

بررسی تغییرات شیمیایی، طیفی و ریزساختاری زیست‌توده کاه گندم توسط پیش‌فرآوری ترکیبی ازن - قلیا

مرضیه قربانی^۱، محمد حسین کیانمهر^{۲*}، اکبر عرب حسینی^۳، علی اسدی الموتی^۴ و رضا صادقی^۵

چکیده

پیش‌فرآوری یک پیش‌نیاز برای بهبود هضم‌پذیری زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی با درجه سرسختی بالا است. با این حال، هنوز در مؤلفه‌های کلیدی تغییرات زیست‌توده در اثر پیش‌فرآوری‌ها، بحث‌های قابل توجهی وجود دارد. در مطالعه حاضر، مؤلفه‌های شیمیایی، طیفی و ساختاری زیست‌توده کاه گندم قبل و بعد از یک پیش‌فرآوری ترکیبی به‌وسیله پیش از طریق بررسی‌های شیمیایی، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس (XRD) ارزیابی شد. از یک پیش‌فرآوری ترکیبی ازن - قلیا برای تخریب ساختار لیگنوسلولزی کاه گندم با هدف بهبود قابلیت دسترسی به محتوای ترکیبات قندی آن استفاده شد. بدین منظور، اثر پنج متغیر نرخ تولید ازن (۱، ۲ و ۳ گرم بر ساعت)، زمان ازن‌دهی (۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه)، نرخ جریان ازن / اکسیژن (صفر، ۳ و ۶ لیتر بر دقیقه)، محتوای رطوبت کاه گندم (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ درصد وزنی بر مبنای تر) و مقدار اوره (صفر، ۱/۵ و ۳ درصد وزنی) بر چهار پاسخ محتوای دیواره سلولی (NDF)، دیواره سلولی بدون همی سلولز (ADF)، لیگنین (ADL)، pH و همبستگی آن‌ها با روش سطح پاسخ (RSM) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که دو متغیر نرخ جریان و محتوای رطوبت بیشترین درصد تأثیرگذاری در اکثر پاسخ‌ها را به خود اختصاص دادند. بالاترین همبستگی‌ها بین دو پاسخ pH با NDF ($R^2 = 0/90$) و ADL با NDF ($R^2 = 0/64$) به دست آمد. شرایط بهینه در نرخ تولید ازن ۳ گرم بر ساعت، زمان ۴۵ دقیقه، نرخ جریان ازن/اکسیژن ۳/۵ لیتر بر دقیقه، رطوبت ۱۰۰ درصد وزنی و مقدار اوره ۳ درصد وزنی به دست آمد و در این شرایط، کاهش معنی‌داری در محتوای همی سلولز (۵۶/۹ درصد)، لیگنین (۵۰ درصد) و pH (۵۵/۷۶ درصد) بدون اختلاف معنی‌دار در سلولز نسبت به نمونه بدون پیش‌فرآوری مشاهده شد. نتایج تحقیق حاضر، کارایی بالای پیش‌فرآوری پیشنهادی را در تخریب الیاف دیواره سلولی کاه گندم در دما و فشار محیط به اثبات رساند. ارتباط بین تغییرات طیفی و ساختاری کاه گندم با یافته‌های آزمایشی از طریق نتایج آزمایش SEM و XRD تأیید شد. یافته‌های ما یک درک بهتری از تأثیر پارامترهای عملیاتی بر هضم‌پذیری کاه گندم را فراهم کرد که به‌آسانی با استفاده از روش پیشنهادی ترکیب ازن - قلیا بهبود یافت.

واژه‌های کلیدی: پیش‌فرآوری ازن - قلیا، روش سطح پاسخ، طیف‌سنجی پراش ایکس، کاه گندم، میکروسکوپ الکترونی روبشی.

ارجاع: قربانی م.، کیانمهر م.، ح. عرب حسینی، ا. اسدی الموتی و ع. صادقی. ۱۴۰۰. بررسی تغییرات شیمیایی، طیفی و ریزساختاری زیست‌توده کاه گندم توسط پیش‌فرآوری ترکیبی ازن - قلیا. نشریه پژوهش‌های مکانیک ماشین‌های کشاورزی. ۲۱: ۷۷-۹۳.

۱- دانش‌آموخته دکتری، گروه مهندسی بیوسیستم، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران، ایران.
۲- استاد گروه مهندسی بیوسیستم، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران، ایران.
۳- دانشیار گروه مهندسی بیوسیستم، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران، ایران.
۴- استادیار گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران، ایران.
۵- دانشیار گروه حشره‌شناسی و بیماری‌های گیاهی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: kianmehr@ut.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۱۵

مقدمه

امروزه توجه به منابع انرژی‌های تجدیدپذیر به‌ویژه زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی و پسماندهای کشاورزی جهت تولید محصولات با ارزش افزوده بالا مانند محصولات زیستی، زیست‌انرژی، غذا و خوراک دام بر اساس ماده ۴۸ فرآیندهای پالایشگاه زیستی^۱ در چارچوب اقتصاد زیستی چرخه‌ای افزایش یافته است (Sarlaki et al., 2021c).

هر ساله میلیون‌ها تن بقایای کاه گندم در سراسر جهان تولید می‌شود، اما تنها درصد کمی برای کاربردهایی مانند تولید مواد اولیه و انرژی استفاده می‌شود (Panthapulakkal et al., 2006). کاه گندم از یک ماکرومولکول شامل ۵۰-۴۰ درصد وزنی سلولز، ۱۵-۲۵ درصد وزنی همی‌سلولز و ۳۰-۱۵ درصد وزنی لیگنین تشکیل شده است که در میان آن‌ها سلولز فراوان‌ترین پلیمر زیستی شناخته شده در جهان است. سلولز، پلیمری خطی است که از اتصال ۱۰-۱۵ هزار واحد گلوکز با پیوند β (۱-۴) گلوکوزیدی تشکیل شده است. در حالی که همی‌سلولز هتروپلیمری کوتاه، شاخه‌دار، بی‌شکل، متشکل از قندهای پنج و شش کربنی و اسید یورونیک است که با پیوند β پلی‌زایلوز به یکدیگر متصل شده‌اند. همی‌سلولز، شبکه‌ای پیرامون سلولز تشکیل می‌دهد و ارتباط مستقیمی با پیوندهای هیدروژنی و نیروهای واندروالس با سلولز و پیوندهای کووالانسی با لیگنین دارد (Sarlaki et al., 2020a). لیگنین یک پلیمر سه بعدی است و بعد از سلولز فراوان‌ترین ترکیب آلی ساخته شده است که از ترکیبات فنولی مشتق می‌شود و با اتصال به دیگر اجزای دیواره سلولی و پوشیدن آن‌ها از یک طرف سبب مقاومت مکانیکی و شیمیایی گیاه به عوامل محیطی و میکروبی و از طرف دیگر مانع دسترسی مؤثر میکروارگانیسم‌ها به محتوای کربوهیدرات‌ها و کاهش تولید قند می‌شود (Casas et al., 2012).

به همین جهت برای بهره بردن کامل از پتانسیل کاه، باید ساختار لیگنین - سلولز دیواره‌های سلولی آن شکسته شود یا تغییر پیدا کند. بدین منظور از روش‌های مختلف پیش‌فرآوری با هدف افزایش مساحت سطح ویژه و تخلخل بستر، کاهش بلورینگی سلولز، تخریب همی‌سلولز

و لیگنین استفاده می‌شود (Ghorbani et al., 2021b). بر اساس یک طبقه‌بندی کلی پیش‌فرآوری‌های مواد لیگنوسلولزی به چهار نوع فیزیکی (آسیاب کردن، خرد کردن و خراشیدن)، شیمیایی (اسیدها، قلیاها و عوامل اکسیدکننده)، فیزیکوشیمیایی و زیستی (آنزیم، قارچ و باکتری) طبقه‌بندی می‌شود (Ghorbani et al., 2017a, b; Sarlaki et al., 2017, 2019a, b, c; Tajinia et al., 2020).

محققان همواره در تلاشند که با اعمال روش‌های مختلف پیش‌فرآوری نوآورانه، محیط‌زیست پسند، ساده و مقرون به‌صرفه بتوانند بر این پلیمر سرسخت غلبه کنند و با شکستن پیوندهای آن و آزادسازی سلولز و همی‌سلولز، گامی مؤثر برای اهداف مذکور بردارند.

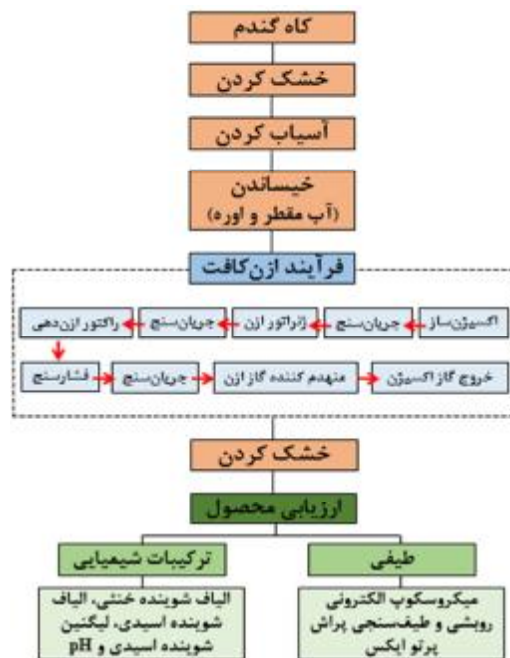
زیست‌توده‌های فرآوری شده به چند منظور از جمله تولید سوخت‌های زیستی، خوراک دام و کودهای ارگانیک استفاده می‌شوند.

در بین روش‌های مختلف پیش‌فرآوری، گاز ازن (O_3) به‌عنوان یک پیش‌فرآوری امیدوارکننده در تخریب ساختار زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی و افزایش دسترسی آنزیم‌ها و میکروب‌ها به قندها مطرح شده است (Travaini et al., 2016). در پژوهش‌های پیشین از ازن برای لیگنین‌زدایی زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی به‌منظور افزایش هیدرولیز آنزیمی (Bule et al., 2013; García-Cubero et al., 2009)، تولید سوخت‌های زیستی (اتانول، متان، هیدروژن) (Baig et al., 2015) و رنگبری کاغذ (Tripathi et al., 2019) استفاده شده است. مطالعات انجام شده و نتایج به دست آمده توسط محققان دلالت بر کارایی بالای گاز ازن در تخریب دیواره سلولی به‌ویژه لیگنین با حداقل اثرات بر سلولز و همی‌سلولز، تولید بسیار کم ترکیبات بازدارنده (فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال)، عدم تولید باقیمانده‌های سمی و به‌ویژه انجام آزمایش در دمای محیط و فشار اتمسفر (یا نزدیک اتمسفر) دارد (Ghorbani et al., 2020a, b, c; Travaini et al., 2016). همچنین گزارش شده است که در طول فرآیند ازن‌دهی، تولید اسیدهای آلی (فرمیک و استیک) می‌تواند باعث کاهش pH از ۶/۵ تا ۲ شوند (Binder et al., 2021a). به همین دلیل معمولاً از قلیاها (NaOH، KOH، H_2O_2) برای افزایش pH نمونه تحت فرآیند ازن‌دهی استفاده می‌کنند که هم

برای رسیدن به میانگین هندسی طول ذرات ۳ میلی‌متر استفاده شد. الک‌ها روی هم با اندازه سوراخ‌های بزرگ به کوچک قرار گرفتند. ۱۰۰ گرم کاه روی بالاترین الک ریخته شد و پس از روشن شدن لرزاننده و لرزش الک‌ها به مدت ۳۰ ثانیه، مقدار کاه باقی‌مانده در بالای هر کدام از الک‌ها با اندازه سوراخ مشخص به وسیله ترازوی دیجیتالی دقت بالا (۰/۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری و میانگین هندسی طول ذرات مطابق معادله (۱) محاسبه شد (ASAE S319.3, 2006).

$$d_{gw} (mm) = \log^{-1} \left[\frac{\sum_{i=1}^n (W_i \log \bar{d}_i)}{\sum_{i=1}^n W_i} \right] \quad (1)$$

که در این معادله d_{gw} میانگین هندسی طول ذرات (میلی‌متر)، w_i جرم روی الک i ام (گرم)، n تعداد الک‌ها به‌علاوه یک، d_i اندازه سوراخ الک i ام (میلی‌متر) است.



شکل ۱- طرح کلی مراحل مختلف آزمایش

رطوبت اولیه مواد با گذاشتن ۲۵ گرم نمونه داخل آون با ۱۰۳ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت با سه تکرار تعیین شد (ASAE S358.2, 2003). کاه‌ها (۱۰۰ گرم) پس از افزودن رطوبت (آب مقطر) و اوره در کیسه‌های پلاستیکی درب بسته، در یخچال ۴ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت به‌منظور توزیع یکنواخت رطوبت و اوره نگهداری شدند و بلافاصله تحت فرآیند ازن‌دهی قرار گرفتند.

اثرات کاهش pH را خنثی کند و هم به ازن در تخریب ساختار دیواره سلولی (صابونی شدن اتصالات استری کربوهیدرات-لیگنین) کمک کند (García-Cubero *et al.*, 2009). مطالعات متعددی بر سادگی استفاده از اوره به‌عنوان قلیا با حمل و نقل ارزان، بی‌خطر و اقتصادی بودن آن تأکید دارند و گزارش کردند که کاه فرآوری شده با اوره، باعث افزایش مدت زمان نگهداری مواد خشبی و مانع از رشد و تکثیر عوامل زیان‌بار می‌شود (Ghorbani *et al.*, 2021b).

در ایران مطالعات بسیار محدودی در زمینه پیش‌فرآوری زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی با گاز اکساینده ازن انجام شده است. همچنین بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که تا به حال گزارشی از فرآیند ترکیبی ازن - اوره بر ساختار ترکیبات دیواره سلولی کاه گندم ارائه نشده است. با توجه به تأثیرگذاری عوامل زیادی در فرآیند ازن‌دهی، نیاز به طراحی و ساخت اولیه یک سامانه آزمایشگاهی بود که بتواند شرایط مورد نیاز پیش‌فرآوری را به‌خوبی برآورده کند. به همین جهت، هدف این مقاله توسعه و بهینه‌سازی پیش‌فرآوری ترکیبی ازن - قلیا بر تغییرات ترکیبات اصلی کاه گندم و بررسی رابطه آن‌ها با مقدار pH نمونه‌ها بعد از فرآیند ازن‌دهی است. در نهایت نقطه بهینه فرآیند معرفی و شاخص بلورینگی^۱ سلولز و ساختار ریخت‌شناسی^۲ آن با نمونه بدون پیش‌فرآوری مقایسه و تجزیه و تحلیل می‌شوند.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها

طرح کلی مراحل مختلف آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است. مطابق شکل ۱، گندم رقم N-81-18 از مزارع شهرستان گنبد کاووس واقع در استان گلستان با موقعیت جغرافیایی ۵۵ درجه و ۱۸ دقیقه طول، ۳۷ درجه و ۱۷ دقیقه عرض در سال ۱۳۹۷ برداشت شد و رطوبت آن در هوای محیط کاهش یافت. سپس خوشه‌های گندم جدا و کاه‌ها در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند. از آسیاب چکشی - سایشی برای کاهش اندازه ذرات و از لرزاننده برقی الک آزمایشگاهی

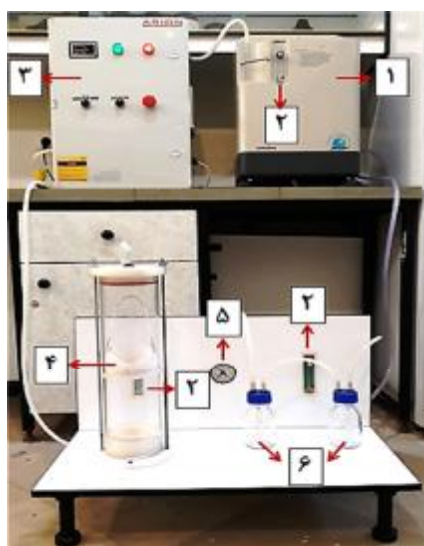
1- Crystallinity Index
2- Morphology

فرآیند ازن‌دهی

کیسه‌های پلاستیکی درب‌دار در مکان مناسب (دمای ۲۵ درجه سلسیوس) تا انجام آزمون‌های ارزیابی نگهداری شدند.



(الف)



(ب)

شکل ۲- الف) راکتور مورد استفاده در آزمایش و تجهیزات سازنده آن، ب) سامانه فرآیند ازن‌دهی: (۱) تولیدکننده گاز اکسیژن، (۲) جریان‌سنج، (۳) ژنراتور ازن، (۴) راکتور ازن‌دهی، (۵) فشارسنج و (۶) منهدم‌کننده گاز ازن

تعیین ترکیبات شیمیایی و بررسی طیفی

برای تعیین الیاف شوینده خنثی (NDF^۰), ۰/۵ گرم نمونه در کیسه‌های مخصوص (متخلخل، نسوز و مقاوم به

فرآیند ازن‌دهی در یک راکتور استوانه‌ای بستر ثابت با درب مهر و موم شده به قطر داخلی ۱۱ سانتی‌متر و ارتفاع ۴۵ سانتی‌متر (مقیاس آزمایشگاهی) در دمای محیط و فشار نزدیک به اتمسفر انجام شد (شکل ۲- الف). جنس تمامی قطعات و اتصالات بکار رفته در سامانه طراحی شده، نسبت به گاز اکساینده ازن مقاوم در نظر گرفته شد؛ به طوری که بدنه راکتور از جنس پلکسی گلاس شفاف، درب ثابت و متحرک راکتور از تفلون، واشر عایق‌بندی از سیلیکون، محل قرارگیری نمونه‌ها و توری زیرین آن‌ها از پلاستیک مرغوب و دستگیره ظرف نگهداری مواد از آلومینیوم ساخته شد (شکل ۲- الف). نرخ جریان ورودی مخلوط گاز ازن / اکسیژن با تغییر وضعیت شیر خروجی در دو حالت گسسته (حالت اشباع، شیر خروجی کامل بسته برای نرخ جریان نزدیک به صفر) و پیوسته (شیر خروجی حالت نیمه‌باز برای نرخ جریان‌های ۳ و ۶ لیتر بر دقیقه) تنظیم شد. دریچه‌های ورودی و خروجی گاز ازن با قطر ۰/۵ سانتی‌متر در بالا و پایین راکتور تعبیه شدند. از فشارسنج عقربه‌ای (دقت ۱۰ میلی‌بار) برای کنترل فشار راکتور و اطمینان از عایق‌بندی اتصالات سامانه استفاده شد. میزان فشار داخل راکتور برای سه نرخ جریان صفر، ۳ و ۶ لیتر بر دقیقه به ترتیب ۰/۴۶، ۰/۳۸ و ۰/۲۲ بار اندازه‌گیری شد. راکتور آزمایش و طرح کلی سامانه فرآیند ازن‌دهی در شکل ۲ نشان داده شده است.

مطابق شکل ۲- ب، گاز ازن با روش تخلیه الکتریکی^۱ توسط ژنراتور ازن (ARION, ODS-1300p, 220v, Iran) از اکسیژن با خلوص بالا (۳ ± ۹۳ درصد) تولید شد. مخلوط گاز ازن / اکسیژن خروجی از ژنراتور ازن پس از عبور از جریان‌سنج (دقت نیم لیتر بر دقیقه) از دریچه پایین راکتور وارد شد و با کاه‌های گندم مرطوب از پیش‌بارگذاری شده روی ظرف مخصوص (هم قطر با راکتور و تعبیه شده در وسط راکتور) برخورد کرد؛ سپس گاز باقیمانده (بدون واکنش) از دریچه بالای راکتور خارج و پس از عبور از منهدم‌کننده (محلول پتاسیم یدید ۲ درصد) به شکل گاز اکسیژن به محیط تخلیه شد. پس از فرآیند ازن‌دهی، نمونه‌های کاه در آون تا رسیدن به وزن ثابت در دمای ۴۰ درجه سلسیوس خشک شده و در

معادله (۳) محاسبه شد. با توجه به اینکه پیک‌های مشاهده شده در محدوده زاویه (2θ) $45^\circ - 10^\circ$ قرار داشت که برای تعیین درجه بلورینگی سلولز کفایت می‌کرد و در بقیه زاویا سلولز بدون پیک (آمورف) ظاهر شده بود، در رسم منحنی‌های پراش به محدوده زاویه (2θ) $45^\circ - 10^\circ$ بسنده شد (Li et al., 2015; Molina-Guerrero et al., 2018; Sarlaki et al., 2021d, 2022).

$$CrI = \frac{I_{002} - I_{amo}}{I_{002}} \times 100 \quad (3)$$

در این معادله، I_{002} حداکثر شدت بازتابی ورقه کریستالی در سلولز I (فراوانترین نوع کریستال در سلولز چوب) در شدت پراش 2θ بین $23^\circ - 21^\circ$ و I_{amo} حداقل شدت پراش 2θ در ناحیه بی‌شکل $20^\circ - 18^\circ$ است.

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

به منظور بررسی اثر پیش‌فرآوری اعمال شده بر ریزساختار نمونه‌های کاه گندم از میکروسکوپ الکترونی (TESCAN, VEGA3, Czech Republic) در محدوده 25 کیلوولت، بزرگنمایی 2000 برابر، در مقیاس نانو (10 میکرومتر) استفاده شد. نمونه‌ها با لایه نازک طلا قبل از آزمایش‌ها پوشش داده شدند (Phitsuwan et al., 2017).

طرح آزمایشی و تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش از نرم‌افزار Design Of Experiments (DOE) نسخه ۱۱ (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA) و روش سطح پاسخ^۵ در قالب طرح مرکب مرکزی^۶ (CCD) مرکز وجه $(\alpha = 1)$ استفاده شد. اثر پنج متغیر نرخ تولید ازن (1 ، 2 و 3 گرم بر ساعت)، زمان ازن‌دهی (15 ، 30 و 45 دقیقه)، نرخ جریان ازن / اکسیژن (صفر، 3 و 6 لیتر بر دقیقه)، محتوای رطوبت (100 ، 200 و 300 درصد وزنی بر مبنای تر) و اوره (صفر، $1/5$ و 3 درصد وزنی) بر چهار پاسخ NDF، ADF، ADL و pH مورد بررسی قرار گرفت. 50 واحد آزمایشی با سطوح معین و هشت تکرار در نقطه مرکزی برای افزایش دقت پیش‌بینی داده‌های آزمایشی توسط نرم‌افزار پیشنهاد و در آزمایشگاه اجرا شدند. معادله (۴)، مدل پیشنهادی برای پاسخ مرتبه دوم برازش شده را نشان می‌دهد.

اسید) ریخته شد و با محلول شوینده خنثی (جهت تعیین مجموع همی‌سلولز، سلولز و لیگنین) در داخل دیزی مخصوص در دمای 100 درجه سلسیوس به مدت یک ساعت استخراج شدند. سپس بقایای نمونه‌ها با محلول شوینده اسیدی (ADF^1) (جهت تعیین مجموع سلولز و لیگنین) مشابه مرحله قبل استخراج شدند. همچنین، لیگنین شوینده اسیدی (ADL^2) نمونه‌ها (جهت تعیین لیگنین) با استفاده از 100 میلی‌لیتر اسید سولفوریک 72 درصد (رقیق شده با آب مقطر) به ازای هر نمونه، به مدت سه ساعت در دمای محیط استخراج شدند. پس از استخراج در هر مرحله کیسه‌ها با آب گرم فراوان شسته و در آون 60 درجه سلسیوس به مدت 24 ساعت خشک شدند. همی‌سلولز و سلولز به ترتیب از اختلاف وزن الیاف شوینده خنثی از الیاف شوینده اسیدی و اختلاف الیاف شوینده اسیدی از لیگنین شوینده اسیدی طبق معادله (۲) محاسبه شدند (Van Soest et al., 1991).

$$NDF, ADF, ADL (\%) = \frac{m_{bag+sample} - m_{bag}}{m_{initial\ sample}} \times 100 \quad (2)$$

$$Hemicellulose = NDF - ADF$$

$$Cellulose = ADF - ADL$$

$$Lignin = ADL$$

در این معادله $m_{bag+sample}$ و m_{bag} به ترتیب جرم کیسه حاوی نمونه بعد از فرآوری، جرم کیسه خالی و جرم نمونه اولیه بر حسب گرم هستند.

مقدار pH نمونه‌ها با قرار دادن 0.5 گرم کاه گندم خشک پیش‌فرآوری شده در 10 میلی‌لیتر آب مقطر (نسبت $1:20$) پس از یک ساعت با دستگاه pH سنج (pH meter 340i, German) اندازه‌گیری شدند (Ghasemi, 2013).

طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس (XRD)

برای تعیین درجه بلورینگی سلولز از دستگاه پراش‌سنج (Rigaku, Ultima IV, Japan) با منبع تابش Cu-K α استفاده شد و طول موج 0.154 نانومتر، ولتاژ شتاب‌دهنده 40 کیلوولت و جریان 40 میلی‌آمپر بر نمونه‌ها اعمال شد. منحنی‌های پراش در محدوده زوایای پراکنش (2θ) $10^\circ - 5^\circ$ با سرعت پویش 4° بر دقیقه و گام 0.4 به دست آمدند. درجه بلورینگی سلولز مطابق

4- Scanning Electron Microscopy
5- Response Surface Method (RSM)
6- Central Composite Designs (CCD)

1- Acid Detergent Fiber
2- Acid Detergent Lignin
3- X-Ray Diffraction Spectroscopy

نتایج بررسی آماری

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس و معنی‌داری پنج متغیر نرخ تولید ازن، زمان، نرخ جریان ازن / اکسیژن، محتوای رطوبت و اوره بر چهار پاسخ NDF، ADF، ADL و pH در جدول ۳ نشان داده شده است. معنی‌داری مدل ($P < 0.01$) و غیر معنی‌دار بودن عدم تناسب داده‌ها با مدل ($P > 0.05$)، تأییدی بر تطابق خوب مدل با داده‌های آزمایشی به دست آمده است.

مطابق نتایج جدول ۳، از ۵ متغیر مستقل مورد بررسی، دو متغیر مستقل نرخ جریان ازن / اکسیژن و محتوای رطوبت با بیشترین درصد تأثیرگذاری به‌عنوان مؤثرترین عوامل در کاهش محتوای دیواره سلولی کاه گندم در فرآیند ازن‌دهی انتخاب شدند. اثرگذاری بالای این دو متغیر مستقل در نتایج پاسخ‌های مورد بررسی به‌خوبی قابل مشاهده است؛ به‌طوری‌که بالاترین معنی‌داری ($0.01 < P < 0.05$) به‌طور هم‌زمان برای هر ۴ پاسخ، فقط در این دو متغیر مستقل مشاهده شد (جدول ۳). به‌همین منظور اثر این دو متغیر مستقل (نرخ جریان ازن / اکسیژن و محتوای رطوبت) بر چهار پاسخ (NDF، ADF، ADL و pH) مورد بررسی در پژوهش، در ادامه مورد بحث قرار می‌گیرد.

ارزیابی متغیر مستقل نرخ جریان ازن / اکسیژن

در بررسی اثر متغیر نرخ جریان ازن / اکسیژن بر تغییرات چهار پاسخ NDF، ADF، ADL و pH، یک رابطه مرتبه دوم (منحنی سهموی) و روند مشابه بین هر چهار پاسخ مشاهده شد (شکل ۳).

مطابق شکل ۳، با افزایش نرخ جریان از صفر تا ۴ لیتر بر دقیقه، مقدار NDF، ADF، ADL و pH کاهش و بعد از آن با شیب‌های متفاوت روند افزایشی مشاهده شد. به‌طور کلی در یک نرخ تولید ازن ثابت، افزایش نرخ جریان باعث کاهش غلظت و برخورد سریع‌تر مولکول‌های ازن / اکسیژن با ذرات زیست‌توده می‌شود. نتایج این پژوهش کاهش قابل توجهی را در مقدار NDF، ADF، ADL تا نرخ جریان ۴ لیتر بر دقیقه نشان داد که دلیل آن را می‌توان دسترسی و نفوذ سریع‌تر ازن به دیواره سلولی کاه و تخریب ساختار دیواره سلولی آن بیان کرد؛ اما افزایش بیشتر نرخ جریان باعث شد که غلظت ازن، مدت زمان ماند و برخورد ازن با ذرات کاه کاهش یابد و ازن فرصت

$$Y_n = b_0 + \sum_{i=1}^n b_i X_i + \sum_{i=1}^n b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1, l < j}^n b_{ij} X_i X_j + e \quad (4)$$

در این معادله، Y_n متغیر وابسته، n تعداد متغیرها، β_0 متغیر ثابت، β_i ، β_{ii} و β_{ij} ضرایب ثابت برآورد شده توسط مدل، X_i و X_j و X_i^2 سطح متغیرهای مستقل و به ترتیب بیانگر اثرات خطی، درجه دوم، برهمکنش‌ها بر پاسخ و ϵ باقیمانده (خطا) هستند (Sarlaki et al., 2021b).

سهم تأثیرگذاری هر یک از متغیرهای مستقل بر پاسخ‌های مورد بررسی در آزمایش از معادله (۵) به دست آمد (Sarlaki et al., 2021a).

$$\text{Contribution factor (\%)} = \frac{SS_f}{SS_T} \times 100 \quad (5)$$

در این معادله، SS_f و SS_T به ترتیب مجموع مربعات متغیر مورد نظر و مجموع مربعات کل متغیرها است.

در نهایت، نقطه بهینه فرآیند، مشخص و با دو نمونه کاه گندم بدون پیش‌فرآوری و گندم و پیش‌فرآوری شده با اوره تنها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن^۱ ($p < 0.05$) با نرم‌افزار^۲ (SAS, Ver. 9) تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج و بحث

در این پژوهش، برای هر چهار پاسخ، مدل مرتبه دوم^۳ با بیشترین R^2 و کمترین انحراف معیار^۴ توسط نرم‌افزار پیشنهاد شد (جدول ۱). بررسی سه پارامتر ضریب همبستگی (بالای ۰/۹۱)، انحراف معیار (کمتر از ۱/۳۲) و ضریب تغییرات (کمتر از ۵/۲۰) پاسخ‌ها، بیانگر اعتبار بالای مدل پیشنهادی برای هر چهار پاسخ مورد بررسی توسط نرم‌افزار است.

مدل رگرسیون نهایی پیش‌بینی تأثیر متغیرهای مستقل نرخ تولید ازن (A)، زمان (B)، نرخ جریان ازن / اکسیژن (C)، محتوای رطوبت (D) و اوره (E) بر NDF، ADF، ADL و pH با حذف عوامل غیرمعنی‌دار، در جدول ۲ نشان داده شده است که در آن ضرایب به‌صورت کدگذاری شده هستند. علامت مثبت و منفی در مقابل هر اصطلاح در مدل ریاضی به ترتیب نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی و اثر غیر همسو است.

1- Duncan
2- SAS
3- Quadratic
4- Standard Deviation

پایین حمله و به‌طور عمده اسیدهای آلی مانند اسید فرمیک و استیک که منجر به کاهش pH از ۶/۵ به ۲ می‌شوند را تولید می‌کند (Binder *et al.*, 1980; García-Cubero *et al.*, 2009). همچنین گرماده بودن واکنش اکسیداسیون ازن از یک طرف و افزایش نرخ جریان ازن / اکسیژن از طرف دیگر، باعث کاهش بیشتر رطوبت کاه‌ها در طول فرآیند ازن‌دهی شده و اثر انتقال ازن از محیط آبی به زیست‌توده را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

کافی برای برخورد مؤثر با ترکیبات دیواره سلولی را نداشته باشد. همچنین روند مشابه کاهشی و سپس افزایشی مقدار pH در نرخ جریان ۴ لیتر بر دقیقه تأییدی بر کاهش تأثیر جریان‌های بالاتر از ۴ لیتر بر دقیقه بر واکنش ازن با ترکیبات دیواره سلولی است. زیرا ازن نسبت به ترکیبات حاوی پیوندهای دوگانه و گروه‌های عاملی با تراکم الکترونی بالا بسیار واکنش‌پذیر است و به لیگنین آزاد شده از ترکیبات محلول با وزن مولکولی

جدول ۱- نتایج بررسی آماری بهترین مدل برازش یافته پیشنهادی با روش سطح پاسخ برای پاسخ‌های مورد بررسی

پاسخ	انحراف معیار	ضریب همبستگی	ضریب تغییرات (درصد)
NDF	۱/۳۲	۰/۹۴	۱/۷۶
ADF	۰/۷۰	۰/۹۱	۱/۱۲
ADL	۰/۶۴	۰/۹۲	۵/۲۰
pH	۰/۲۰	۰/۹۹	۴/۵۸

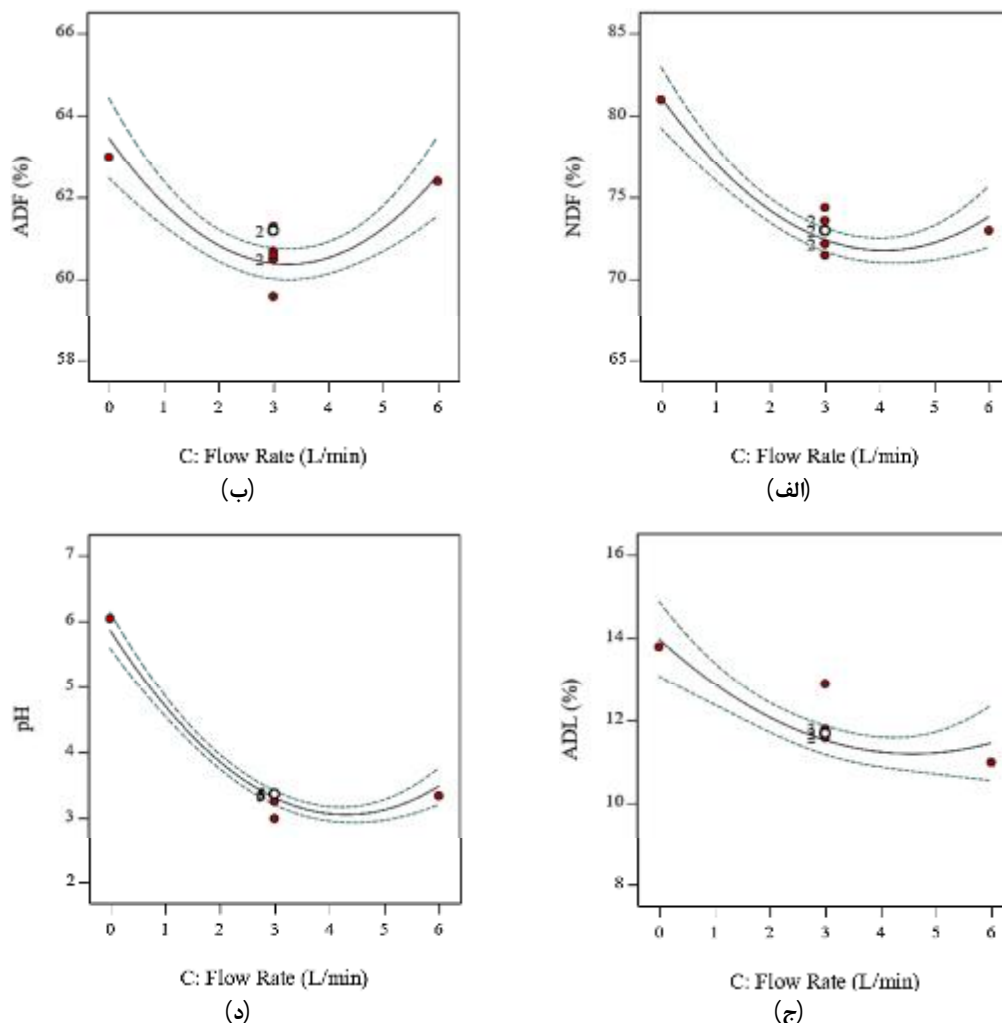
جدول ۲- مدل رگرسیون پیش‌بینی اثرات متغیرهای مستقل بر پاسخ‌های مورد بررسی

پارامتر	مدل رگرسیونی
محتوای دیواره سلولی (درصد)	$NDF = +72.44 - 1.12 B - 3.65 C + 0.9735 D - 0.7156 AC - 0.4906 AE - 0.8031 BC + 0.5344 CD + 4.99 C^2 - 1.11 D^2$
دیواره سلولی بدون همی سلولز (درصد)	$ADF = + 60.41 - 0.2647 A - 0.4676 C + 1.01 D + 0.2594 AD - 0.3719 AE + 0.3531 BE + 0.2781 DE + 2.63 C^2$
لیگنین (درصد)	$ADL = + 11.54 - 0.6034 A - 0.2975 B - 1.26 C + 0.9466 D - 0.2182 BC + 0.1974 BD + 0.6818 CD + 0.2849 DE + 1.20 C^2$
pH	$pH = + 3.33 - 0.0995 A - 0.3310 B - 1.19 C + 0.1872 D + 0.0698 AB - 0.1935 AC - 0.2214 BC - 0.0807 BD + 0.1208 CD + 1.42 C^2$

جدول ۳- نتایج تجزیه و تحلیل واریانس مدل مرتبه دوم اثر متغیرهای مستقل بر پاسخ‌های مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	تأثیرگذاری (درصد)				میانگین مربعات			
		NDF	ADF	ADL	pH	NDF	ADF	ADL	pH
مدل	۲۰	۰/۱۴	۱/۵۶	۸/۲۲	۰/۴۲	۳۸/۶۴**	۶/۹۵**	۶/۹۳**	۳/۹۹**
A	۱	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۲۲	۰/۴۲	۱۲/۳۸**	۲/۳۸*	۱۲/۳۸**	۰/۳۴**
B	۱	۵/۱۸	۰/۱۰	۴/۶۱	۴/۶۱	۴۲/۶۹**	۴۲/۶۹**	۳/۰۱*	۳/۷۳**
C	۱	۵۴/۹۹	۴/۸۶	۳۵/۷۹	۵۹/۸۸	۴۵۲/۹۶**	۷/۴۴**	۵۳/۹۲**	۴۸/۴۱**
D	۱	۳/۹۱	۲۲/۶۲	۲۰/۲۲	۱/۴۷	۳۲/۲۲**	۳۴/۶۰**	۳۰/۴۶**	۱/۱۹**
AC	۱					۱۶/۳۹**			۱/۲۰**
AD	۱					۲/۱۵*			
AE	۱					۴/۴۳**			
BC	۱					۲۰/۶۴**			۱/۵۷**
BD	۱								۰/۲۱*
BE	۱						۳/۹۹**		
CD	۱					۹/۱۴*		۱۴/۸۷**	۰/۴۷**
DE	۱						۲/۴۸*	۲/۶۰*	
C ²	۱					۶۲/۸۹**	۱۶/۶۹**	۳/۵۱**	۴/۶۰**
E ²	۱						۲/۴۸*		۰/۲۸*
باقیمانده	۲۹					۱/۷۵	۰/۴۸	۰/۴۱	۰/۰۴
عدم تناسب	۲۲					۲/۰۳ ^{NS}	۰/۵۴ ^{NS}	۰/۴۹ ^{NS}	۰/۰۵ ^{NS}
خطای خالص	۷					۰/۸۸	۰/۳۱	۰/۱۸	۰/۰۲
کل	۴۹								

A, B, C, D, E, ** و ns به ترتیب بیانگر نرخ تولید ازن (گرم بر ساعت)، زمان (دقیقه)، نرخ جریان ازن / اکسیژن (لیتر بر دقیقه)، محتوای رطوبت (درصد وزنی)، اوره (درصد وزنی)، معنی‌داری در سطح یک درصد، پنج درصد و عدم معنی‌داری هستند.



شکل ۳- اثر متغیر نرخ جریان ازن / اکسیژن (لیتر بر دقیقه) بر محتوای الف (NDF%)، ب (ADF%)، ج (ADL%) و د (pH)

اثر خشکی قابل توجهی در طول فرآیند ازن‌دهی داشته باشد، به همین جهت محتوای رطوبت اولیه زیست‌توده به‌عنوان یکی از مؤثرترین پارامترها در فرآیند ازن‌دهی همواره مطرح بوده است (Mamleeva *et al.*, 2009). در مطالعه محتوای رطوبت ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد وزنی برای ازن‌دهی باگاس نیشکر، نتیجه مطلوب را در محتوای رطوبت ۵۰ درصد یافتند (Souza-Corrêa *et al.*, 2013). درحالی‌که در تحقیق دیگر، ۴۶ درصد بازده گلوکز در ۸۰ درصد وزنی محتوای رطوبت باگاس نیشکر به دست آمد که به مقدار ۶ درصد بیشتر از رطوبت ۴۰ درصد وزنی بود و گزارش کردند که در محتوای رطوبتی کم، تشکیل ترکیبات مهارکننده افزایش یافت (Travaini *et al.*, 2013). در کاه گندم، گلوکز بهینه آزاد شده در محتوای رطوبت ۹۰ درصد وزنی گزارش شد و دلیل آن را به اندازه

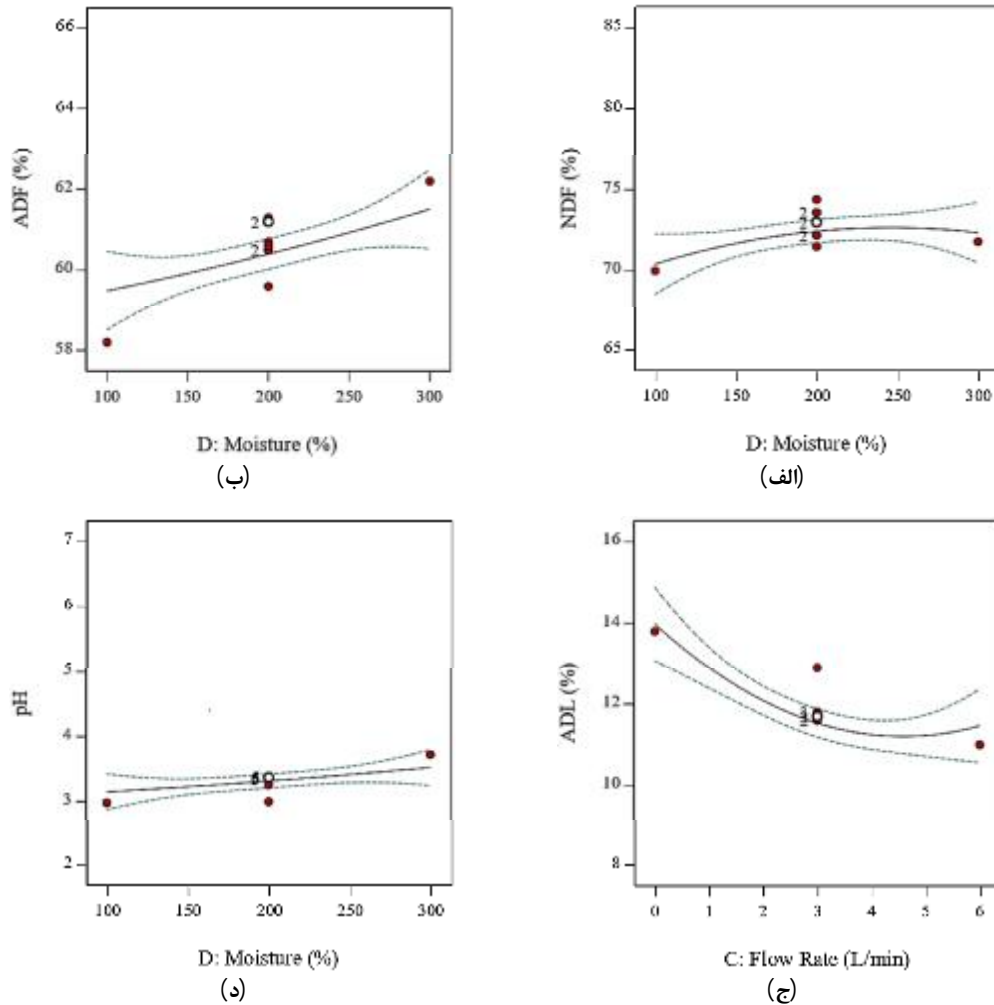
ارزیابی متغیر مستقل محتوای رطوبت

در بررسی اثر متغیر محتوای رطوبت بر تغییرات NDF، ADF و pH مطابق شکل ۳، یک رابطه نسبتاً خطی و صعودی بین محتوای رطوبت و چهار پاسخ مورد بررسی به دست آمد که این افزایش در محتوای NDF و pH با شیب کمتر و در محتوای ADF و ADL با شیب بیشتر مشاهده شد (شکل ۴).

مطابق شکل ۴ و نتایج آزمایش‌ها، کمترین میزان NDF، ADF و ADL در محتوای رطوبت ۱۰۰ درصد وزنی مشاهده شد. بسیاری از محققان گزارش کردند که رطوبت نمونه به‌دلیل تأثیر آن روی انتقال جرم ازن و غلظت مؤثر رادیکال‌های تولید شده مهم‌ترین پارامتر فرآیند ازن‌دهی است. جریان ازن - اکسیژن و افزایش دمای ناشی از واکنش‌های اکسیداسیون گرماده می‌تواند

مطالعات مختلف، محتوای رطوبت بهینه برای انواع زیست‌توده و حتی یک زیست‌توده مشابه بر اساس پارمترهای مورد بررسی متفاوت است و باید مورد بررسی قرار گیرد.

کوچک بستر (یک سانتی‌متر) نسبت دادند که می‌تواند تشکیل لایه‌های ضخیم آب را کاهش دهد (Bule *et al.*, 2013). اما در پژوهشی دیگر، محتوای رطوبت ۳۰۰ درصد وزنی را برای حداکثر لیگنین‌زدایی کاه گندم گزارش کردند (Baig *et al.*, 2015). با توجه به نتایج



شکل ۴- اثر متغیر محتوای رطوبت (درصد وزنی) بر محتوای الف (NDF%)، ب (ADF%)، ج (ADL%) و د (pH)

همانطور که در شکل ۵- الف مشاهده می‌شود کمترین مقادیر NDF، ADF و ADL در کمترین pH است. در این تحقیق از اوره به منظور ایجاد محیط قلیایی و جلوگیری از کاهش pH در طول فرآیند ازن‌دهی استفاده شد که استفاده از مقدار پایین (۳ درصد) و کاهش سریع pH در اثر ازن‌دهی، اوره نتوانست تأثیر قابل ملاحظه‌ای در این پژوهش داشته باشد. همبستگی بالای مشاهده شده بین pH با NDF را می‌توان به دلیل ماهیت همی‌سلولز و حساسیت آن به قلیا و اسید بیان کرد. از

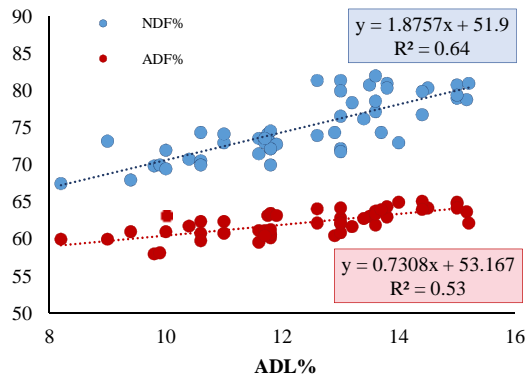
ارزیابی همبستگی بین پاسخ‌های مورد مطالعه

شکل ۴ رابطه همبستگی بین چهار پاسخ NDF، ADF، ADL و pH را نشان می‌دهد. در بررسی همبستگی pH با سه پاسخ دیگر، یک همبستگی مثبت قوی ($R^2 = 0/90$) با NDF و دو همبستگی مثبت متوسط با ADL ($R^2 = 0/63$) و ADF ($R^2 = 0/43$) مشاهده شد (شکل ۵- الف). همچنین همبستگی مثبت متوسطی بین ADL با دو پاسخ NDF ($R^2 = 0/64$) و ADF ($R^2 = 0/53$) به دست آمد (شکل ۵- ب).

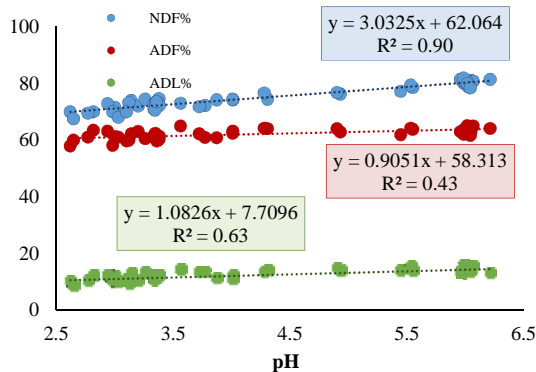
(2013). لیگنین در ابتدای واکنش به آسانی تجزیه می‌شود. با این حال، مقدار کمی از لیگنین وجود دارد که حذف آن مشکل است؛ زیرا مقدار باقیمانده لیگنین می‌تواند در موقعیت‌هایی قرار گیرد که قابلیت دسترسی برای ازن کمتر است (Mamleeva *et al.*, 2009). همبستگی بالاتر ADL با NDF در تحقیق حاضر را می‌توان به انحلال‌سازی بیشتر همی سلولز همزمان با کاهش لیگنین در اثر ازن‌دهی ارتباط داد (Ben-Ghedalia & Miron, 1981). در تحقیقی دیگر نیز همزمان با کاهش لیگنین، حلالیت همی سلولز افزایش یافت و محققان احتمال دادند که هر دو ترکیب با هم در یک کمپلکس لیگنین - همی سلولز حل می‌شوند (Sun & Cheng, 2002). همچنین در مطالعه فرآوری کاه گندم با اوره ۴ درصد، محتوای NDF بیشتر تحت تأثیر قرار گرفت و میزان ADF و ADL کاه اندکی کاهش یافت و دلیل آن را حساسیت بیشتر همی سلولز نسبت به لیگنین‌زدایی نسبت دادند (Gebretsadik & Kebede, 2011).

طرفی همی سلولز به دلیل ماهیت غیر بلوری، هیدرولیز راحت‌تری نسبت به سلولز دارد (Sun *et al.*, 2001). در تحقیقی با نتایج مشابه که از حرارت به همراه بخار تحت فشار در کاه برنج استفاده کردند، آزاد شدن گروه‌های اسیدی (استیک و فرمیک) از همی سلولز و پایین آوردن pH باعث افزایش هیدرولیز و محلولیت همی سلولز شد (Liu & Ørskov, 2000). در ازن‌دهی کاه گندم و چاودار در یک راکتور بستر ثابت مرطوب شده با آب و محلول سدیم هیدروکسید ۲۰ درصد، واسطه قلیایی منجر به تخریب کربوهیدرات‌ها و لیگنین‌زدایی کمتر شد (García-Cubero *et al.*, 2009) و در سوسپانسیون ۵ درصد کاه گندم در آب مصرف بالاتر ازن در واسطه قلیایی مشاهده شد (Binder *et al.*, 1980).

در شکل ۵- ب همبستگی بین ADL با NDF و ADF نشان داده شده است. تجزیه لیگنین و شکست اتصالات عرضی توسط ازن باعث کاهش قدرت چسبندگی بین میکروفیبرهای سلولز، افزایش محلولیت لیگنین، همی سلولز و آزاد شدن سلولز می‌شود و دسترسی آنزیم‌ها به سلولز و همی سلولز را بهبود می‌دهد (Barros *et al.*,



(ب)



(الف)

شکل ۵- رابطه همبستگی پاسخ‌ها، الف) pH با NDF، ADF، ADL و ب) ADL با NDF و ADF

به‌عنوان نقطه بهینه توسط نرم‌افزار با شاخص مطلوبیت بالا (۰/۹۳) معرفی شد. بر این اساس در این پژوهش، ترکیبات شیمیایی، فیزیکی و شاخص بلورینگی سلولز کاه گندم پیش‌فرآوری شده با اوره و ازن (WSU) با کاه گندم بدون پیش‌فرآوری (WS) و پیش‌فرآوری شده با اوره تنها (WSU) مقایسه شدند (جدول ۴). مطابق جدول ۴، بین نمونه WSU و WS اختلاف معنی‌داری در مقادیر همی سلولز، سلولز، لیگنین و pH

بهینه‌سازی پیش‌فرآوری ترکیبی ازن - قلیا

در این پژوهش، شرایط بهینه پیش‌فرآوری ترکیبی ازن - قلیا با در نظر گرفتن کمترین مقادیر NDF، ADF و ADL تعیین شد. سایر متغیرها نیز در محدوده خودشان^۱ قرار گرفتند. کاه گندم پیش‌فرآوری شده با نرخ تولید ازن ۳ گرم بر ساعت، زمان ۴۵ دقیقه، نرخ جریان ۳/۵ لیتر بر دقیقه، رطوبت ۱۰۰ درصد وزنی و اوره ۳ درصد وزنی

1- In range

واکنش‌پذیری بالای ازن در تخریب الیاف دیواره سلولی کاه گندم به‌ویژه لیگنین و همی‌سلولز را نشان می‌دهد. نتایج مشابهی در کاهش مقدار همی‌سلولز و لیگنین با تغییرات کمی در محتوای سلولز دیواره سلولی زیست‌توده‌های پیش‌فرآوری شده با گاز ازن گزارش شده است (Ben-Ghedalia & Miron, 1981; García-Cubero *et al.*, 2009; Perrone *et al.*, 2016).

مشاهده نشد. درحالی‌که در نمونه WSUO کاهش معنی‌داری در همی‌سلولز (۵۶/۹ درصد)، لیگنین (۵۰ درصد)، pH (۵۵/۷۶ درصد) و عدم معنی‌داری در سلولز نسبت به WS مشاهده شد. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که اوره به تنهایی قادر به تخریب الیاف دیواره سلولی بطور قابل ملاحظه نبوده است، در حالی‌که کاربرد همزمان اوره و ازن و کاهش قابل توجه در محتوای ترکیبات دیواره سلولی، اثر اکسیدکنندگی و

جدول ۴- ترکیبات شیمیایی و فیزیکی کاه گندم بدون پیش‌فرآوری (WS)، پیش‌فرآوری شده با اوره (WSU) و پیش‌فرآوری ترکیبی با اوره و ازن (WSUO)

WSUO	WSU	WS	ترکیبات
۹۵/۷۴	۹۵/۸۲	۹۵/۵۱	ماده خشک (درصد)
۷/۵ ^b	۱۶/۲۰ ^a	۱۷/۴۰ ^a	همی‌سلولز (درصد)
۵۱/۸۰ ^a	۴۸/۲۰ ^a	۴۸/۸۰ ^a	سلولز (درصد)
۸/۲۰ ^b	۱۵/۶۰ ^a	۱۶/۴۰ ^a	لیگنین (درصد)
۲/۶۵ ^b	۶/۰۴ ^a	۵/۹۹ ^a	pH
۶۸/۳۹	۶۸/۹۵	۶۷/۸۳	شاخص بلورینگی

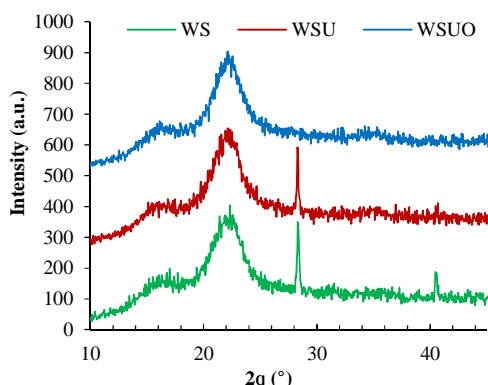
تولید نمی‌کند؛ اما مانند انفجار بخار این فرآیند برای زیست‌توده‌های با محتوای لیگنین بالا مناسب نیست و نیازمند ایجاد شرایط دما و فشار بالاست و هزینه مربوط به آمونیاک و بازیابی آن زیاد است. پیش‌فرآوری‌های اسیدی و قلیایی برای زیست‌توده‌های با محتوای لیگنین بالا مؤثرتر هستند. اسید، همی‌سلولز را به زایلوز و سایر قندها هیدرولیز می‌کند و ساختار لیگنین را تغییر می‌دهد؛ اما هزینه‌های بالا، خوردگی تجهیزات و تشکیل مواد سمی، معایب مربوط به این فرآیندهاست. روش پیش‌فرآوری زیستی باعث کاهش لیگنین و همی‌سلولز با نیازهای انرژی بسیار پایین می‌شود و سازگار با محیط زیست است؛ اما فراهمی محیط ویژه واکنش، پایین بودن نرخ هیدرولیز و مدت زمان طولانی فرآیند از معایب آن است (Das *et al.*, 2015). در پیش‌فرآوری با گاز اکسایند ازن، کاهش قابل توجه محتوای لیگنین، عدم تولید ترکیبات مهارکننده، قابل انجام در شرایط دما و فشار محیط، عدم نیاز به رقت محصول و مشکلات پساب حاصل از آن گزارش شده است؛ اما نیازمند استفاده از تجهیزات مقاوم در برابر اکسید شدن است (Ghorbani *et al.*, 2021b, c).

در جدول ۵، روش‌های مختلف پیش‌فرآوری زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی، شرایط پیش‌فرآوری و درصد لیگنین‌زدایی آن‌ها مقایسه شده است. هر یک از روش‌های پیش‌فرآوری ممکن است برای یک زیست‌توده خاص کافی نباشد و معمولاً از روش‌های پیش‌فرآوری ترکیبی برای به دست آوردن نتایج مطلوب‌تر استفاده می‌شود. نتایج تحقیقات پیشین نشان می‌دهد که روش پیش‌فرآوری فراصوت قابل انجام در دما و فشار محیط است؛ اما نیازمند ایجاد فاز مایع است که برای به دست آوردن نتایج مطلوب‌تر، افزایش دما نیز لازم است (Ghorbani *et al.*, 2015). روش ریزموج در مدت زمان کوتاه قابل اجراست؛ اما به دما و توان بالایی نیاز دارد. فرآیند انفجار بخار به‌راحتی قابل دستیابی است و باعث تجزیه همی‌سلولز و تبدیل لیگنین می‌شود؛ اما این فرآیند برای زیست‌توده‌هایی با محتوای لیگنین بالا مناسب نیست، نیاز به ایجاد محیطی با شرایط دما و فشار بالا است و باعث تولید ترکیبات مهارکننده برای میکروارگانیزم‌ها می‌شود. فرآیند انفجار فیبر آمونیاک باعث افزایش مساحت سطح قابل دسترسی زیست‌توده می‌شود، لیگنین و همی‌سلولزها را تا حد مشخصی حذف می‌کند و ترکیبات بازدارنده‌ای برای میکروارگانیزم‌ها

جدول ۵- مقایسه روش‌های مختلف پیش‌فرآوری بر درصد لیگنین‌زدایی زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی

ماده اولیه	نوع پیش‌فرآوری	شرایط پیش‌فرآوری	لیگنین‌زدایی (درصد)	منبع
کاه گندم	ازن + ۳ درصد اوره	دمای محیط، زمان ۴۵ دقیقه، فشار محیط	۵۰	مطالعه حاضر
کاه گندم	ازن + سدیم هیدروکسید ۲۰ درصد	دمای محیط، زمان ۱۵۰ دقیقه، فشار محیط	۴۴/۳	García-Cubero <i>et al.</i> (2009)
پوسته برنج	حمام فراصوت + آب دیونیزه	فرکانس ۳۰ کیلوهرتز، دما ۸۰ درجه سلسیوس، زمان ۱۲۰ دقیقه، فشار محیط	۱۰	Curbelo-Hernández <i>et al.</i> (2019)
کاه برنج	فراصوت + سدیم هیدروکسید ۱ درصد	توان ۳۰۰ وات، دما ۵۰ درجه سلسیوس، زمان ۶۰ دقیقه (۲ ثانیه روشن، ۴ ثانیه خاموش)، فشار محیط	۴۳/۶	Wu <i>et al.</i> , (2017)
کاه گندم	ریزموج + سدیم هیدروکسید ۱۰ درصد	توان ۱۰۰۰ وات، زمان ۱۵ دقیقه، فشار محیط	۱۷/۸۵	Xu <i>et al.</i> (2011)
علوفه ذرت	انفجار فیبر آمونیاک	دما ۱۳۰ درجه سلسیوس، زمان ۶۰ دقیقه، فشار ۲۰/۶۸ کیلوپاسکال	۱۰/۱	Beauchemin <i>et al.</i> (2019_)
کاه گندم	انفجار بخار	دما ۲۰۰ درجه سلسیوس، زمان ۳ دقیقه، فشار ۳۵۰۰ کیلوپاسکال	۱۳	Cui <i>et al.</i> (2012)
کاه گندم	سولفوریک اسید ۴ درصد	دما ۱۲۱ درجه سلسیوس، زمان ۶۰ دقیقه، فشار محیط	۲۳/۲۳	Zheng <i>et al.</i> (2018)
کاه گندم	زیستی (فارچ پوسیدگی سفید <i>Irpex lacteus</i>)	دما ۲۵ درجه سلسیوس، زمان ۱۹ روز، فشار محیط	۵۰/۹	Knežević <i>et al.</i> (2021)

داشته است (Benko *et al.*, 2020; Mamleeva *et al.*, 2013; Perrone *et al.*, 2016; Yu *et al.*, 2011; Zheng *et al.*, 2018)



شکل ۶- الگوی پراش پرتوی ایکس نمونه‌های کاه گندم (WS): بدون پیش‌فرآوری، WSU: پیش‌فرآوری شده با اوره، WSUO: پیش‌فرآوری ترکیبی ازن - اوره)

میکروسکوپ الکترونی روبشی

سطح نمونه‌های کاه گندم به‌طور عمده از لیگنین و همی‌سلولز تشکیل شده است که پس از پیش‌فرآوری اسیدی و قلیایی تخریب می‌شوند (Zheng *et al.*, 2018). در شکل ۷- الف نمونه کاه گندم بدون پیش‌فرآوری با

طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس

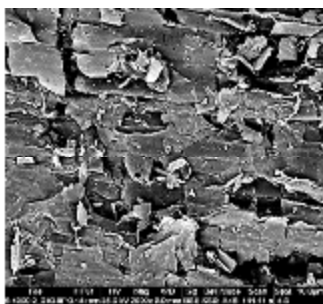
الگو پراش بلورینگی سلولز نمونه WS با سه پیک در زاویه‌های تقریبی 22° ، 28° و 40° از 2θ مشاهده شد که در اثر اعمال پیش‌فرآوری شدت دو پیک 28° و 40° در نمونه WSU کاهش یافت و در نمونه WSUO به ناحیه بی‌شکل تبدیل شد (شکل ۶). مقایسه شاخص بلورینگی سه نمونه (در ورقه ۰۰۲) نشان‌دهنده افزایش بلورینگی سلولز با اعمال پیش‌فرآوری قلیایی (اوره تنها) و ترکیبی ازن - اوره است که دلیل آن را می‌توان افزایش کم مقدار سلولز دو نمونه WSU و WSUO نسبت به WS بیان کرد (جدول ۴). در واقع پیش‌فرآوری به‌طور مؤثری محتویات غیر از سلولز را حذف کرده است. بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که این پدیده عمدتاً به دلیل حذف مقدار مشخصی لیگنین و همی سلولز (مواد بی‌شکل) رخ می‌دهد و لزوماً به‌علت تغییر در ساختار بلوری زیست‌توده نیست (Sharif Paghaleh *et al.*, 2017; Sarlaki *et al.*, 2018, 2020a). نتایج مشابهی در افزایش میزان بلورینگی نمونه‌های چوبی، باکاس نیشکر و کاه گندم بعد از فرآوری با ازن گزارش شده است. مشاهده شد که کاهش لیگنین در افزایش قابلیت دسترسی سلولز برای آنزیم‌ها و عملکرد بالاتر قند نسبت به افزایش بلورینگی سلولز تأثیر بیشتری

سه سطح، محتوای NDF، ADF، ADL و pH کاه گندم با روش سطح پاسخ اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که نرخ جریان ازن / اکسیژن و محتوای رطوبت بیشترین درصد تأثیرگذاری را در انحلال‌سازی الیاف دیواره سلولی در اثر پیش‌فرآوری ترکیبی ازن - اوره داشتند. نتایج بهینه‌سازی کاهش قابل ملاحظه‌ای ($P < 0.01$) در همی‌سلولز، لیگنین، pH و بدون تغییر معنی‌دار ($0.05 > P$) در سلولز با تابع مطلوبیت بالا نسبت به نمونه بدون پیش‌فرآوری نشان داد. نتایج تحقیق حاضر در دو بخش خوراک دامی و سوخت زیستی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به اینکه پیش‌فرآوری پیشنهادی در شرایط دما و فشار محیط، مدت زمان کوتاه و در حالت جامد با رطوبت پایین محصول (بدون نیاز به ایجاد محیط محلول یا رقت) قابل انجام است، مزیت‌های بالایی نسبت به سایر روش‌های پیش‌فرآوری دارد. همچنین با توجه به اینکه فناوری تولید زئراتورهای گاز ازن در کشور ایران در مقیاس‌های بالا اجرا شده است و از طرفی میزان برق مصرفی، تنها هزینه متغیر پیش‌فرآوری ازن‌دهی است، لذا در کشور ایران که هزینه برق تجهیزات صنعتی به نسبت پایین است، می‌توان در زمینه صنعتی کردن این روش پیش‌فرآوری برای زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی و دیگر پسماندهای آلی جامد در یک رویکرد پالایشگاه زیستی و اقتصاد زیستی چرخه‌ای، گام‌های اساسی برداشت.

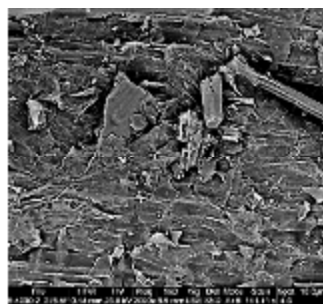
ساختار به هم پیوسته، همگن و با ترک‌های کم مشاهده می‌شود که در اثر آسیاب چکشی - سایشی ایجاد شده است و سطوح صاف نشان‌دهنده پوشش لیگنین روی الیاف است (Phitsuwan *et al.*, 2017). پس از پیش‌فرآوری با اوره تخریب سطح شروع شده است (۷-ب) و در کاربرد همزمان اوره و ازن میزان تخریب ساختار دیواره سلولی، تورم سلولز و تخلخل آن افزایش یافته است و سطح بسیار ناهموار و گسیخته شده است. ازن موارد می‌تواند قطعات لیگنوسلولزی باشند که به راحتی قابل هیدرولیز هستند (۷-ج). تصاویر SEM نمونه‌ها با یافته‌های ترکیبات شیمیایی دیواره سلولی کاه گندم قبل و بعد پیش‌فرآوری مطابقت دارد و نشان می‌دهد که پیش‌فرآوری شبکه همی سلولز-لیگنین سلولز را تخریب کرده و در نتیجه برخی از الیاف خارجی از میان برداشته شده است (جدول ۴). نتایج مشابهی توسط محققان در حمله ازن به سطح گیاهان و تخریب و تشکیل ساختارهای متخلخل به دلیل اکسیداسیون گزارش شده است (Barros *et al.*, 2013; Souza-Corrêa *et al.*, 2013; Travaini *et al.*, 2013).

نتیجه‌گیری

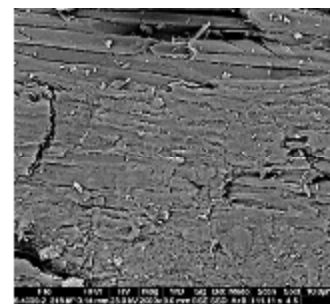
در این پژوهش از پیش‌فرآوری ترکیبی ازن - اوره با در نظر گرفتن اثرات پنج متغیر نرخ تولید ازن، زمان، نرخ جریان ازن / اکسیژن، محتوای رطوبت و اوره هر کدام در



(ج)



(ب)



(الف)

شکل ۷- تصاویر SEM نمونه‌های کاه گندم، (الف) بدون پیش‌فرآوری (WS)، (ب) پیش‌فرآوری شده با اوره (WSU)، (ج) پیش‌فرآوری ترکیبی ازن - اوره (WSUO)

ASAE Standards: ASAE S358.2. (2003). *Moisture measurement-forages*. 607-608.
Baig, K. S., Wu, J., Turcotte, G., & Doan, H. D. (2015). Novel Ozonation Technique to Delignify Wheat Straw for Biofuel Production. *Energy & Environment*, 26(3):

منابع
ASAE Standards: ASAE S319.3. (2006). *Method of determining and expressing fineness of feed materials by sieving*. 601-605.

- Science and Technology Review*, 8(5): 141-165.
- García-Cubero, M. T., González-Benito, G., Indacochea, I., Coca, M., & Bolado, S. (2009). Effect of ozonolysis pretreatment on enzymatic digestibility of wheat and rye straw. *Bioresource Technology*, 100(4): 1608-1613.
- Gebretsadik, G., & Kebede, K. (2011). Feed utilization, digestibility and carcass parameters of Tigray highland sheep fed urea treated wheat straw supplemented with mixtures of wheat bran and noug seed cake, in Southern Tigray, Ethiopia. *Livestock Research for Rural Development*, 23(9).
- Ghasemi, E. (2013). *Improvement in nutritive value of cereal straw (rice, barley and wheat) by chemical and biological methods for use as ruminant feed*. Ph.D. thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. (In Persian).
- Ghorbani, M., Aboonajmi, M., & Ghorbani Javid, M. (2015). Ultrasonic waves a new method for extraction of plant compositions. *Journal of Sound and Vibration*, 4(8): 85-99. (In Persian)
- Ghorbani, M., Aboonajmi, M., Ghorbani Javid, M., & Arabhosseini, A. (2017b). Optimization of ultrasound-assisted extraction of ascorbic acid from fennel (*Foeniculum vulgare*) seeds and evaluation its extracts in free radical scavenging. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 19(4): 209-218.
- Ghorbani, M., Aboonajmi, M., Ghorbani, Javid M., & Arabhosseini, A. (2017a). Effect of ultrasound extraction conditions on yield and antioxidant properties of the fennel seed (*Foeniculum vulgare*) extract. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 14(67): 63-73. (In Persian)
- Ghorbani, M., Kianmehr, M. H., Arabhosseini, A., Asadi Alamouti, A., & Sadeghi, R. (2021a). Ozonolysis pretreatment of wheat straw for enhanced delignification: Applying RSM technique for modeling and optimizing process. *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, 52(1): 37-53. (In Persian)
- Ghorbani, M., Kianmehr, M. H., Arabhosseini, A., Sarlaki, E., Aghashahi, A. R., & Asadi Alamouti, A. (2021b). Improving the nutritive value of wheat straw by applying the combined chemical - oxidation treatment *in-vitro* for use as ruminant feed. *animal production research*, In Press, In Press. (In Persian)
- Ghorbani, M., Kianmehr, M. H., Arabhosseini, A., Sarlaki, E., Asadi Alamouti, A., & Sadeghi, R. (2020a). A review on ozone: properties, effects, reaction mechanisms, 303-318.
- Barros, R., Da, R. O., De., Paredes, R., De, S., Endo, T., Bon, E. P., Da, S., & Lee, S. H. (2013). Association of wet disk milling and ozonolysis as pretreatment for enzymatic saccharification of sugarcane bagasse and straw. *Bioresource Technology*, 136: 288-294.
- Beauchemin, K. A., Ribeiro, G. O., Ran, T., Marami Milani, M. R., Yang, W., Khanaki, H., & McAllister, T. A. (2019). Recombinant fibrolytic feed enzymes and ammonia fibre expansion (AFEX) pretreatment of crop residues to improve fibre degradability in cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 256: 114260.
- Ben-Ghedalia, D., & Miron, J. (1981). The effect of combined chemical and enzyme treatments on the saccharification and *in vitro* digestion rate of wheat straw. *Biotechnology and Bioengineering*, 23(4): 823-831.
- Benko, E. M., Chuhchin, D. G., Malkov, A. V., Vydrina, I. V., Novozhilov, E. V., & Lunin, V. V. (2020). Change in the Crystallinity of Wheat Straw during Ozone Treatment. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 94(6): 1149-1152.
- Binder, A., Pelloni, L., & Fiechter, A. (1980). Delignification of straw with ozone to enhance biodegradability. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 11(1): 1-5.
- Bule, M. V., Gao, A. H., Hiscox, B., & Chen, S. (2013). Structural Modification of Lignin and Characterization of Pretreated Wheat Straw by Ozonation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(16): 3916-3925.
- Casas, A., Palomar, J., Alonso, M. V., Oliet, M., Omar, S., & Rodriguez, F. (2012). Comparison of lignin and cellulose solubilities in ionic liquids by COSMO-RS analysis and experimental validation. *Industrial Crops and Products*, 37(1): 155-163.
- Cui, L., Liu, Z., Chuanling, S., Hui, L., Kang, N., & Zhao, Z. (2012). Influence of steam explosion pretreatment on the composition and structure of wheat straw. *BioResources*. 7(3): 4202-4213.
- Curbelo-Hernández, C., Véliz-Lorenzo, E., & Ameneiros Martínez, G. M. (2019). Alternative pretreatments of rice and tobacco wastes for the production of fermentable sugars. *Revista Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia*, 91: 24-30.
- Das, A., Chanchal, M., & Roy, S. (2015). Pretreatment Methods of Ligno - Cellulosic Biomass: A Review. *Journal of Engineering*

- Molina-Guerrero, C. E., de la Rosa, G., Castillo-Michel, H., Sánchez, A., García-Castañeda, C., Hernández-Rayas, A., & Suarez-Vázquez, S. (2018). Physicochemical Characterization of Wheat Straw during a Continuous Pretreatment Process. *Chemical Engineering & Technology*, 41(7): 1350-1350.
- Panthapulakkal, S., Zereshkian, A., & Sain, M. (2006). Preparation and characterization of wheat straw fibers for reinforcing application in injection molded thermoplastic composites. *Bioresource Technology*, 97(2): 265-272.
- Perrone, O. M., Colombari, F. M., Rossi, J. S., Moretti, M. M. S., Bordignon, S. E., Nunes, C. da C. C., Gomes, E., Boscolo, M., & Da-Silva, R. (2016). Ozonolysis combined with ultrasound as a pretreatment of sugarcane bagasse: Effect on the enzymatic saccharification and the physical and chemical characteristics of the substrate. *Bioresource Technology*, 218: 69-76.
- Phitsuwan, P., Permsriburasuk, C., Baramee, S., Teeravivattanakit, T., & Ratanakhanokchai, K. (2017). Structural analysis of alkaline pretreated rice straw for ethanol production. *International Journal of Polymer Science*, 2017, 4876969.
- Sarlaki, E., & Aboonajmi, M. (2019a). Authentication and identification of food adulterants based on fingerprinting techniques and chemometric tools. *Food Hygiene*, 9, 3(35): 13-36. (In Persian)
- Sarlaki, E., Kianmehr, M. H., & Mashaallah Kermani, A. (2021b). Recent advances and research trends in the eco-friendly lignin-based fertilizers: production technologies, process mechanisms and performance appraisal. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 52(8): 2279-2301. (In Persian)
- Sarlaki, E., Kianmehr, M. H., Ghorbani, M. (2022). Analytical methods for assessing the quality of sugarcane bagasse compost and improving the physicochemical properties toward densification. *Environmental Sciences*, 19(24): 107-130. (In Persian)
- Sarlaki, E., Kianmehr, M. H., Ghorbani, M., & Azadegan, B. (2021a). Optimization of pelletizing process of sugarcane bagasse compost using response surface methodology and evaluation of release rate of nitrogen from pellet. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 52(4): 1117-1133. (In Persian)
- Sarlaki, E., Mashaallah Kermani, A., Kianmehr, M. H., Asefpour Vakilian, K., Hosseinzadeh-Bandbafha, H., Ma, N. L., Aghbashlo, M., Tabatabaei, M., & Lam, S. S. (2021c). Improving sustainability and environmental and safety aspects in food processing. In: *Proceedings of 12th National Congress on Biosystems Engineering and Agricultural Mechanization*. 5-7 February, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran. (In Persian).
- Ghorbani, M., Kianmehr, M. H., Arabhosseini, A., Sarlaki, E., Asadi Alamouti, A., & Sadeghi, R. (2020b). Fundamental of generating, applying and controlling systems of plasma ozone and its applications in the food industry. In: *Proceedings of 12th National Congress on Biosystems Engineering and Agricultural Mechanization*. 5-7 February, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran. (In Persian).
- Ghorbani, M., Kianmehr, M. H., Arabhosseini, A., Sarlaki, E., Asadi Alamouti, A., & Sadeghi, R. (2020c). Ozonolysis: a novel and effective oxidation technique for lignocellulosic biomass pretreatment. In: *Proceedings of 12th National Congress on Biosystems Engineering and Agricultural Mechanization*. 5-7 February, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran. (In Persian).
- Ghorbani, M., Kianmehr, M. H., Sarlaki, E., Ahrari, R., & Azadegan, B. (2021c). Improving sustainability and slow-release property of pelletized agro-biowaste compost fertilizer assisted by biodegradable coating. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 52(6): 1645-1660. (In Persian).
- Knežević, A., Đokić, I., Tosti, T., Popović, S., Milojković-Opsenica, M., & Vukojević, J. (2021). Biological pretreatment of wheat straw: Effect of fungal culturing on enzymatic hydrolysis of carbohydrate polymers. *Research Square*. 1-8.
- Li, X., Ye, J., Chen, J., Yu, J., Ding, M., & Hong, J. (2015). Dissolution of wheat straw with aqueous NaOH/Urea solution. *Fibers and Polymers*, 16(11): 2368-2374.
- Liu, J. X., & Ørskov, E. R. (2000). Cellulase treatment of untreated and steam pre-treated rice straw - effect on *in vitro* fermentation characteristics. *Animal Feed Science and Technology*, 88(3): 189-200.
- Mamleeva, N. A., Abrosimova, G. E., Kharlanov, A. N., & Lunin, V. V. (2013). Transformation of wood during ozonation in the presence of hydrogen peroxide. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 87(7): 1102-1107.
- Mamleeva, N. A., Autlov, S. A., Bazarnova, N. G., & Lunin, V. V. (2009). Delignification of softwood by ozonation. *Pure and Applied Chemistry*, 81(11): 2081-2091.

- Souza-Corrêa, J. A., Ridenti, M. A., Oliveira, C., Araújo, S. R., & Amorim, J. (2013). Decomposition of Lignin from Sugar Cane Bagasse during Ozonation Process Monitored by Optical and Mass Spectrometries. *The Journal of Physical Chemistry B*, 117(11): 3110-3119.
- Sun, R., Tomkinson, J., Mao, F. C., & Sun, X. F. (2001). Physicochemical characterization of lignins from rice straw by hydrogen peroxide treatment. *Journal of Applied Polymer Science*, 79(4): 719-732.
- Sun, Y., & Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, 83(1): 1-11.
- Tajinia, R., Kianmehr, M. H., Sarlaki, E., Sharif Paghaleh, A., & Mirsaedghazi, H. (2020). Extracting humic acids from spend mushroom compost (SMC) by alkaline treatment and membrane ultrafiltration. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 50: 847-861. (In Persian)
- Travaini, R., Martín-Juárez, J., Lorenzo-Hernando, A., & Bolado-Rodríguez, S. (2016). Ozonolysis: An advantageous pretreatment for lignocellulosic biomass revisited. *Bioresource Technology*, 199: 2-12.
- Travaini, R., Otero, M. D. M., Coca, M., Da-Silva, R., & Bolado, S. (2013). Sugarcane bagasse ozonolysis pretreatment: Effect on enzymatic digestibility and inhibitory compound formation. *Bioresource Technology*, 133: 332-339.
- Tripathi, S. K., Bhardwaj, N. K., & Roy Ghatak, H. (2019). Optimization of ozone bleaching conditions for improving wheat straw pulp quality using response surface methodology. *Ozone: Science & Engineering*, 41(2): 137-145.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10): 3583-3597.
- Wu, H., Dai, X., Zhou, S. L., Gan, Y. Y., Xiong, Z. Y., Qin, Y. H., Ma, J., & Yang, L. (2017). Ultrasound-assisted alkaline pretreatment for enhancing the enzymatic hydrolysis of rice straw by using the heat energy dissipated from ultrasonication. *Bioresource Technology*, 241: 70-74.
- Xu, J., Chen, H., Kádár, Z., Thomsen, A. B., Schmidt, J. E., & Peng, H. (2011). Optimization of microwave pretreatment on wheat straw for ethanol production. *Biomass and Bioenergy*, 35(9): 3859-3864.
- Yu, Z., Jameel, H., Chang, H., & Park, S. mitigating environmental impacts of agro-biowaste compost fertilizer by pelletizing-drying. *Environmental Pollution*, 285: 117412.
- Sarlaki, E., Sharif Paghaleh, A., Kianmehr, M. H., & Asefpour Vakilian, K. (2019c). Extraction and purification of humic acids from lignite wastes using alkaline treatment and membrane ultrafiltration. *Journal of Cleaner Production*, 235: 712-723.
- Sarlaki, E., Sharif Paghaleh, A., Kianmehr, M. H., & Asefpour Vakilian, K. (2020a). Chemical, spectral and morphological characterization of humic acids extracted and membrane purified from lignite. *Chemistry and Chemical Technology*, 14(3): 353-361.
- Sarlaki, E., Sharif Paghaleh, A., Kianmehr, M. H., & Asefpour Vakilian, K. (2021d). Valorization of lignite wastes into humic acids: Process optimization, energy efficiency and structural features analysis. *Renewable Energy*, 163: 105-122.
- Sarlaki, E., Sharif Paghaleh, A., Kianmehr, M. H., & Mirsaedghazi, H. (2017). Effect of processing temperature on membrane ultrafiltration of lignite coals-derived humic alkaline extracts, membrane performance and humic acid purity. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 48(4): 475-489. (In Persian)
- Sarlaki, E., Sharif Paghaleh, A., Kianmehr, M. H., & Shakiba, N. (2018). Study of spectral, structural and chemical characteristics of humic acids isolated from coalfield of Iran. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 48(5): 1145-1158. (In Persian)
- Sarlaki, E., Sharif Paghaleh, A., Kianmehr, M. H., Shakiba, N., Asefpour Vakilian, K., & Mirsaedghazi, H. (2020b). Post-treatment of lignite-derived humate alkaline extracts using membrane-based technology for high-purity humic acid production. *Journal of Environmental Science and Technology*, In Press, In Press. (In Persian)
- Sarlaki, E., Sokhandan Toomaj, M., Kianmehr, M. H., S., Sharif Paghaleh, A., & Nikousefat, O. (2019b). Extraction of humic acid from Lignite coals using stirred tank reactors (STRs): Assessment of operating parameters and final product characterization. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 50(5): 1111-1125. (In Persian)
- Sharif Paghaleh, A., Sarlaki, E., Kianmehr, M. H., & Shakiba, N. 2017. Study of spectral, structural and chemical characteristics of humic acids isolated from coalfield of Iran. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 48: 1145-1158. (In Persian)

- (2011). The effect of delignification of forest biomass on enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 102: 9083-9089.
- Zheng, Q., Zhou, T., Wang, Y., Cao, X., Wu, S., Zhao, M., Wang, H., Xu, M., Zheng, B., Zheng, J., & Guan, X. (2018). Pretreatment of wheat straw leads to structural changes and improved enzymatic hydrolysis. *Scientific Reports*, 8(1): 1321.

