژی تجدید پذیر است که می تواند جایگزین گاز طبیعی شود. به منظور بهبود تولید بیوگاز از هضم بی هوازی، از تکنیک های پیش تیماردهی به منظور افزایش تولید هوای پاک استفاده می شود. یافته بیانگر آن است؛ آنزیم ها در کیفیت بخشی به پروسه ی هضم بی هوازی انرژی پاک و آماده سازی زیستی آنزیمی و شناخت میکروب های کارآمد، امکان تقویت انرژی هضم بی هوازی را به طور قابل ملاحظه ای فراهم می کند. هیدرولیز این مجموعه پلیمرهای آلی به عنوان کلید موفقیت هضم بی هوازی شناخته می شود و بهبود در مرحله هیدرولیز نشان داده شده است که سبب افزایش تولید بیوگاز تولیدی از هضم بی هوازی می گردد. بیوگاز یکی از انرژی های پاک است که تجدیدپذیر است و میتواند توسط پسماندهای آلی طی هضم بی هوازی تولید شود.

واژه های کلیدی: هضم بی هوازی، آنزیم، هیدرولیز، پیش تیمار هضم بی هوازی

## مقدمه

محیط زیست به طور پیوسته توسط مواد شیمیایی با ساختارهای مختلف و درجه سمیت متفاوت آلوده می شود. منابع تولیدکننده این آلاینده ها می توانند فعالیت های صنعتی، روش های مختلف کشاورزی، فعالیت های نظامی و تسلیحاتی و یافعالیت های روزانه شهری بشر باشند. از موثرترین روش های مبارزه با آلاینده های محیط زیست عوامل موجود در خود محیط زیست می باشند. بسیاری از میکروارگانیسم ها و گیاهان می توانند در حذف آلاینده ها به کار گرفته شوند. اما از آنجایی که آنزیم ها بازوهای شیمیایی طبیعت می باشند انتظار می رود که بتوانند نقش محوری در از بین بردن آلاینده ها داشته باشند. یکی از خانواده های مهم آنزیم ها، اکسیدو ردوکتازها می باشند که می توانند با اکسایش یا کاهش ترکیبات آلاینده زمینه حذف آن ها را از منابع آبی، - خاکی و هوا فراهم آورند. هضم بی هوازی یک فرآیند میکروبی است که مواد زیست آلی تخمیر می شود، مواد در غیاب اکسیژن به سایر اشکال مانند بیوگاز، زیست توده بی هوازی و باقی مانده های آلی تبدیل می شوند [۱]. این تکنولوژی به طور گسترده ای در مدیریت پسماند مخازن حاوی مواد آلوده، هاضم های لجن، سایر محصولات کشاورزی و محصولات انرژی، تصفیه فاضلاب، مدیریت زباله های خطرناک و کشاورزی مورد استفاده قرار می گیرد [۲، ۳]. این فناوری چند منظوره و موثر است. به عنوان مثال، سیستم هضم بی هوازی مقرون به صرفه در حل مشکلات زباله است. علاوه بر این، استفاده از این فناوری تاثیر زیادی بر کاهش اثرات زیست محیطی و افزایش تولید بیوگاز آن دارد. با توجه به مزایای آن، هضم بی هوازی در دهه های گذشته در نشریات متعدد مورد بحث قرار گرفته است. به طور کلی، فرایند هضم بی هوازی می تواند در چهار مرحله متوالی رخ دهد که شامل: هیدرولیز، اسیدوژنز، استئوژنز و متانوژنز است. تکنولوژی ها و مکانیسم های عملیاتی در هر مرحله، به خوبی در تحقیقات پیشین توضیح داده شده است [۴، ۵]. در میان این مراحل، هیدرولیز به عنوان گام محدود کننده سرعت در هضم بی هوازی شناخته شده است. در طول هیدرولیز، پلیمرهای پیچیده مانند کربوهیدرات ها، چربی ها و پروتئین ها با آنزیم های میکروبی خارج سلولی به مونومرهای محلول مانند اسیدهای آمینه، قندها و اسید های چرب زنجیره طولانی تبدیل می شوند. هیدرولیز این مجموعه پلیمرهای آلی به عنوان کلید موفقیت هضم بی هوازی شناخته می شود و بهبود در مرحله هیدرولیز نشان داده شده است که سبب افزایش تولید بیوگاز تولیدی از هضم بی هوازی میگردد. همچنین بسیاری از تکنیک ها گزارش شده نشان داده است که سبب بهبود عملکرد سیستم هضم بی هوازی، به ویژه مرحله هیدرولیز میشود. همچنین در این میان اضافه کردن آنزیم ها برای تسریع در واکنش هیدرولیز سوبسترا، یا به تعبیری اعمال پیش تیمار بر روی سوبسترا نیز گزارش شده است. هدف اصلی از پیش تیمار این است که بستر ارگانیکی برای دسترسی بیشتر به آن فعالیت میکروبی ایجاد شود. روش های پیش تیمار ممکن است به سه دسته عمده تقسیم شوند: شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی همانطور که در بخش زیر توضیح داده شده است. بنابراین، در این فصل، استفاده از آنزیم ها در هیدرولیز بررسی شده است. این بررسی بر روی هیدرولیز و پیش تیمار سوبستراها در هضم بی هوازی توسط آنزیم ها تمرکز دارد. علاوه بر این، اثر تیمار آنزیمی ترکیب شده با انواع دیگر پیش تیمارها نیز ارائه شده است. [۶] چالش هوای پاک و اهمیت زیست بوم بگونه ای که اقدامات سختگیرانه برای کاهش سوزاندن محصولات و بیشتر برای تنظیم مدیریت پسماند محصول نیاز به دخالت آژانس ها و سازمان های دولتی مناسب است. برخی از قوانینی که در مورد سوزاندن بقایای محصول در ایران مالک عمل است عبارتند از: ماده ۲۲ قانون هوای پاک (مصوب ۱۸/۴/۹۶):

انباشت پسماندهای بیمارستانی و صنعتی در معابر عمومی و فضای باز یا سوزاندن آنها و انباشتن پسماندهای خانگی و ساختمانی در معابر عمومی و فضای باز خارج از مکانهای تعیین شده توسط شهرداری ها و دهیاری ها یا سوزاندن آنها و

همچنین سوزاندن بقایای گیاهی اراضی زراعی پس از برداشت محصول ممنوع بوده و متخلف حسب مورد به جزای نقدی درجه شش موضوع ماده (۱۹) قانون مجازات اسلامی محکوم می شود. وزارت جهاد کشاورزی مکلف است مفاد این ماده را به طرق مقتضی به اطلاع بهره برداران بخش کشاورزی، عشایری و منابع طبیعی برساند. تبصره ۱ - تعاریف پسماندهای مندرج در این ماده مطابق قانون مدیریت پسماند و ایجاد هوای پاک مصوب ۲۱ / ۲ / ۱۳۸۳ می باشد. تبصره ۲ - دولت و شهرداری ها موظفند ظرف مدت سه سال پس از ابلاغ این قانون برای شهرهای مختلف زمینه های تبدیل این پسماندها به انرژی یا کود را با کمک بخش خصوصی فراهم کنند. تبصره ۳ - در موارد استثنائی که آتش زدن نباتات یا بقایای گیاهی تنها راه دفع آفات و بیماری ها و آلودگی های گیاهی باشد، براساس شرایطی که توسط وزارت جهاد کشاورزی و با تأیید سازمان تدوین و ابلاغ می شود، اقدام می گردد.

## ۱- مفاهیم

### ۱-۱- پیش تیمار<sup>۱</sup>

پیش تیمار، اصطلاح صنعت چوب به کار گرفتن روشهای مخصوص آسانتر کردن تیمار اصلی. مثلاً در حفاظت چوب، آج زنی قبل از تزریق مواد حفاظتی برای چوبهای سخت اشباع انجام میگیرد. سوخت زیستی که سوخت سبز نیز نامیده می شود، سوختی است که از مواد زیست توده تجدید پذیر تولید می شود و معمولاً به عنوان منبع سوخت پاک استفاده می شود. سوخت های زیستی کربن کمتری دارند بنابراین تأثیری بر گرم شدن زمین ندارند، استفاده از این مواد می تواند از ورود زباله ها و موارد آلوده کننده دیگر به محیط زیست جلوگیری کند. سه مرحله ضروری برای تبدیل مواد لیگنوسلولوزی زیست توده به زیست سوخت وجود دارد که شامل: الف) پیش تیمار (پیش تصفیه) ماده خام ب) تبدیل ماده خام به قندهای ساده قابل تخمیر (هیدرولیز یا آبکافت یا تجزیه) ج) تخمیر این قندها به زیست سوخت مدنظر. [۷]

### ۱-۲- تعریف علمی هضم بی هوازی

تجزیه مواد آلی به وسیله دسته ای از باکتری هایی که تولید دی اکسید کربن و متان می کنند (باکتریهای استوژنیک و متانوژنیک) اتفاق می افتد این باکتری ها در رنج دمای بهینه ۳۵-۳۹ °C (مزوفیلیک) ۵۵-۶۰ °C عمل هضم را انجام می دهند. زباله ها توسط آنزیمها مشابه آنچه که در معده انجام می گیرد مواد آلی را به قندها و آمینو اسیدها تبدیل می کنند مواد آلی توسط باکتری های استوژنیک به هیدروژن، دی اکسید کربن و استات تبدیل می شوند که در نهایت باکتری های متان ساز بیوگاز را که مخلوطی از دی اکسید کربن (۴۰٪) و متان (۵۵٪) و مقادیر کمی مواد دیگر تبدیل می کنند. هضم بی هوازی، مجموعه ای از فرآیندهایی است که مواد آلی قابل تجزیه توسط میکروارگانیسم های مربوطه و تحت شرایط بی هوازی می شکنند. این فرایند شامل چهار مرحله هیدرولیز (Hydrolysis)، اسیدسازی (Acidogenesis)، استوژنسیس (Acetogenesis) و متان زایی (Methanogenesis) می باشد. مرحله اول عبارتست از تجزیه مواد با وزن مولکولی بالا از قبیل سلولز (Cellulose)، نشاسته، پروتئین ها و چربی ها و تبدیل آنها به ترکیبات با وزن مولکولی پایین مانند اسیدهای چرب، آمینو اسیدها، دی-اکسید کربن و هیدروژن که این گروه توسط باکتری های گروه هیدرولیتیک (Hydrolytic) انجام می شود. در مرحله دوم محصولات نهایی مرحله اول توسط باکتری های استوژن (Acetogen) به استات (Acetate) و هیدروژن تبدیل می شوند. در

<sup>1</sup> - Pre - treatment

مرحله سوم به منظور تولید استات بیشتر، ارگانوسم‌های معروف به همواستوژن‌ها (Hemoasetogen)، هیدروژن و ترکیبات ساده کربنی تولید شده در مراحل اول و دوم را به استات تبدیل می‌کنند. مرحله چهارم عبارتست از تبدیل استات و ترکیبات ساده دیگر مانند فورمات (Formate)، دی‌اکسید کربن و هیدروژن به گاز متان (Methane) [۸،۹]

### ۱-۲-۱- مزایای هضم بی‌هوازی (AD)

#### ۱-۱-۲-۱- اثرات زیست‌محیطی

توسعه یک سیستم مدیریت زباله پاک و سالم به لحاظ بهداشتی کنترل بو و آلودگی حاصل از زباله‌ها و پسماندها کنترل ویروس‌ها و باکتری‌های بیماریزا (پاتوژن‌ها) تولید انرژی تجدیدپذیر

### ۱-۲-۱- مزایای اقتصادی

هضم بی‌هوازی همچنین می‌تواند مزایای اقتصادی زیر را به همراه داشته باشد. تولید و فروش بیوگاز به عنوان منبع تولید الکتریسیته و حرارت تولید و فروش فیبر و کود مایع بهبود کشاورزی و صورتحساب‌ها بابت انرژی

### ۱-۲-۱-۳- اثرات اجتماعی

ایجاد یک محیط زندگی پاکیزه تر اشتغال زائی بومی تنوع تجارت روستائی فرآوری زائدات به شیوه پایدار [۱۰،۱۱]

### ۱-۳- مفهوم آنزیم و کارکردهای آن

آنزیم‌ها برای ساخت و بهبود نزدیک به ۴۰۰ محصول تجاری و مصرفی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این مواد نقش حیاتی و مهمی را در تجارت دارند و برای مونتاژ بسیاری از محصولات صنعتی ضروری هستند. این ترکیبات معمولاً یک پروتئین هستند اما می‌توانند RNA نیز باشند؛ این پروتئین‌ها مانند یک کاتالیزور با افزایش پیش‌سازهای در دسترس برای واکنش‌های پایین دست، سرعت واکنش‌ها را افزایش داده و بازده آنها را بهبود می‌بخشند. از مهم‌ترین کاربردهای این پروتئین‌ها در صنعت می‌توان به تولید پنیر، نان و الکل اشاره کرد. [۱۲]

یک کاتالیزور بیولوژیکی که سرعت یک واکنش شیمیایی خاص را در سلول افزایش می‌دهد، آنزیم<sup>۲</sup> نام دارد. آنها در طی واکنش از بین نمی‌روند و بارها مورد استفاده قرار می‌گیرند. یک سلول حاوی هزاران نوع مختلف از این ترکیبات است که هر

<sup>2</sup> - enzyme

کدام برای یک واکنش شیمیایی خاص عمل می کنند. به طور کلی از این ترکیبات در فراوری غذاها، داروها، نوشیدنی ها، تغذیه حیوانات، منسوجات، نظافت خانگی، سوخت خودروها و تولید انرژی استفاده می کنند.

#### ۱-۴- مفهوم بیوگاز مهم ترین مزیت های بیوگاز

بیوگاز یک منبع انرژی طبیعی تجدید پذیر است که اثرات موثری در طبیعت و صنایع به جا می گذارد. این گاز از تجزیه مواد آلی شامل کود های حیوانی، ضایعات مواد غذایی و فاضلاب تولید می شود. کودها و ضایعات از طریق هضم بی هوازی (یعنی بدون حضور اکسیژن) بیوگاز می سازند. حدود ۵۰-۷۰ درصد از بیوگاز را متان تشکیل می دهد. بنابراین قابل اشتعال است. از ترکیب گازهای متان، هیدروژن، مونواکسید کربن با اکسیژن، سوخت تولید می شود. زیرا هوا حاوی ۲۱٪ اکسیژن است. و آزادسازی انرژی در بیوگاز به عنوان سوخت استفاده می شود. بیوگاز با صرفه ترین سوخت تجدیدپذیر است که در بسیاری از کشورها به کار می رود. از آن برای پخت و پز، سرمایش و گرمایش، تولید برق، متانول و بخار، مدیریت زباله، تولید نیروی مکانیکی استفاده می کنند.

بیوگاز مزیت های زیادی نسبت به سوخت های دیگر دارد. در ادامه به پرکاربردترین مزایای بیوگاز اشاره خواهیم کرد.

تولید انرژی (شامل گرما، نور، برق)

کاهش حجم زباله های دفع شده

کاهش عوامل بیماری زا (مگس، تخم کرم)

تبدیل زباله های حاوی مواد آلی به کود با کیفیت عالی

محافظت از پوشش گیاهی؛ خاک، آب

افزایش بازدهی در زمینه دامداری و کشاورزی [۱۳]

#### ۲- نقش آنزیم ها در هضم بی هوازی

آنزیم مولکول های آلی پیچیده ای است که از پروتئین تشکیل شده و در هر یک از آنها سلول زنده آنزیم ها موجود است. به عنوان کاتالیزور در واکنش های بیوشیمیایی انرژی فعال سازی را کاهش می دهند، بنابراین سرعت واکنش را سرعت می دهد [۶]. در سال های اخیر، افزایش علاقه به استفاده از آنزیم برای سنتز خوب مواد شیمیایی، واسطه های دارویی و زراعتی، و در تیمار پسماندها وجود دارد. در هضم بی هوازی، باکتری از طریق آنزیم ها سوبسترا را تخریب می کند. آندوآنزیم ها و اگزوآنزیم ها دو نوع آنزیم تولید شده در سلول و دخالت کننده در تخریب سوبسترا هستند. آندوآنزیم ها قادر به تخریب سوبسترای محلول در داخل سلول هستند در همین حال، اگزوآنزیم ها خارج سلولی از طریق سطح خارجی لجن حمل می شوند و سبب شکسته شدن بستر نامحلول لجن به هنگام تماس با سوبسترا میگردند، اگزوآنزیم ها سوبستراهای ذرات و کلونیدی را به محلول تبدیل میکنند. سپس، این زیربناها وارد سلول می شوند و پس از آن توسط آندوآنزیم ها تخریب شد [۱۴]. همه باکتری ها اگزوآنزیم تولید نمی کنند. با توجه به پژوهش [۱۴]، اگزوآنزیم ها می توانند از یکی از سه منبع کلیدی، یعنی فاضلاب، لجن فعال از طریق اتولیز سلولی و آنزیم هایی که به طور فعالاند، توسط سلول ها ترشح شوند. علاوه بر این، آنزیم ها به عنوان کاتالیزورهای خاص واکنش یا بستر شناخته می شوند هر یک از آنزیم تنها یک سوبسترای خاص یا گروهی از زیربناها را تخریب می کنند. برای به دست آوردن میزان تخریب بالا، مهم است که انواع خاصی از اگزوآنزیم ها و

اندوآنزیم ها را در یک سیستم ارائه دهیم. بنابراین، برای تخریب انواع وسیعی از ساختارها، یک جامعه بزرگ و متنوع باکتری مورد نیاز است [۱۵]. علاوه بر این، باکتری ها و میکروارگانیسمهای درگیر در هضم بی هوازی تنها می تواند از ترکیبات ساده با وزن مولکولی کم استفاده کنند. برای تجزیه مولکول های بزرگتر به عنوان مثال، پروتئین ها، چربی ها و کربوهیدرات ها، که در میان اجزای اصلی هستند در هضم بی هوازی نیاز به آنزیمهای بیشتر میباشد. از این رو، آنزیم های اضافی به عنوان یک جایگزین عالی برای تحریک تخریب پسماند در نظر گرفته می شود، بنابراین با افزودن آنزیمها به سیستم هضم بی هوازی، افزایش عملکرد دستگاه هضم بی هوازی میسر میشود [۱۶]. علاوه بر این، آنزیم ها ترکیبات طبیعی اند که قابل تخریب هستند [۱۷]. سهم ناچیز آنها از تقاضای شیمیایی اکسیژن (BOD) آنها را در جریان فرآیندهای هضم بی هوازی از پسماند و آسیب رساندن به اکوسیستم بی ضرر می سازد [۱۸]. علاوه بر این، با داشتن انواع مختلف آنزیم ها می توان انواع سوبستراها را در طیف وسیعی از شرایط محیطی اضافه کرد. آنها می توانند در حضور انواع مختلف میکروارگانیسم ها فعالیت کنند و عوامل بازدارنده و سمی را که به عنوان مهار کننده های متابولیسم میکروبی عمل کنند. علاوه بر این، آنزیم با حلالیت بالاتر و اندازه کوچکتر سبب دسترسی آسان تر میکروارگانیسمها به سوبستراها می شوند [۱۹]. این ویژگی آنزیم ها را میتوان در طیف گسترده ای از برنامه های کاربردی، از جمله هضم بی هوازی اعمال کرد.

## ۲-۱- استفاده از آنزیم ها در مرحله هیدرولیز در سیستم هضم بی هوازی

مرحله اول هضم بی هوازی هیدرولیز است. در طول هیدرولیز آنزیمی، پلیمرها به مونومرهای محلول تبدیل می شوند. این فرایند توسط آنزیم های میکروبی خارج سلولی شناخته شده به عنوان هیدرولاز صورت میگیرد. بسته به نوع واکنش کاتالیز شده، این هیدرولازها می تواند استیراز، گلیکوداز یا پپتیداز باشند. به عنوان مثال، استراز و گلیکوزیداز در هیدرولیز سوبستراهای همیسلولوزی، شرکت میکنند، در حالی که پپتیداز قادر به هیدرولیز سوبسترا های با مقدار بالای پروتئین هستند. در این مرحله، پلی ساکراید ها تبدیل به قندهای ساده تبدیل می شوند؛ سلولز آنزیمی سبب هیدرولیز گلوکز تولیدی، تخریب همیسلولوز و تولید مونوساکراید میشود و آنزیم آمیلاز نشاسته را به گلوکز تبدیل می کند [۲۰]. بسیاری از تحقیقات قبلی نشان داده اند که هیدرولیز یک روند نسبتا کندی است و به طور کلی، میزان فرآیند هضم بی هوازی را کلی محدود می کند [۱۳]. بنابراین، به منظور بهبود بهره وری در تبدیل بیوماس طی هضم بی هوازی، بالابردن نرخ هیدرولیز مهم است. هیدرولیز آنزیمی یکی از آن گزینه های در دسترس برای ترویج عملکرد هضم بی هوازی است. این فرایند می تواند تحت شرایط متوسط، دارای سوبسترا و واکنش بالا و تولید هیچ محصول جانبی همراه باشد. [۲۱]

## ۲-۲- هیدرولیز آنزیمی پسماند های مواد غذایی در هضم بی هوازی

زباله های مواد غذایی از خانوارها، رستوران ها و صنایع غذایی غنی از پروتئین ها، چربی ها، کربوهیدرات ها و غیره است، که بستر عالی برای هضم بی هوازی است. روش معمولی درمان فاضلاب صنایع غذایی از طریق سیستم های تصفیه بیولوژیکی به علت نیاز به اکسیژن شیمیایی و غلظت قند، پروتئین، روغن و گریس بالا، دشوار است [۵]. در تحقیقات قبلی، آنزیم های هیدرولیتی دیواره سلولی مخمر بر روی هضم بی هوازی از کارخانه آبمیوه سازی مورد مطالعه قرار گرفتند که تصفیه مواد آلی نیاز به اکسیژن بالاداشت. با انجام پیش تیمار آنزیمی قبل از هضم بی هوازی، نتایج نشان داد تقاضای شیمیایی اکسیژن (COD) کاهش ۸۷٪ داشت، در مقایسه با ۱۳٪ هضم بدون استفاده از آنزیم ها. [۱۶]. آنزیم های تجاری

مانند کربوهیدرات ها، پروتئاز ها و لیپاز ها هستند که برای بهبود هیدرولیز پسماندهای مواد غذایی استفاده می شود. مخلوط این سه آنزیم به نظری رسد کارآمد تر از استفاده از تنها یک واحد آنزیم تجاری است، این مخلوط آنزیمها منجر به عملکرد بالای متان و حذف اکسیژن محلول شیمیایی میگردد [۱۷]. مطالعات قبلی نشان داده است که یک قارچ غنی از آنزیم های هیدرولیتیک میزان هیدرولیز زباله های مواد غذایی در هضم بی هوازی را با موفقیت بهبود میدهد. به عنوان مثال، مخلوط قارچ تولید شده از ضایعات کیک، که مقدار بالایی پروتئاز و گلوکوامیلاز دارد، در هیدرولیز آنزیمی زباله های مخلوط، میتواند حذف مواد جامد فرار  $3.5 \pm 80.4$  را به دست آورد. علاوه بر این، نرخ تولید و تولید بیومتان از خوراکی های که پیش از قارچ مورد استفاده قرار گرفته بودند، یافته شد که به ترتیب ۳،۵ و ۲،۳ برابر بیشتر از بدون پیش تیمار است [۱۸]. بطور مشابه برای بهبود کارایی هضم بی هوازی از نوعی آنزیم برای پیش تیمار زباله های مواد غذایی و مخلوط لجن فعال استفاده شده است. که عملکرد متان برای لجن فعال مخلوط با مواد غذایی و فقط لجن فعال درمقایسه با حالت بدون پیش تیمار به ترتیب ۲،۵ و ۱،۶ برابر بیشتر است. و کل مواد جامد فرار را  $23.3\%$  کاهش داده است. علاوه بر این، در یک مطالعه اخیر، یافته شد که زباله های مواد غذایی با محتوای چربی بالا می تواند تولید بیومتان را افزایش دهند. پیش تیمار با استفاده از لیپاز، مدت زمان هضم را ۱۰ تا ۴۰ روز کاهش میدهد، در حالی که میزان تولید متان را  $157.7 - 26.9\%$  افزایش میدهند علاوه بر این، پیش تیمار آنزیمی در فاضلاب غنی از لیپیدها نشان داده است که حضور اسید چرب در هضم بی هوازی ممکن است منجر به مشکلات عملیاتی نظیر جابجایی زیست توده، تصفیه شود و سمیت شدید ناشی از لیپیدها سبب تاثیر گذاری بر روی عملکرد میکروارگانیسم های متانوژن و استوژنیز شود [۲۱]. راندمان مصرف لیپاز پانکراس سوسیسم همزمان در هیدرولیز آنزیمی و تجزیه بی هوازی از پسماند غنی از چربی صنعت طیور توسط دوروس و همکاران مورد مطالعه قرار گرفته  $1-0/05$  است [۲۲]. این نتایج نشان داد که می توان هیدرولیز و تجزیه بی هوازی را همزمان با استفاده از غلظت کم آنزیم انجام داد. تمام نمونه های پیش تیمار شده با لیپاز اثر منفی بر روی COD و حذف رنگ داشتند به جز اینکه سبب افزایش در تولید متان شده بودند. آزمایش دیگری برای تیمار آنزیمی سوبسترای غنی از چربی توسط دومینگوس و همکاران انجام شد. [23]. نویسندگان یافتند که این لیپاز برای استفاده در هیدرولیز مناسب بوده است و برای تولید بیوگاز بالا و تولیدات متان از پسماندها مناسب نشان داده شده است. یک مطالعه پیشین نشان داده بود که پیش تیمار آنزیمی می تواند تا حد زیادی هیدرولیز زباله های پر مرغ در هضم بی هوازی را افزایش دهد [۲۴]. پر از ۹۰-۹۲ درصد پروتئین ساخته شده است که در فرم keratin-b است که بسیار پایدار است و نرخ زیست تخریب پذیری نسبتا کم دارد. هیدرولیز آنزیمی توسط سرین پروتئاز سبب بهبود قابلیت هضم پرها و افزایش گاز زیستی شد، بطوری که طی آن در مقایسه با پرهای بدون تیمار ۱۲۲٪ افزایش در عملکرد متان مشاهده شد. به غیر از این، لیپازی از استافیلوکوک پاستوری A-4COM برای هیدرولیز آنزیمی روغن نارگیل غیر اشباع استفاده شد. روغن و گریس و تقاضای اکسیژن شیمیایی با موفقیت کاهش داشت در حالی که اسید چرب فرار و اسید چرب زنجیر طولانی پس از هیدرولیز بطور قابل توجهی افزایش داشت. علاوه بر این، تجزیه زیستی بی هوازی پساب پیش هیدرولیز شده نشان دهنده بهبود قابل ملاحظه ای در تولید بیوگاز و حذف بار آلاینده داشت [۲۵]. اثرشیرابه عنبه له شده به عنوان منبع آنزیمی از هیدروژن بر عملکرد و کارایی تخریب گلوکز، پروتئین و چربی مورد بررسی قرار گرفت. افزایش عملکرد هیدروژن بر اساس تجزیه پروتئین، چربی سوبسترا و بازده تخریب به ترتیب  $4/5 \pm 3/51\%$  و  $6/2 \pm 7/33\%$  به دست آورد. [26]

## ۲-۳ هیدرولیز آنزیمی لجن فاضلاب در هضم بی هوازی

لجن هیدروکسید شده به عنوان مواد پیچیده ای تشکیل دهنده ذرات شناخته شده است؛ مواد، میکروارگانیسم ها و مواد پلیمری خارج سلولی توسط این میکروارگانیسم ها دفع می شوند. مشکلات مرتبط با لجن عبارتند از: (۱) حضور مواد غیر قابلهضم، که می تواند به صورت نامطلوب به کربن یا ترکیبات آلی قابل هضم به آرامی متصل شود (۲) اکثر ترکیبات آلی در سلول های تولید شده در طول فرآیند تیمار لجن فعال واقع شده است. ساختار پایدار دیواره سلولی آن را به تجزیه بیولوژیک مقاوم می سازد؛ و (۳) حضور مواد لیگنوسلولزیک در لجن. این مشکلات را می توان با افزایش میزان هیدرولیز زیست توده لجن به سازه های قابل تخمیر بهبود داد [۵]. هیدرولیز آنزیمی لجن عملکرد هیدرولیز را در شرایط خفیف عملیاتی، با مصرف انرژی کم و تشکیل محصولات کمتری افزایش می دهد. [27] برای سه دهه گذشته، انواع مختلفی از آنزیم ها مانند آمیلاز، پروتئاز و آندو گلیکانازها در هیدرولیز آلی ترکیبات موجود در لجن به خوبی مورد استفاده قرار گرفته اند [۲۸]. لو و همکاران [۲۹]، به بررسی اثرات دوز آنزیم و درجه حرارت در هیدرولیز لجن فعال پرداخته بودند. که طبق یافته آنان افزایش بارگذاری آنزیم آمیلاز منجر به کاهش بیشتر در مواد جامد فرار میگردد. بارگذاری آنزیمی بهینه در میزان ۰.۰۶ گرم آمیلاز به گرم لجن خشک یافت شد، نتایج نشان داد که هنگام افزایش دما از ۴۰ تا ۷۰ درجه سانتیگراد، نرخ فرآیند هیدرولیز آمیلاز از ۰.۱۰۶ به ۰.۲۱۵ بر ساعت، افزایش یافت؛ در حالی که انرژی فعال سازی واکنش هیدرولیز برای مواد جامد فرار از ۶۲،۷۲ به ۲۰،۱۹ کیلوژول بر مول کاهش یافته است. از این یافته ها، نتیجه گیری شد که هیدرولیز آمیلاز شدیداً لجن فعال را افزایش میدهد و درجه حرارت بالاتر باعث افزایش کارایی هیدرولیز می شود. آنزیم های مختلف برای پیش تیمار و تخریب اجزای لجن فاضلاب های معمول استفاده شده اند. اثر لیپاز، سلولاز، آمیلاز و پروتئاز بر روی هضم بی هوازی لجن اولیه در شرایط معمول مخزن بررسی شده است [۸] مخازن حاوی مواد آلاینده را می توان به عنوان هضم ساده بی هوازی در نظر گرفت و تجزیه جزئی مواد آلی تحت شرایط محیطی را بدست آورد. مشخص شد که تیمار آنزیمی لجن اولیه هیدرولیز و میزان هضم را افزایش نمی دهد. علاوه بر این، هیچ پیشرفت قابل توجهی در این مورد حذف مواد جامد، جامدات فرار، جامدات معلق کل و محلول تقاضای اکسیژن شیمیایی و اسیدهای آلی نسبت به راکتورهای کنترل مشاهده نشد. در پژوهش دونوسو و پلانکو [۱۱]، اثرات افزودن لیپاز و دوز در هضم بی هوازی لجن فاضلاب و گریس آن را مورد بررسی قرار دادند؛ افزودن آنزیم به طور قابل توجهی در هضم بی هوازی لجن فاضلاب و گریس آن و تجزیه زیستی زباله آنها اثر معنیداری داشت و به طور قابل توجهی بر روی افزایش تولید متان اثر داشت.

## ۳-پیشینه های بحث

### ۳-۱-آزینا بهرامی و کمال الدین حق بین (۱۳۹۱) نویسندگان مقاله چالش های به کارگیری آنزیم ها برای حذف آلاینده ها از محیط زیست

محیط زیست به طور پیوسته توسط مواد شیمیایی با ساختارهای مختلف و درجه سمیت متفاوت آلوده می شود. منابع تولیدکننده این آلاینده ها می توانند فعالیت های صنعتی، روش های مختلف کشاورزی، فعالیت های نظامی و تسلیحاتی و یا فعالیت های روزانه شهری بشر باشند. از موثرترین روش های مبارزه با آلاینده های محیط زیست عوامل موجود در خود محیط زیست می باشند. بسیاری از میکروارگانیسم ها و گیاهان می توانند در حذف آلاینده ها به کار گرفته شوند. اما از آنجایی که آنزیم ها بازوهای شیمیایی طبیعت می باشند انتظار می رود که بتوانند نقش محوری در از بین بردن آلاینده ها داشته



باشند. یکی از خانواده های مهم آنزیم ها، اکسیدو ردوکتازها می باشند که می توانند با اکسایش یا کاهش ترکیبات آلاینده زمینه حذف آن ها را از منابع آبی، - خاکی و هوا فراهم آورند. این مقاله به بررسی کارایی دو گروه بزرگ از خانواده اکسیدو ردوکتاز یعنی پراکسیداز ها و پلی فنل -اکسیدازها می پردازد. تحقیقات نشان داده است که این آنزیم ها در حذف آلاینده هایی از قبیل رنگ ها، ترکیبات فنلی و آروماتیک، آفت کش ها، لیگنین، سوخت ها، پساب گیاهان، فلزات سنگین و... موثر واقع شده اند. همچنین بررسی ها نشان داده با تثبیت این آنزیم ها به روش مناسب نه تنها می توان از آن ها چند بار استفاده کرد بلکه می توان کارایی عملیاتی آن ها را افزایش داد. با این حال بیوتکنولوژی آنزیم ها همواره برای حذف آلاینده ها با محدودیت هایی مواجه است که در این مقاله مهم ترین آن ها معرفی خواهند شد.

### ۲-۳- نویسندگان: سیدعلی مرتضوی، محمدحسین عباسپور فرد، اکبر ثنائی مقدم، محمد طبسی زاده، هشتمین همایش علمی تخصصی انرژی های تجدید پذیر، پاک و کارآمد - ۱۳۹۴

نویسندگان مقاله در این پژوهش بیان می کنند؛ که فرآیند هضم بی هوازی، یکی از فناوری های قابل قبول، هم از نظر زیست محیطی و هم از نظر اقتصادی، به منظور تولید انرژی از پسماندهای آلی می باشد. یکی از ضایعات عمده آلی که در جوامع شهری وجود دارد دور ریزها و پسماند های ناشی از گل و قسمتهای مختلف آن می باشد. هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی تولید انرژی از این منبع ضایعات با استفاده از روش ذکر شده می باشد. جهت انجام آزمایش های هضم بی هوازی، پایلوت آزمایشگاهی تولید بیوگاز از نوع تک مرحله ای موجود در سازمان مدیریت پسماند شهرداری مشهد مورد استفاده واقع گردید؛ این پایلوت قابلیت کنترل خودکار شرایط محیطی فرآیند را از جمله دما، مدت و سرعت همزنی دارا بود. آزمایش هضم بی هوازی بر روی هضم مشترک پسماند گل (F) و کود گاوی (M) در چهار سطح (F:M) 100:0، ۸۰:۲۰ و ۷۰:۳۰ و ۱۰۰:۰ بر اساس وزن ماده خشک مورد ارزیابی قرار گرفت. بعد از حداکثر ۴۵ روز ماند مواد در داخل هاضم، برای تیمار گل بدون اختلاط با کود، تولید گاز، ملاموس مشاهده نگردید و لیدر سایر تیمارها به ترتیب به طور متوسط ۲۲۷،۲۶۶ و ۱۴۷ لیتر متان به ازای هر کیلو ماده خشک (l/kgTS) جمع آوری گردید که دارای تفاوت معنی داری نسبت به یکدیگر می باشند. میزان متان تولید شده در تیمار ۸۰:۲۰ و ۷۰:۳۰، به ترتیب ۶۴ و ۹۸ درصد نسبت به تیمار کود گاوی بدون افزودنی (۰:۱۰۰)، افزایش داشته است که انرژی معادل متان تولید شده، حدود 8/2 Kwh/kgTS تعیین گردید. با توجه به ظرفیت بالای تولید گل و پسماند آن در کلان شهرهایی مثل مشهد، پتانسیل قابل توجهی برای تولید انرژی از این پسماند وجود دارد که جهت بهره برداری نیاز به ارزیابی فنی و اقتصادی دقیقتری می باشد.

### ۳-۳- مقاله بهینه سازی تولید زیست گاز در هضم بی هوازی پسماندهای آلی جامد شهری با غلظت های مختلف تحت پیش تیمارهای حرارتی نویسندگان: مسعود کمالی، رضا عبدی، عباس روحانی، شمس الله عبدالله پور، سیروس ابراهیمی، نشریه ماشین های کشاورزی « دوره ۱۲، شماره ۳ (پاییز ۱۴۰۱)

در بخشی از این مقاله آمده است ؛ که در چند دهه اخیر منابع تجدیدپذیر انرژی که باعث آلودگی کمتر محیط زیست شوند بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. در این میان استحصال زیست گاز از ضایعات آلی جامد شهری برای تولید انرژی به دلیل کنترل گازهای گلخانه ای و کاهش آلودگی های زیست محیطی از اهمیت ویژه ای برخوردار است. اگرچه هضم بی هوازی به عنوان یکی از بهترین روش های مواجهه با پسماندهای آلی جامد شهری مطرح است، با این حال، این فرآیند دارای محدودیت

هایی نیز می باشد. از این رو پیش فرآوری های مختلفی به منظور بهبود فرآیند هضم بی هوازی و افزایش تولید زیست گاز از هضم پسماندهای آلی مورد بررسی قرار گرفته اند. پیش فرآوری حرارتی از موثرترین روش ها جهت حذف عوامل بیماری زای موجود در مواد زاید آلی است. در همین حال این پیش فرآوری می تواند تاثیر به سزایی در بهبود هضم بی هوازی و تسریع هیدرولیز مواد داشته باشد. بنابراین یافتن شرایط بهینه این پیش تیمار برای دستیابی به بالاترین مقدار تولید زیست گاز حایز اهمیت به سزایی است. هدف از این تحقیق دستیابی به بهترین دما و زمان و غلظت در هضم مواد آلی موجود در پسماند شهری است. در این مطالعه، دما و مدت اعمال پیش تیمار حرارتی به ترتیب در سه سطح ۷۰، ۹۰ و ۱۱۰ درجه سانتی گراد و ۳۰، ۹۰ و ۱۵۰ دقیقه و غلظت نیز در سطوح ۸، ۱۲ و ۱۶ درصد مورد بررسی قرار گرفتند. به این منظور ۱۵ آزمایش به روش سطح پاسخ باکس بنکن طراحی شدند. نتایج آزمایش ها نشان دادند که اثر متغیرهای دما و زمان در سطح ۱ درصد بر تولید زیست گاز معنی دار هستند در حالی که تغییرات غلظت در محدوده مورد مطالعه اثر کمتری در تولید این گاز داشته است. همچنین، بهترین سطوح متغیرهای دما و زمان پیش تیمار و غلظت مواد هضم شونده برای تولید زیست گاز به ترتیب ۹۵ درجه سانتی گراد، ۱۰۴ دقیقه و غلظت ۱۲ درصد بوده که پیش بینی می شود اعمال پیش تیمار حرارتی در شرایط بهینه متغیرهای مورد ارزیابی موجب تولید ۴۴۵ میلی لیتر زیست گاز به ازای هر گرم ماده آلی جامد فرار موجود در پسماندهای آلی شود که بدین ترتیب با اعمال پیش تیمار حرارتی در شرایط بهینه، افزایش ۳۱/۱۷ درصدی تولید زیست گاز نسبت به میزان زیست گاز ناشی از هضم مواد بدون اعمال پیش تیمار (۳۳۹/۳۳±۶/۱۸ میلی لیتر) قابل انتظار خواهد بود.

#### ۴- نقش پیش تیمارهای شیمیایی و آنزیمی در هضم بی هوازی و کاهش مقدار لجن و تولید هوای پاک

نتایج و بحث هدف اصلی پیش تیمار، افزایش سوبسترای محلول و سرعت بخشیدن به روند هیدرولیز و کاهش مقدار لجن برای دفع است. روشهای مختلفی برای افزایش اثربخشی هضم بی هوازی استفاده شده است [۱۲، ۳۰]. بسیاری از پیش تیمارهای شیمیایی و فیزیکی حرارتی، روشهای رزیابی شده هستند، یکی از آنها ترکیب پیش تیمارها برای افزایش تخریب زیستی زباله هاست. قبلا پیش تیمار شیمیایی و آنزیمی برای کاهش دو سر گزارش شده است [۳۱]. هیدرولیز مرکب اسید و قلیایی سلولز کاه جو دوسر انجام شد. مشخص شد که محلول سازی همی سلولز، ۹۶،۸٪، سلولز و ۲/۷۷٪ سلولز و ۲/۴۲٪ لیگنین با ترکیب پیش تیمار اسید و آنزیمی بدست می آید. از سوی دیگر، رولینی و همکاران [۱۵]، ترکیب پیش تیمار آنزیمی و قلیایی از علوفه سورگوم خوراکی، که ماده لیگنوسلولزی است بررسی شد. میزان متان تولیدی در مقایسه با نمونه های بدون درمان بیشتر به دست آمد. طی این ترکیب حلالیت تا ۳۲ و ۵۶ درصد به ترتیب برای سلولز و همی سلولز در مقایسه با هیدرولیز آنزیمی حاصل شد. یافته های مشابه توسط میچاسکا و همکاران [۳]، نیز نشان میدهد علاوه بر افزایش میزان هیدرولیز طی پیش تیمار ترکیبی آنزیمی و قلیایی ممکن است منجر به توزیع فیزیکی یا تغییر ترکیب لجن و افزایش سطح دسترسی و حجم منافذ سوبسترا گردد. همچنین نویسندگان نتیجه گرفتند که پیش تیمار ترکیبی در یک فرآیند دو مرحله ای بر عملکرد بیوگاز تولیدی کارآیی بیشتری دارد؛ بطوری که در مقایسه با هیدرولیز آنزیمی، حدود ۳۰ درصد عملکرد بالاتر بود و بیش از ۶۰ درصد حجم تولیدی متان بالاتر بود. پیش تیمار قلیایی بر تخریب ساختارهای لیگنینی و به طور جزئی همیسلولزی کارآمد عمل میکنند و در نتیجه سبب افزایش دسترسی آنزیمها و میکروارگانیسمها برای مواد لیگنوسلولزی میگردد. علاوه بر این، حذف همی سلولز و لیگنین سبب افزایش هیدرولیز مواد لیگنوسلولزی نیز می شود، پیش تیمار آنزیمی با استفاده از لپاز به همراه اشعه ماوراء بنفش انجام شد فاضلاب تهیه شده حاوی حدود ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر چربی بود

[۳۴]. با استفاده از این تکنیک، عملکرد زمان قرار گرفتن در معرض افزایش سرعت انتقال جرم و هیدرولیز % 78 در حداقلترین مقدار به دست آمد. یک یافته دیگر هنگامی بود که این تکنیک برای پیش تیمار از چوب انگور استفاده شد، طی آن مشاهده شد که ساختار شاخه های پسماندهای کشاورزی با محتوای لیگنوسلولزی بالا می باشد [۱۴]. این استفاده از پیش تیمار اولتراسوند و هیدرولیز آنزیمی سبب بهبود بیوگاز تولیدی از بقایای ذرت شد، اما برای شاخه های انگور پیش تیمار اولتراسوند تاثیر منفی داشت. با این حال، پیش تیمار آنزیمی به تنهایی با موفقیت سبب افزایش بیوگاز تولیدی از هر دو سوبسترا شد. ترکیبی از پیش تیمارهای مکانیکی و حرارتی قبل از پیش تیمار آنزیمی می تواند هزینه را کاهش دهد. در پژوهش زمینسکی و کولاسکا [۳۵]، اثر پیش تیمار بقایای چغندر قند بر عملکرد بیوگاز تولیدی در هضم بی هوازی را بررسی کردند؛ مشاهده شد که هیدرولیز آنزیمی از اساس و تحت فشارهای حرارتی تحت فرایندهای به دست آمده سبب بالاترین میزان تولید بیوگاز تجمعی 898/7 میلی لیتر در گرم جامد جامد می شود. به بیان دیگر تخریب مواد لیگنوسلولزی بر ساختار سلولزی مواد نیز تاثیر گذار است. پس از شکستن پلیمرهای عظیم، ساختار کریستالی سلولز کاهش می یابد [۳۶]. از میان فرایندهای مختلف پیش تیمار، اکستروژن ساده، انعطاف پذیر و سازگار است. اکستروژن یک فرآیندی است که در آن مواد زیست توده یکنواخت مرطوب از یک بشکه اکسترودر با فشار از یک پیچ عبور می کند. این روش به عنوان یک روش فیزیکی موثر برای کاهش میزان زیست توده گزارش شده است که هضم بی هوازی مواد لیگنوسلولزی را افزایش می دهد [۳۷]. در پژوهش پریرز رودریگز و همکاران [۳۸]، تأثیر این پیش درمان را به تنهایی و در ترکیب با هیدرولیز قلیایی و یا آنزیمی جهت بهبود تولید متان از طریق هضم بی هوازی بقایای ذرت بررسی کرده اند. در میان تمام پیش تیمارهای مورد مطالعه، اکستروژن و قلیایی و پیش تیمار هیدرولیز آنزیمی متداول است و بالاترین مقدار تولید متان را دارد. [۴۲]

### نتیجه گیری

این بررسی به وضوح نشان می دهد که استفاده از آنزیم یک جایگزین برای غلبه بر محدودیت های مرتبط با هضم بی هوازی است. اثر هیدرولیز آنزیمی با این حال، در تهیه و پیش تیمار، بستگی بسیاری به ترکیب زیست توده و شرایط عملیاتی دارد؛ ولی راهبردهای کلیدی به منظور توسعه یافتن یک منبع انرژی جایگزین با سوخت های فسیلی برای جبران نیاز کنونی به انرژی و بعلاوه به منظور کاهش نگرانی های زیست محیطی (اعم از آلودگی حجم زیاد پسماند و گرم شدن جهانی) مطرح می شوند. از این رو اقتصاد و فن آوری ها تا حد زیادی بستگی به منابع انرژی تجدیدپذیر سازگار با معیارهای زیست محیطی از قبیل بیوگاز دارند. فناوری بیوگاز علاوه بر مزیت های فراوانی که دارد با محدودیت های خاصی نیز همراه است. به طوری که تولید انرژی بدون حضور عوامل متوقف کننده یک کار دشوار است و برای اطمینان از توسعه پایدار، می بایست فناوری های دردسترس جایگزین شوند. پیشرفت های بیشتر باعث توجه مجدد و عمیق تری در فن آوری تولید بیوگاز شده است. در حالی که این موضوع اثرات بزرگی در کاهش مسائل عمده اقتصادی مطرح در جهان دارد. مرور کنونی به عوامل محدود کننده و ارزیابی پیشرفت های تکنولوژیکی اخیر همراه با جنبه های مختلف تولید بیوگاز مانند استفاده از مواد خام پایدار، میکروبی و پویایی های آنزیم، پارامتر بهینه سازی و فرایند تفکیک برای افزایش این تکنولوژی می پردازد. آماده سازی زیستی آنزیمی و شناخت میکروب های کارآمد، امکان تقویت انرژی هضم بی هوازی را به طور قابل ملاحظه ای فراهم می کند. لذا بهینه سازی پارامترهای مختلف برای سرعت بخشیدن به تولید بیوگاز در طول هضم بی هوازی نسبت به قبل و بعد آن ترجیح داده شده است. همچنین علی رغم توسعه طرح های هاضم چند مرحله ای به قصد دستیابی به موفقیت در فرایند تفکیک، تحقیقات

بیشتر برای رسیدن به عملکرد بهتر سیستم نیاز است. مطابق با اکثر تحقیقات بررسی شده در این پژوهش آنزیمها موجب بهبود فرآیند هضم بی هوازی می شوند و این می تواند به تولید بهتر انرژی پاک از هضم بی هوازی و مدیریت بهتر پسماند منجر گردد. در آینده در زمینه توسعه و بهینه سازی هیدرولیز آنزیمی تحقیقات زیادی برای دستیابی به حداکثر سود از این تکنولوژی مورد نیاز است. علاوه بر این، برای کاهش هزینه پیش تیمار با استفاده از آنزیم ها، تحقیقات بیشتر در مورد آماده سازی آنزیم، ثبات و فعالیت باید انجام شود.

### منابع

1. Pilli S, More TT, Yan S, Tyagi RD, Surampalli RY, Zhang TC (2016) Anaerobic digestion or co-digestion for sustainable solid waste treatment/management. In: Sustainable solid waste management, pp 187–232. <https://doi.org/10.1061/9780784414101.ch08>
- 2- Gupta P, Singh RS, Sachan A, Vidyarthi AS, Gupta A. A re-appraisal on intensification of biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2012;16(7):4908-16.
- 3-Tarbaghia TM. Design of biogas plant to product energy with special application to Benghazi, Libya. *Renewable energy*. 1993;3(2):207-9.
- 4- Holm-Nielsen JB, Al Seadi T, Oleskowicz-Popiel P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. *Bioresource technology*. 2009;100(22):5478-84.
- 5- Ward AJ, Hobbs PJ, Holliman PJ, Jones DL. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource technology*. 2008;99(17):7928-40.
- 6- Curry N. Modeling and Design of a Food Waste to Energy System for an Urban Building: Concordia University Montréal, Québec, Canada; 2010.
- 7- Kiran EU, Trzcinski AP, Ng WJ, Liu Y. Bioconversion of food waste to energy: a review. *Fuel*. 2014;134:389-99.
- 8- Okonko IO, Adeola O, Aloysius F, Damilola A, Adewale O. Utilization of food wastes for sustainable development. *EJEAFChe*. 2009;8(4):120-44.
- 9- Hahn H, Krautkremer B, Hartmann K, Wachendorf M. Review of concepts for a demand-driven biogas supply for flexible power generation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2014;29:383-93.
- 10- Silva M, Naik T. Review of composting and anaerobic digestion of municipal solid waste and a methodological proposal for a mid-size city. *Sustainable Construction Materials and Technologies*. 2007;63.
- 11-Schlegel M, Kanswohl N, Rossel D, Sakalauskas A, editors. Essential technical parameters for effective biogas production. *Agronomy Research*; 2008: Estonian University of Life Sciences, Jõgeva Plant Breeding Institute, Estonian Research Institute of Agriculture.
- 12- Zhu JY, Pan X, Zalesny Jr RS. Pretreatment of woody biomass for biofuel production: energy efficiency, technologies, and recalcitrance. *Applied microbiology and biotechnology*. 2010;87(3):847-57.

- 13- Singh R, Shukla A, Tiwari S, Srivastava M. A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2014;32:713-28.
- 14- Chaiprasert P. Biogas production from agricultural wastes in Thailand. *J Sustainable Energ Environ Spec Issue*. 2011:63-5.
- 15- Sagagi B, Garba B, Usman N. Studies on biogas production from fruits and vegetable waste. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*. 2009;2(1):115-8.
- 16-Chandra R, Vijay VK, Subbarao PM, editors. A study on biogas generation from non-edible oil seed cakes: potential and prospects in India. *The 2nd Joint International Conference on Sustainable Energy and Environment*; 2006.
- 17- Merlin Christy P, Gopinath LR, Divya D (2014) A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. *Renew Sustain Energy Rev* 34:167–173. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.010>
- 18- Michalska K, Bizukojć M, Ledakowicz S (2015) Pretreatment of energy crops with sodium hydroxide and cellulolytic enzymes to increase biogas production. *Biomass Bioenergy*80:213–221. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.05.022>
- 19- Madsen M, Holm-Nielsen JB, Esbensen KH (2011) Monitoring of anaerobic digestion processes: a review perspective. *Renew Sustain Energy Rev* 15(6):3141–3155. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.04.026>
- 20- Parawira W (2012) Enzyme research and applications in biotechnological intensification of biogas production. *Crit Rev Biotechnol* 32(2):172–186. <https://doi.org/10.3109/07388551.2011.595384>
- 21- Quiñones TS, Plöchl M, Pätzolt K, Budde J, Kausmann R, Nettmann E, Heiermann M (2012) Hydrolytic enzymes enhancing anaerobic digestion. In: *Biogas production: pretreatment methods in anaerobic digestion*, pp 157–198. <https://doi.org/10.1002/9781118404089.ch6>
- 22- Burgess JE, Pletschke BI (2008) Hydrolytic enzymes in sewage sludge treatment: a mini-review. *Water SA* 34(3):343–349
- 23- Diak J, Örmeci B, Kennedy KJ (2012) Effect of enzymes on anaerobic digestion of primary sludge and septic tank performance. *Bioprocess Biosyst Eng* 35(9):1577–1589. <https://doi.org/10.1007/s00449-012-0748-7>
- 24- Hettiaratchi JPA, Jayasinghe PA, Bartholameuz EM, Kumar S (2014) Waste degradation and gas production with enzymatic enhancement in anaerobic and aerobic landfill bioreactors. *Bioresour Technol* 159:433–436. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.026>
- 25- Quiñones TS, Plöchl M, Budde J, Heiermann M (2012) Results of batch anaerobic digestion test - effect of enzyme addition. *Agricult Eng Int: CIGR J* 14(1):38–50
- 26- Donoso-Bravo A, Fdz-Polanco M (2013) Anaerobic co-digestion of sewage sludge and grease trap: assessment of enzyme addition. *Process Biochem* 48(5–6):936–940. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.04.005>
- 27- Romero-Güiza MS, Vila J, Mata-Alvarez J, Chimenos JM, Astals S (2016) The role of

- additives on anaerobic digestion: a review. *Renew Sustain Energy Rev* 58:1486–1499. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.094>
- 28- Farid Haghighat Shoar, Reza Abdi, Bahman Najafi and Sina Faizollahzadeh Ardabili. The effect of thermochemical pretreatment on biogas production efficiency from kitchen waste using a novel lab scale digester. *Renewable Energy Focus* \_ Volume 28, Number 00 \_ March 2019.
- 29- Pérez-Rodríguez N, García-Bernet D, Domínguez JM (2016) Effects of enzymatic hydrolysis and ultrasounds pretreatments on corn cob and vine trimming shoots for biogas production. *Bioresour Technol* 221:130–138. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.013>
- 30- Rollini M, Sambusiti C, Musatti A, Ficara E, Retinò I, Malpei F (2014) Comparative performance of enzymatic and combined alkaline-enzymatic pretreatments on methane production from ensiled sorghum forage. *Bioprocess Biosyst Eng* 37(12):2587–2595. <https://doi.org/10.1007/s00449-014-1235-0>
- 31- Mallick P, Akunna JC, Walker GM (2010) Anaerobic digestion of distillery spent wash: influence of enzymatic pre-treatment of intact yeast cells. *Bioresour Technol* 101(6):1681–1685. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.089>
- 32- Moon HC, Song IS (2011) Enzymatic hydrolysis of foodwaste and methane production using UASB bioreactor. *Int J Green Energy* 8(3):361–371. <https://doi.org/10.1080/15435075.2011>.
- 33- Uçkun Kiran E, Trzcinski AP, Liu Y (2015) Enhancing the hydrolysis and methane production potential of mixed food waste by an effective enzymatic pretreatment. *Bioresour Technol* 183:47–52. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.033>
- 34- Yin Y, Liu YJ, Meng SJ, Kiran EU, Liu Y (2016) Enzymatic pretreatment of activated sludge, via anaerobic digestion. *Appl Energy* 179:1131–1137. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.07.083> food waste and their mixture for enhanced bioenergy recovery and waste volume reduction
- 35- Meng Y, Luan F, Yuan H, Chen X, Li X (2017) Enhancing anaerobic digestion performance of crude lipid in food waste by enzymatic pretreatment. *Bioresour Technol* 224:48–55. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.052>
- 36- Angelidaki I, Sanders W (2004) Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Rev Environ Sci Biotechnol* 3(2):117–129. <https://doi.org/10.1007/s11157-004-2502-3>
- 37- Dors G, Mendes AA, Pereira EB, de Castro HF, Furigo A (2013) Simultaneous enzymatic hydrolysis and anaerobic biodegradation of lipid-rich wastewater from poultry industry. *Appl Water Sci* 3(1):343–349. <https://doi.org/10.1007/s13201-012-0075-9>
- 38- Domingues RF, Sanches T, Silva GS, Bueno BE, Ribeiro R, Kamimura ES, Franzolin Neto R, Tommaso G (2015) Effect of enzymatic pretreatment on the anaerobic digestion of milk fat for biogas production. *Food Res Int* 73:26–30. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.03.027>

- 39- Forgács G, Lundin M, Taherzadeh MJ, Horváth IS (2013) Pretreatment of chicken feather waste for improved biogas production. *Appl Biochem Biotechnol* 169(7):2016–2028. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0116-3>
- 40- Kanmani P, Kumaresan K, Aravind J (2015) Pretreatment of coconut mill effluent using celite-immobilized hydrolytic enzyme preparation from *Staphylococcus pasteurii* and its impact on anaerobic digestion. *Biotechnol Prog* 31(5):1249–1258. <https://doi.org/10.1002/btpr.2120>
- 41- Elsamadony M, Tawfik A, Danial A, Suzuki M (2015) Use of *Carica papaya* enzymes for enhancement of H<sub>2</sub> production and degradation of glucose, protein, and lipids. *Energy Proc* 975–980. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.07.308>
- 42- Chen YT, Wang FS (2011) Determination of kinetic parameters for enzymatic cellulose hydrolysis using hybrid differential evolution. *Int J Chem React Eng* 9
- 43- Yang Q, Luo K, Xm Li, Db Wang, Zheng W, Gm Zeng, Jj Liu (2010) Enhanced efficiency of biological excess sludge hydrolysis under anaerobic digestion by additional enzymes. *Bioresour Technol* 101(9):2924–2930. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.012>
- 44- Luo K, Yang Q, Li XM, Yang GJ, Liu Y, Wang DB, Zheng W, Zeng GM (2012) Hydrolysis kinetics in anaerobic digestion of waste activated sludge enhanced by  $\alpha$ -amylase. *Biochem Eng J* 62:17–21. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2011.12.009>
- 45- Jha AK, Li J, Nies L, Zhang L (2011) Research advances in dry anaerobic digestion process of solid organic wastes. *Afr J Biotechnol* 10(65):14242–14253
- 46- Gomez-Tovar F, Celis LB, Razo-Flores E, Alatraste-Mondragón F (2012) Chemical and enzymatic sequential pretreatment of oat straw for methane production. *Bioresour Technol* 116:372–378. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.109>
- 2008.05.027
- 47- Adulkar TV, Rathod VK (2014) Ultrasound assisted enzymatic pre-treatment of high fat content dairy wastewater. *Ultrason Sonochem* 21(3):1083–1089. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.11.017>