

## Improvement of Biogas and Ethanol Production from Safflower Straw Using Sodium Hydroxide Pretreatment

**Seyed Sajad Hashemi**

M.Sc. of Chemical Engineering, Isfahan University of Technology, Iran, sajadhashemi124@chmail.ir

**Keikhosro Karimi\***

Associate Professor of Chemical Engineering, Isfahan University of Technology, Iran, karimi@cc.iut.ac.ir

**Mohammad Reza Sabzalian**

Associate Professor of Genetics and Plant Breeding, Isfahan University of Technology, Iran, sabzalian@cc.iut.ac.ir

### Abstract

**Introduction:** Safflower straw is one of the agricultural residues that currently have no specific use. So, it can be used as a cheap source for biofuel production.

**Materials and methods:** Alkaline pretreatment with NaOH was used to improve enzymatic hydrolysis, ethanol, and biogas production from safflower straw. The pretreatment was performed with 8% (w/v) NaOH solution at two different temperatures (0 and 100 °C) for 10-60 min. The liquid fraction of the pretreatment was subjected to anaerobic digestion for methane production. Solid fraction obtained from the pretreatments was used for bioethanol and biogas production in a parallel process. Therefore, two routes were followed for energy production from safflower straw: (1) ethanol production from solid fraction (2) biogas production from liquid fraction. In order to optimize the production of biofuels and compare different pretreatment conditions, the gasoline equivalents were calculated based on one tone of safflower straw after all pretreatment conditions. Statistical validation of the results was carried out using Minitab 16 software.

**Results:** The highest glucose and ethanol production yields were obtained after the pretreatment at 100°C for 60 min. The glucose yield from untreated straw was only 20.6% and improved to 84.5%, whereas the corresponding ethanol yield was improved from 10.8% to 83.2%. The best improvement in methane production from solid fraction was achieved by pretreatment at 0 °C for 60 min, and resulted in 191.4 ml/g VS which was 99.6% higher than methane yield obtained from untreated straw. The highest gasoline equivalent was 124.9 L obtained after pretreatment at 0 °C for 60 min.

**Discussion and conclusion:** Enzymatic hydrolysis and ethanol yields from the safflower straw were improved more by the pretreatment at high temperature. However, low temperature is desirable for methane production.

**Key words:** Alkaline pretreatment, Biogas, Ethanol, Safflower straw, NaOH, Equivalent gasoline

---

\* Corresponding author

**Received:** October 10, 2016/ **Accepted:** January 4, 2017

فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها  
سال ششم، شماره ۲۲، تابستان ۱۳۹۶، صفحه ۲۷-۴۳  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۱۵

## بهبود تولید اتانول و بیوگاز از کاه گلرنگ با استفاده از فرآوری با سود سوزآور

**سید سجاد هاشمی:** دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، sajadhashemi124@chmail.ir  
**کیخسرو کریمی\*:** دانشیار دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، karimi@cc.iut.ac.ir  
**محمدرضا سبزیان:** دانشیار ژنتیک و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، sabzalian@cc.iut.ac.ir

### چکیده

**مقدمه:** کاه گلرنگ یکی از ضایعات کشاورزی است که استفاده مشخصی از آن نمی‌شود و می‌تواند به‌عنوان منبعی ارزان قیمت برای تولید سوخت‌های زیستی استفاده شود.

**مواد و روش‌ها:** به‌منظور بهبود بازده تولید بیوگاز و اتانول، پیش‌فرآوری قلبایی با سود بر کاه گلرنگ انجام گرفت. پیش‌فرآوری با سود ۸ درصد در دو دمای مختلف (۰ و ۱۰۰ درجه سانتیگراد) و زمان‌های ۶۰-۱۰ دقیقه انجام گرفت. به‌منظور بررسی اثر پیش‌فرآوری بر بازده گلوکز، نمونه‌های جامد به‌روش آنزیمی هیدرولیز شد. به‌منظور تولید متان، مایع حاصل از پیش‌فرآوری تحت فرآیند هضم بی‌هوازی قرار گرفت. از بخش جامد حاصل از پیش‌فرآوری نیز به‌صورت جداگانه برای تولید اتانول و بیوگاز استفاده شد. به‌منظور بهینه‌کردن تولید سوخت و مقایسه بهتر بین شرایط مختلف، بنزین معادل تولیدشده از یک تن کاه محاسبه شد. تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16 انجام شد.

**نتایج:** بیشترین بازده تولید اتانول و گلوکز پس از پیش‌فرآوری در دمای ۱۰۰ درجه و زمان ۶۰ دقیقه به دست آمد. بازده گلوکز از کاه پیش‌فرآوری نشده تنها ۲۰/۶ درصد بود و با پیش‌فرآوری قلبایی در بهترین حالت به ۸۴/۵ درصد افزایش یافت. همچنین بازده اتانول در بهترین حالت از به ۸۳/۲ درصد رسید؛ در حالی که برای نمونه بدون پیش‌فرآوری ۱۰/۸ درصد بود. بیشترین بهبود در تولید متان از بخش جامد پس از پیش‌فرآوری در دمای صفر درجه و زمان ۶۰ دقیقه حاصل شد و به میزان ۱۹۱/۴ میلی‌لیتر به‌ازای هر گرم جامد فرار رسید که نسبت به نمونه خام افزایش ۹۹/۶ درصد را نشان می‌دهد. بیشترین میزان بنزین معادل تولیدشده به‌حجم ۱۲۴/۹ لیتر، بعد از پیش‌فرآوری در دمای صفر درجه و زمان ۶۰ دقیقه به دست آمد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** پیش‌فرآوری در دمای زیاد به‌شکل مؤثرتری بازده هیدرولیز آنزیمی و تولید اتانول را بهبود داد. در حالی که برای تولید بیوگاز دمای کم مؤثرتر بود.

**واژه‌های کلیدی:** پیش‌فرآوری قلبایی، بیوگاز، اتانول، کاه گلرنگ، سدیم‌هیدروکسید و بنزین معادل

\* نویسنده مسئول مکاتبات

## مقدمه

در طی دهه‌های اخیر با افزایش جمعیت و صنعتی شدن جوامع انسانی، تقاضای جهانی برای سوخت‌های فسیلی به سرعت در حال افزایش است. این سوخت‌ها منابع محدودی دارند و پیش‌بینی‌ها نشان می‌دهد که با توجه به روند مصرف کنونی، نفت خام، زغال سنگ و گاز طبیعی به ترتیب تا ۴۵، ۶۰ و ۱۵۰ سال دیگر به اتمام برسند. از سوی دیگر مصرف بی‌رویه این سوخت‌ها حجم عظیمی از گازهای گلخانه‌ای را وارد جو زمین می‌کند که تغییرات خطرناک آب‌وهوایی و زیست‌محیطی همچون بالا آمدن سطح آب دریاها، ذوب شدن یخچال‌ها و آلودگی هوا را به دنبال دارد (۱-۳). استفاده از منابع انرژی تجدیدپذیر و پاک همچون بیوگاز<sup>۱</sup> و اتانول می‌تواند کلید حل این مشکلات باشد. امروزه اتانول عمدتاً از محصولات کشاورزی قندی (مانند نیشکر و چغندر قند) و نشاسته‌ای (گندم و ذرت) تولید می‌شود که تضاد بین سوخت و غذا را موجب شده و انتقادات بسیاری را برانگیخته است؛ به همین دلیل، نسل دوم تولید سوخت‌های زیستی از محصولات فراوان و ارزان قیمت لیگنوسلولزی<sup>۲</sup> مطرح شده است (۴). سالانه صدها میلیون تن از ضایعات لیگنوسلولزی برجای مانده از محصولات کشاورزی مانند کاه گندم و کاه برنج دور ریخته می‌شود. ترکیبات لیگنوسلولزی معمولاً از سه بخش عمده سلولز<sup>۳</sup> (۵۰-۳۵ درصد)، همی سلولز<sup>۴</sup> (۳۵-۲۵ درصد) و لیگنین<sup>۵</sup> (۲۰-۱۵ درصد) تشکیل می‌شوند (۵). سلولز و همی سلولز را که پلیمر قندهایی همچون گلوکز و زایلوز هستند، می‌توان با استفاده از فرآیندهای هضم بی‌هوازی<sup>۶</sup> و تخمیر و هیدرولیز هم‌زمان<sup>۷</sup> (SSF) به بیوگاز و اتانول تبدیل کرد. با این حال، این مواد به دلیل ساختار پیچیده،

سخت، بلورینه و حفاظت سلولز توسط لیگنین و همی سلولز، در برابر هیدرولیز آنزیمی<sup>۸</sup> و میکروبی مقاوم هستند. بنابراین استفاده از فرآیند پیش‌فرآوری مناسب پیش از فرآیندهای تولید اتانول و بیوگاز ضروری است. هدف از پیش‌فرآوری، باز کردن این ساختار پیچیده، کاهش بلورینگی<sup>۹</sup> سلولز و حذف موانع فیزیکی همچون لیگنین و همی سلولز به منظور افزایش دسترس‌پذیری میکروبی و آنزیمی به سلولز است (۶). روش‌های مختلف پیش‌فرآوری مانند فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی، فیزیکی-شیمیایی و میکروبی به منظور بهبود تولید بیوگاز و اتانول از مواد لیگنوسلولزی توسعه یافته‌اند. پیش‌فرآوری قلیایی با استفاده از سود یکی از کارآمدترین روش‌ها به منظور بهبود تولید بیوگاز و اتانول از ضایعات لیگنوسلولزی کشاورزی و جنگلی است (۷).

پیش‌فرآوری با سود به دو صورت غلظت زیاد و کم انجام می‌پذیرد. پیش‌فرآوری با غلظت کم (۴-۵ درصد) در دما و فشار زیادی انجام می‌پذیرد. در این شرایط بخش عمده‌ای از لیگنین و همی سلولز حذف می‌شود؛ اما بازیابی سود معمولاً امکان‌پذیر نیست. پیش‌فرآوری با غلظت زیاد سود (۲۰-۶ درصد) در فشار کم و دمای محیط انجام می‌گیرد. اصلی‌ترین نتیجه این شرایط از هم گسیختگی و بازتولید سلولز است و می‌توان مقدار زیادی از سود را بازیابی کرد (۷، ۸). پیش‌فرآوری با سود، منجر به شکستن اتصالات استری<sup>۱۰</sup> بین لیگنین، سلولز و همی سلولز می‌شود که حذف یا اصلاح لیگنین و افزایش تخلخل ماده لیگنوسلولزی را در پی دارد (۶).

پس از پایان پیش‌فرآوری، فازهای مایع و جامد تولید می‌شود که از یکدیگر جدا می‌شوند. بر اثر

در شهرستان نجف آباد تهیه شد. سپس ضایعات جمع آوری شده گیاه به مدت سه روز در سایه خشک و در ادامه آسیاب شدند. کاه‌های آسیاب شده توسط مش‌های ۲۰ و ۸۰ الک شدند و از کیسه‌های پلاستیکی مخصوص برای نگهداری آنها در دمای محیط استفاده شد.

**عملیات پیش‌فرآوری:** پیش‌فرآوری قلیایی در دو دمای صفر و ۱۰۰ درجه سانتیگراد و برای زمان‌های مختلف ۱۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه انجام شد. برای پیش‌فرآوری در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد از حمام روغن استفاده شد. ابتدا حمام روغن در دمای موردنظر تنظیم شد و دمای آن در تمام مدت آزمایش با استفاده از یک دماسنج الکلی اندازه‌گیری می‌شد. برای پیش‌فرآوری در دمای صفر درجه سانتیگراد از مخلوط آب و یخ استفاده شد. نسبت ۱ به ۲۰ برای افزودن سوبسترا به محلول سود ۸ درصد وزنی - حجمی به کار رفت؛ بدین صورت که ابتدا ۹۵ گرم از محلول سود در یک ظرف پلاستیکی (ظروف شیشه‌ای مخصوص با درهای پلاستیکی آبی‌رنگ مقاوم به حرارت) ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و در آن بسته شد و در حمام قرار گرفت. پس از اینکه محلول سود به دمای موردنظر رسید مقدار ۵ گرم بر مبنای وزن خشک سوبسترا به ظرف درآبی حاوی محلول سود اضافه شد. در طول عملیات پیش‌فرآوری، نمونه‌ها هر ۵ دقیقه یک بار بدون خارج شدن از حمام هم زده شد. با اتمام زمان پیش‌فرآوری، مخلوط حاصل سانتریفیوژ شد و بخش مایع و جامد حاصل از پیش‌فرآوری از یکدیگر جدا شدند. در مرحله آخر پس از صاف کردن نمونه سانتریفیوژ شده، جامد باقیمانده بر کاغذ صافی با آب مقطر و با استفاده از پمپ خلأ تا زمان رسیدن به pH خنثی و از بین رفتن حالت قلیایی، شستشو داده شد.

پیش‌فرآوری، بخش زیادی از کربوهیدرات‌ها وارد فاز مایع می‌شوند. بخش مایع حاصل از پیش‌فرآوری حاوی کربوهیدرات‌های محلول مونومری یا کوتاه‌زنجیر<sup>۱۱</sup> است که عمدتاً ناشی از انحلال همی سلولز در فاز مایع است. گونه‌های صنعتی میکروارگانیزم‌های<sup>۱۲</sup> تخمیرکننده الکلی مانند ساکارمایسس سروسیه<sup>۱۳</sup> قادر به تولید اتانول از قندهای پنج‌کربنه (مانند زایلوز) موجود در فاز مایع پیش‌فرآوری نیستند. بنابراین تعداد محدودی از پژوهش‌ها، تولید بیواتانول و بیوگاز از فاز مایع تولیدشده در پیش‌فرآوری را بررسی کرده‌اند. در این پژوهش تولید بیوگاز از فاز مایع حاصل از پیش‌فرآوری بررسی شد (۹ و ۱۰).

با توجه به تحقیقات انجام گرفته تاکنون تحقیقی در زمینه تولید سوخت‌های زیستی از ضایعات لیگنوسلولزی برجای مانده از گیاه گلرنگ انجام نگرفته است. مهم‌ترین هدف این پژوهش بهینه‌سازی شرایط پیش‌فرآوری قلیایی به منظور بیشینه‌سازی تولید سوخت زیستی از کاه گلرنگ است. از بخش جامد حاصل از پیش‌فرآوری هم برای تولید بیوگاز و هم برای تولید اتانول استفاده شد تا از نظر تولید سوخت معادل با یکدیگر مقایسه شوند. همچنین به منظور تولید بیوگاز، بخش مایع حاصل از پیش‌فرآوری تحت فرآیند هضم بی‌هوازی قرار گرفت. در پایان، مقدار کل انرژی تولیدشده از یک تن کاه گلرنگ اولیه بر اساس حجم بنزین معادل محاسبه شد و بهترین شرایط پیش‌فرآوری مشخص شد. علاوه بر این، آثار پیش‌فرآوری بر ساختار کاه گلرنگ بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

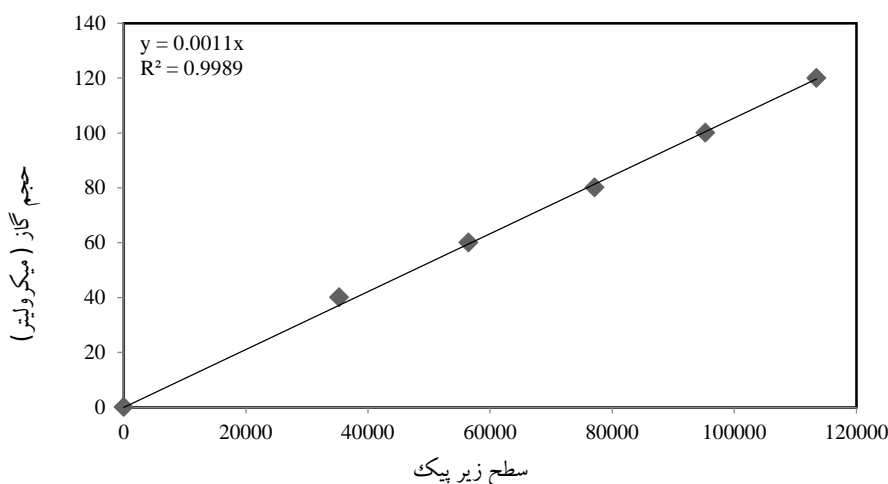
**کاه گلرنگ:** گیاه گلرنگ موردنیاز برای این پژوهش از مزرعه لورک دانشگاه صنعتی اصفهان واقع

شرایط بی‌هوازی<sup>۱۷</sup> ایجاد شد. ۲۰ میلی‌لیتر از مخلوط میکروبی و ۵ میلی‌لیتر آب مقطر بدون اضافه کردن ماده مغذی به عنوان شاهد استفاده شد تا میزان متان تولید شده توسط مخلوط میکروبی بدون خوراک دهی محاسبه و از میزان متان تولید شده توسط سایر نمونه‌ها کم شود. در پایان، تمامی بطری‌های بی‌هوازی شده برای تولید بیوگاز درون گرمخانه<sup>۱۸</sup> با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند تا در طول ۴۵ روز با نمونه‌گیری‌های دوره‌ای (۱۵ روز اول هر سه روز یک بار و در ادامه هر ۵ روز یک بار) میزان و ترکیب بیوگاز تولید شده اندازه‌گیری شود.

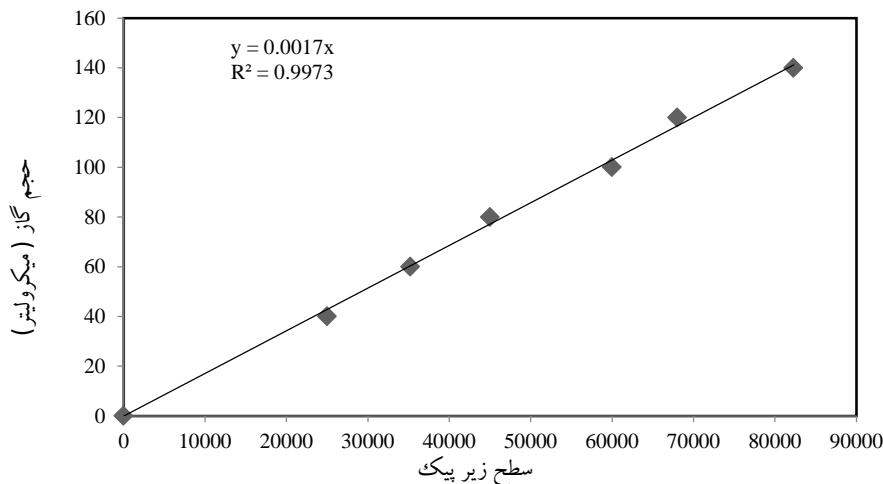
نمونه‌گیری با استفاده از سرنگ ۱۰۰ میکرولیتری قفل‌کننده فشار انجام گرفت و هر بار ۱۰۰ میکرولیتر نمونه بیوگاز گرفته شده به دستگاه GC تزریق شد تا ترکیب درصد و حجم متان و دی‌اکسید کربن موجود در آن مشخص شود. برای تهیه نمودار کالیبراسیون، حجم‌های مشخصی از متان و دی‌اکسید کربن خالص به دستگاه تزریق شد و نمودارهای استاندارد سطح برحسب حجم برای این دو گاز رسم شد که در شکل‌های ۱ و ۲ این نمودارها نشان داده شده است.

نمونه‌های جامد با استفاده از دستگاه خشک‌کن تحت انجماد<sup>۱۴</sup> خشک شدند و تا زمان استفاده درون کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار نگهداری شدند. نمونه‌های مایع حاصل از پیش‌فرآوری نیز با استفاده از اسیدفسفریک تا pH ۷ خنثی شدند و تا زمان استفاده درون فریزر در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد زیر صفر قرار داده شدند.

**آزمایش تولید بیوگاز:** در این پژوهش از سیستم ناپوسته به روش هانسن<sup>۱۵</sup> (۱۱) برای انجام آزمایش‌های بیوگاز استفاده شد. بطری‌های شیشه‌ای تیره‌رنگ ۱۱۸ میلی‌لیتری به عنوان راکتور ناپوسته استفاده شدند. مخلوط میکروبی<sup>۱۶</sup> از بخش لجن بی‌هوازی تصفیه‌خانه آب و فاضلاب شمال اصفهان با دمای عملیاتی ۳۷ درجه سانتیگراد تهیه شد. مقدار ۰/۲۵ گرم جامد فرار (VS) از نمونه‌های جامد پیش‌فرآوری شده و پیش‌فرآوری نشده همراه ۲۰ میلی‌لیتر مخلوط میکروبی و ۵ میلی‌لیتر آب به‌طور جداگانه درون بطری‌ها ریخته شد. برای مایعات حاصل از پیش‌فرآوری نیز به صورت مشابه عمل شد با این تفاوت که به آنها ۵ میلی‌لیتر آب اضافه نشد. در تمام بطری‌ها با درپوش‌های پلاستیکی و آلومینیومی بسته شد و با تزریق گاز نیتروژن درون بطری‌ها به مدت ۲ دقیقه



شکل ۱- نمونه‌ای از خط کالیبراسیون متان.



شکل ۲- نمونه‌ای از خط کالیبراسیون دی‌اکسید کربن.

رابطه به روابط ۱ و ۲ به دست آورد. حجم دی‌اکسید کربن تولید شده نیز به‌طور مشابه قابل محاسبه است.

حال با استفاده از معادلات خط به دست آمده از نمودار نمونه‌های استاندارد، محاسبه سطح زیر منحنی دی‌اکسید کربن و متان نمونه‌های مجهول و دانستن فضای خالی درون بطری‌ها می‌توان حجم متان تولید شده در بطری

$$(1) \quad \text{حجم متان موجود در سرنگ } (\mu\text{L}) = (\text{اختلاف سطح پیک‌ها}) \times 0.0011$$

$$(2) \quad \text{حجم خالی بطری } (\mu\text{L}) \times \frac{\text{حجم متان موجود در سرنگ } (\mu\text{L})}{100 \mu\text{L}} = \text{حجم متان موجود در راکتور } (\mu\text{L})$$

استفاده شد. فعالیت این آنزیم‌ها با استفاده از روش آدنی و باکر<sup>۲۰</sup> (۱۲) به ترتیب برابر ۱۲۵ FPU/ml و ۲۳ FPU/ml اندازه‌گیری شد. آنزیم‌های CTec2 و HTec2 با نسبت حجمی ۹ به ۱ با یکدیگر مخلوط شدند و مورد استفاده قرار گرفتند. فعالیت مخلوط آنزیمی حاصل، ۱۱۴/۸ FPU/ml محاسبه شد. در ادامه ۱۰ FPU (۸۷ میکرولیتر) از مخلوط آنزیمی به نمونه‌ها اضافه شد و درپوش آلومینیومی و پلاستیکی بر ظروف قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت درون گرماخانه همزن‌دار با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد و سرعت ۱۲۰ دور بر دقیقه قرار گرفتند. به منظور اندازه‌گیری میزان قندهای آزاد شده در بازه‌های زمانی مشخص نمونه‌گیری انجام گرفت.

**هیدرولیز آنزیمی:** برای آماده‌سازی محیط هیدرولیز با غلظت ۵۰ گرم بر لیتر، ۱ گرم از سویسترا بر مبنای وزن خشک (TS) به ۲۰ میلی‌لیتر بافر سدیم سترات ۰/۰۵ مولار با pH ۴/۸ در ظرف شیشه‌ای ۱۱۸ میلی‌لیتری اضافه شد. برای جلوگیری از رشد میکروب‌ها در هیدرولیز آنزیمی غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر سدیم آزید به محلول بافر اضافه شد. در ادامه ظروف شیشه‌ای حاوی سویسترا و محلول بافر توسط کلاهک پنبه‌ای پوشانده شده و برای استریل کردن محیط هیدرولیز به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد درون دستگاه اتوکلاو قرار داده شدند. پس از اتمام زمان اتوکلاو، نمونه‌ها به زیر هود میکروبی منتقل و سرد شدند. در این پژوهش از آنزیم‌های Cellic® CTec2 و Cellic® HTec2 تولید شده در شرکت نوزیم<sup>۱۹</sup> دانمارک

**ظرفیت جذب آب<sup>۲۳</sup>:** برای تعیین میزان آب جذب شده توسط نمونه‌های پیش‌فرآوری شده و پیش‌فرآوری نشده، مطابق روش شفیع و همکاران<sup>۲۴</sup> (۱۴) ۰/۱ گرم بر مبنای وزن خشک از هر نمونه درون یک کیسه کوچک از الیاف بافته نشده قرار داده شد و برای جلوگیری از خروج سوبسترا، دهانه کیسه با نخ پلاستیکی نازک بسته شد. در ادامه نمونه‌ها به مدت یک ساعت درون آب غوطه‌ور شدند، پس از آن کیسه‌ها خارج و وزن آنها بدون آبگیری اندازه‌گیری شد. ظرفیت جذب آب از رابطه<sup>۳</sup> محاسبه شد. که در این فرمول  $W_1$  وزن اولیه نمونه کاه خشک و  $W_2$  وزن نمونه پس از جذب آب است.

$$(۳) \quad \text{ظرفیت جذب آب} = \frac{W_2 - W_1}{W_1}$$

**روش‌های تجزیه‌ای:** به منظور اندازه‌گیری میزان جامدات کل<sup>۲۵</sup> و جامدات فرار<sup>۲۶</sup> نمونه‌های مایع، جامد و مخلوط میکروبی، از روش‌هایی که اسلوپتر<sup>۲۷</sup> و همکاران (۱۵) کرده‌اند استفاده شد. به منظور بررسی اثر پیش‌فرآوری‌های سدیم‌هیدروکسید بر ترکیب درصد کاه گلرنگ و وجود هیدروکربن‌های مختلف در نمونه‌های پیش‌فرآوری شده و پیش‌فرآوری نشده از یک روش استاندارد به نام تعیین لیگنین و کربوهیدرات‌های ساختاری زیست توده<sup>۲۸</sup> استفاده شد (۱۶).

به منظور بررسی اثر پیش‌فرآوری‌های قلیایی بر ساختار کاه گلرنگ، از آنالیز FTIR (طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز<sup>۲۹</sup>) برای نمونه‌های بهینه بیوگاز و اتانول استفاده شد. از دستگاه مدل Bruker Tensor 27 ساخت کشور آمریکا برای آنالیز FTIR استفاده شد. میزان جذب در اعداد موج ۱۴۳۰ و ۸۹۶ بر سانتیمتر به ترتیب نشان‌دهنده سلولز نوع یک و سلولز نوع دو هستند و نسبت بین جذب

**تخمیر و هیدرولیز هم‌زمان (SSF):** آزمایش SSF در این پژوهش، مشابه روش کریمی<sup>۳۱</sup> و همکاران (۱۳) در تولید اتانول از کاه برنج انجام گرفت. در این آزمایش از قدرت آنزیمی FPU ۱۰ سلولاز به‌ازای یک گرم سوبسترا بر مبنای وزن خشک و غلظت ۵۰ گرم برلیتر سوبسترا استفاده شد. برای انجام آزمایش SSF، یک گرم از هر نمونه پیش‌فرآوری شده و پیش‌فرآوری نشده به همراه ۲۰ میلی‌لیتر بافر سدیم‌سیترات و غلظت‌های مشخصی از مواد مغذی (عصاره مخمر ۵ گرم برلیتر،  $(NH_4)_2SO_4$  ۷/۵ گرم برلیتر،  $K_2HPO_4$  ۳/۵ گرم برلیتر،  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ۰/۷۵ گرم برلیتر،  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  ۱ گرم برلیتر)، درون ظروف شیشه‌ای ۱۱۸ میلی‌لیتری ریخته شد.

مشابه هیدرولیز آنزیمی، نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد درون اتوکلاو استریل و زیر هود میکروبی خنک شدند. در این تحقیق از مخمر ساکارومایسیس سرویسه تهیه شده از کلکسیون میکروبی دانشگاه گوتنبرگ سوئد با شماره<sup>۳۲</sup> CCUG 53310 برای تخمیر و تولید اتانول استفاده شد. مخمر ساکارومایسیس سرویسه تنها قادر است قندهای ۶ کربنه مانند گلوکز را مصرف کند. در ادامه ۸۷ میکرولیتر از مخلوط آنزیمی و غلظت ۱ گرم برلیتر مخمر ساکارومایسیس سرویسه به آنها اضافه شد. نمونه‌ها حدود ۲ دقیقه با گاز نیتروژن بی‌هوازی شدند و در پایان به مدت ۷۲ ساعت، درون گرماخانه همزن‌دار با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و چرخش ۱۲۰ دور بر دقیقه قرار گرفتند. در فواصل زمانی ۶ ساعت، گاز تولید شده در فرایند تخمیر به وسیله سرنگ استریل خارج شد تا محیط اسیدی نشود. برای تعیین روند تولید اتانول و مصرف گلوکز، در دو زمان ۲۴ و ۷۲ ساعت نمونه‌گیری انجام گرفت.

که مقادیر عددی این ستون دارای اختلاف معنی دار با مقادیر سایر ستون‌ها است.

### نتایج

#### اثر پیش‌فرآوری بر ساختار کاه گلرنگ: ترکیب

شیمیایی نمونه‌های پیش‌فرآوری شده و پیش‌فرآوری نشده کاه گلرنگ به همراه درصد بازیابی جامد در جدول ۱ ارائه شده است. کاه گلرنگ عمدتاً از گلوکان، زایلان و لیگنین تشکیل شده است و میزان خاکستر بسیار ناچیز است. درصد بازیابی جامد در شرایط مختلف پیش‌فرآوری در محدوده ۶۴/۹-۴۳/۷ درصد قرار دارد. به‌طور کلی سخت شدن شرایط پیش‌فرآوری (افزایش دما و زمان)، درصد بازیابی جامد را کاهش داده است. البته افزایش دما تأثیر بیشتری بر کاهش درصد بازیابی جامد دارد. درصد بازیابی جامد پس از پیش‌فرآوری در زمان ۳۰ دقیقه در ماهای صفر و ۱۰۰ درجه سانتیگراد به ترتیب ۶۴/۷ درصد و ۴۵/۴ درصد گزارش شده است که به‌خوبی اثر افزایش دمای پیش‌فرآوری بر کاهش درصد جامد باقیمانده را نشان می‌دهد. همهٔ پیش‌فرآوری‌ها مقادیر لیگنین را بین ۲۹/۴-۱۱/۹ درصد کاهش دادند. با افزایش دما از صفر به ۱۰۰ درجه سانتیگراد، حذف لیگنین تشدید شده است. علاوه بر این، افزایش زمان پیش‌فرآوری نیز در حذف لیگنین مؤثر است. پیش‌فرآوری با سود منجر به افزایش میزان گلوکان موجود در نمونه‌ها شده است. در حالی که میزان گلوکان برای نمونهٔ پیش‌فرآوری نشده ۳۵/۵ درصد بود، برای نمونه‌های پیش‌فرآوری شده بین ۵۳/۴ تا ۴۳/۳ درصد متغیر است. پیش‌فرآوری در دمای صفر درجه سانتیگراد تأثیر چندانی بر میزان زایلان نداشت؛ در حالی که در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد بخش عمده‌ای از زایلان حذف شد.

در این دو عدد موج (A1430/A896) به‌عنوان شاخص بلورینگی<sup>۳۰</sup> تعریف می‌شود (۱۷). این شاخص نشان می‌دهد که پیش‌فرآوری انجام‌شده تا چه حد می‌تواند سلولز نوع یک را به سلولز نوع دو تبدیل کند. نسبت مقدار جذب A1375/A2900 به‌عنوان شاخص بلورینگی کل<sup>۳۱</sup> شناخته می‌شود (۱۷).

به‌منظور آنالیز بیوگاز تولیدی و تعیین درصد متان و دی‌اکسید کربن یک دستگاه کروماتوگرافی گازی<sup>۳۲</sup> مجهز به آشکارساز TCD با ستون Propack Q به کار برده شد. گاز خالص نیتروژن با دبی ۴۰ میلی‌لیتر بر دقیقه به‌عنوان گاز حامل دستگاه کروماتوگرافی استفاده شد. این دستگاه از مدل Sp-3420A تولیدی شرکت Beiging Beifen Ruili Analytical Instrument و ساخت کشور چین است.

از دستگاه کروماتوگرافی مایع با بازدهی زیاد<sup>۳۳</sup> (Agilent Technology, 1260 infinity, USA) در آزمایش‌های هیدرولیز آنزیمی، تخمیر و هیدرولیز هم‌زمان و آنالیز تعیین لیگنین و کربوهیدرات‌های ساختاری زیست‌توده، برای تعیین میزان غلظت قند و اتانول استفاده شد. این دستگاه مجهز به آشکارسازهای UV، RI<sup>۳۴</sup> و UV/VIS است. برای تعیین غلظت قندهای مختلف از قبیل گلوکز<sup>۳۵</sup>، زایلوز<sup>۳۶</sup>، گالاکتوز، آرابینوز و مانوز از ستون Aminex HPX-87P با دبی ۰/۶ میلی‌لیتر بر دقیقه آب بدون یون و در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد و برای تعیین میزان اتانول تولیدی از ستون Aminex HPX-87H در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و با دبی ۰/۶ میلی‌لیتر بر دقیقه اسیدسولفوریک ۵ میلی‌مولار استفاده شد.

**تحلیل آماری:** تحلیل آماری داده‌های مربوط به تولید بیوگاز، هیدرولیز آنزیمی و ظرفیت جذب آب با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16 و گزینهٔ مربوط به آنالیز واریانس با روش Tukey و با اطمینان ۹۵ درصد انجام شد ( $p < 0.05$ ). حروف لاتین متفاوت مربوط به هر نمودار بیانگر این است

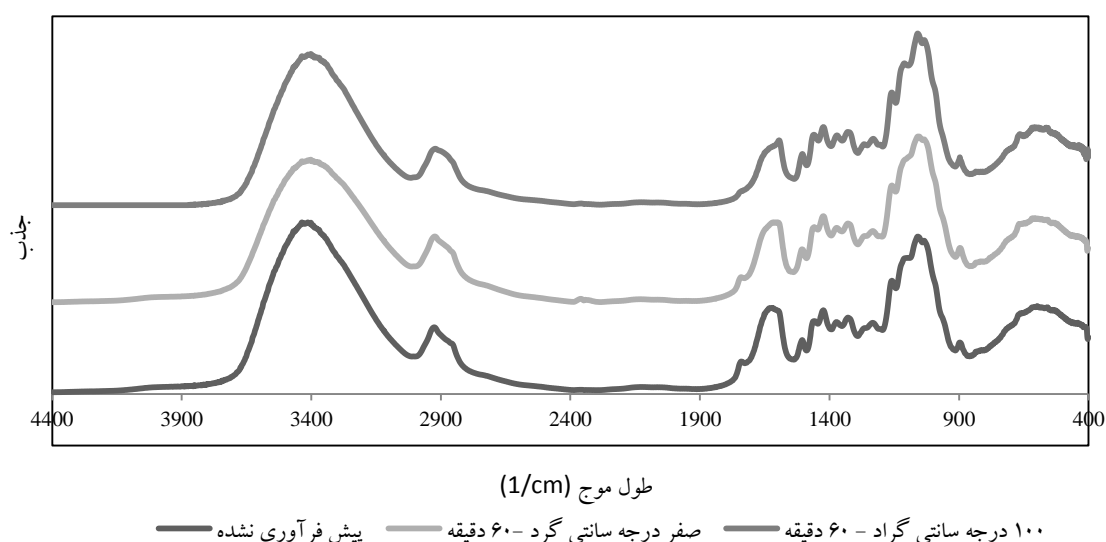


جدول ۱- میزان کربوهیدرات‌ها و لیگنین موجود در ساختار سوبستراهای پیش‌فرآوری‌شده و پیش‌فرآوری‌نشده.

| بازیابی جامد (%) | زایلان (%) | گلوکان (%) | لیگنین (%) | خاکستر (%) | شرایط پیش‌فرآوری |              |
|------------------|------------|------------|------------|------------|------------------|--------------|
|                  |            |            |            |            | دما (°C)         | زمان (دقیقه) |
| ۶۴/۹             | ۲۰/۴±۰/۵   | ۴۳/۳±۰/۹   | ۱۹/۲±۰/۶   | ۰/۵۱       | ۱۰               | ۰            |
| ۶۴/۷             | ۲۰/۱±۰/۶   | ۴۵/۸±۰/۶   | ۱۹/۰±۰/۹   | ۰/۶۹       | ۳۰               | ۰            |
| ۶۳/۲             | ۱۹/۴±۰/۵   | ۴۷/۵±۰/۴   | ۱۸/۳±۰/۵   | ۰/۵۱       | ۶۰               | ۰            |
| ۴۷/۷             | ۱۴/۴±۰/۹   | ۵۲/۳±۱/۱   | ۱۶/۹±۰/۸   | ۰/۶۳       | ۱۰               | ۱۰۰          |
| ۴۵/۴             | ۱۳/۷±۱/۰   | ۵۳/۴±۰/۹   | ۱۶/۱±۱/۱   | ۰/۶۲       | ۳۰               | ۱۰۰          |
| ۴۳/۷             | ۱۳/۱±۰/۴   | ۵۱/۸±۱/۰   | ۱۵/۴±۰/۴   | ۰/۶۷       | ۶۰               | ۱۰۰          |
| -                | ۲۰/۱±۰/۵   | ۳۵/۵±۰/۷   | ۲۱/۸±۱/۰   | ۰/۵۴       | پیش‌فرآوری‌نشده  |              |

۱۰۰ درجه سانتیگراد به ترتیب ۱/۵۶، ۱/۴۳ و ۱/۵۴ به دست آمد. این مقادیر برای شاخص بلورینگی کل نیز به ترتیب ۱/۲۱، ۱/۲۰ و ۱/۱۸ اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان می‌دهد که پیش‌فرآوری قلیایی هر دو شاخص بلورینگی را کاهش داده است که می‌تواند یکی از دلایل مهم در بهبود بازده هیدرولیز آنزیمی و به دنبال آن افزایش بازده تولید اتانول باشد.

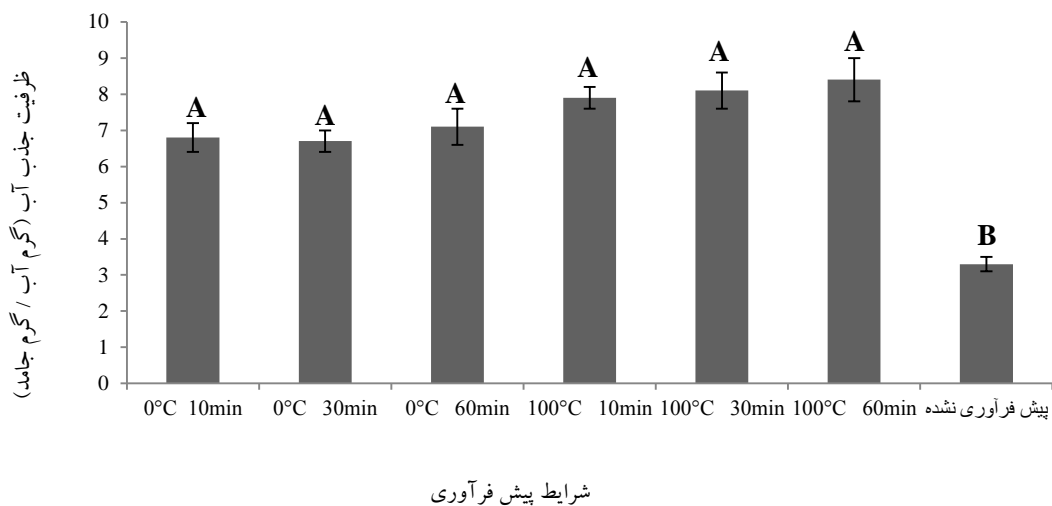
**نتایج حاصل از آنالیز FTIR:** برای بررسی میزان بلورینگی نمونه‌های پیش‌فرآوری‌شده کاه گلرنگ و مقایسه با نمونه پیش‌فرآوری‌نشده، آنالیز FTIR بر آنها انجام شد. نمودار جذب برحسب عدد طول موج سوبسترای پیش‌فرآوری‌نشده و پیش‌فرآوری‌شده در شرایط بهینه تولید بیوگاز و اتانول در شکل ۳ آورده شده است. میزان شاخص بلورینگی برای نمونه پیش‌فرآوری‌نشده و پیش‌فرآوری‌شده در دمای صفر و



شکل ۳- نمودار جذب برحسب عدد طول موج حاصل از آنالیز FTIR نمونه‌های پیش‌فرآوری‌نشده و پیش‌فرآوری‌شده

سدیم هیدروکسید در همه موارد به طور مؤثری ظرفیت جذب آب را در محدوده ۱۵۴/۵ درصد تا ۱۰۶/۶ درصد افزایش داده است. تحلیل آماری داده‌های جذب آب نشان می‌دهد که پیش‌فرآوری قلیایی ظرفیت جذب آب نمونه‌های جامد را نسبت به نمونه پیش‌فرآوری نشده بسیار افزایش داده است؛ اما افزایش دما و زمان پیش‌فرآوری بر ظرفیت جذب آب تأثیر چندانی نداشته است ( $p < 0.05$ ).

**ظرفیت جذب آب:** ظرفیت جذب آب نمونه‌های پیش‌فرآوری شده و پیش‌فرآوری نشده کاه گلرنگ با استفاده از معادله ۳ محاسبه شد و نتایج حاصل در شکل ۴ ارائه شده است. ظرفیت جذب آب نمونه پیش‌فرآوری نشده ۳/۳ گرم آب به ازای هر گرم جامد بود که پس از پیش‌فرآوری در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد و زمان ۶۰ دقیقه به ۸/۴ گرم آب به ازای هر گرم جامد رسید. نتایج نشان می‌دهد که پیش‌فرآوری



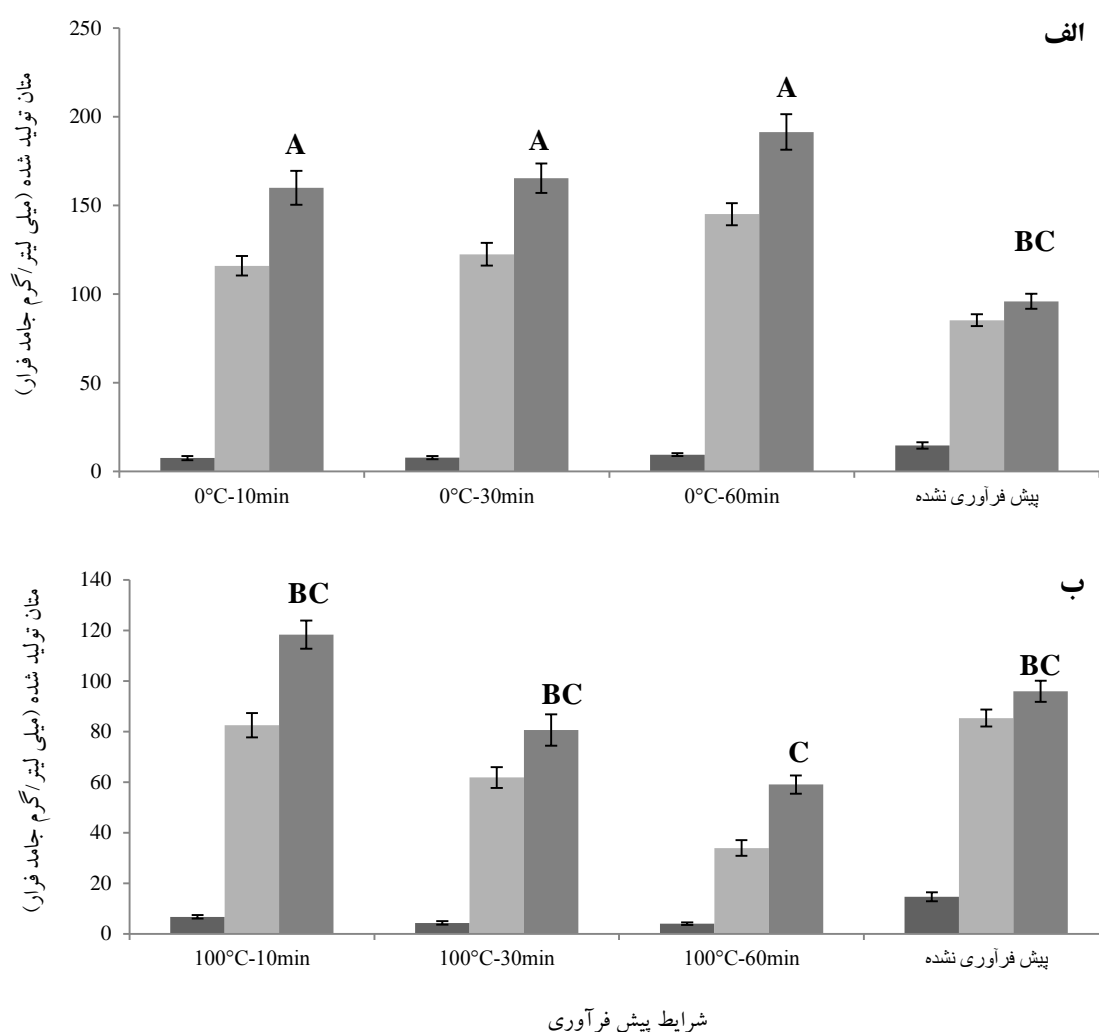
شکل ۴- نمودار ظرفیت جذب آب سوبستراهای پیش‌فرآوری نشده و پیش‌فرآوری شده، حروف مشابه بین پیش‌فرآوری‌ها نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد است

۹۵/۹ میلی‌لیتر به ازای هر گرم جامد فرار بود که افزایش ۹۹/۶ درصد را نسبت به نمونه پیش‌فرآوری نشده نشان می‌دهد. درصد افزایش تولید متان نسبت به نمونه پیش‌فرآوری نشده در همین دما برای زمان‌های ۱۰ و ۳۰ دقیقه به ترتیب ۶۶/۷ درصد و ۷۲/۴ درصد گزارش شد. حجم تولید متان در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد برای زمان ۱۰ دقیقه با افزایش ۲۳/۴ درصد به ۱۱۸/۳ میلی‌لیتر به ازای هر گرم جامد فرار رسید. اما افزایش زمان پیش‌فرآوری در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد بر میزان

**نتایج تولید بیوگاز:** میزان تولید متان از نمونه‌های پیش‌فرآوری شده و پیش‌فرآوری نشده پس از ۹، ۳۰ و ۴۵ روز هضم بی‌هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در شکل ۵ آورده شده است. پیش‌فرآوری در دمای صفر درجه سانتیگراد به میزان زیادی تولید متان را افزایش داده است. در بهترین حالت پس از پیش‌فرآوری در دمای صفر درجه سانتیگراد و زمان ۶۰ دقیقه حجم تولید متان به ۱۹۱/۴ میلی‌لیتر به ازای هر گرم جامد فرار رسید؛ در حالی که این میزان برای نمونه پیش‌فرآوری نشده تنها

سانتیگراد به صورت معنی‌داری تولید متان را نسبت به نمونه پیش‌فرآوری افزایش داده است. علاوه بر این، مدت زمان پیش‌فرآوری تأثیر زیادی بر بازده تولید متان نداشته است؛ در حالی که افزایش دمای پیش‌فرآوری به شدت تولید متان از بخش جامد حاصل از پیش‌فرآوری را کاهش داده است ( $p < 0.05$ ).

تولید متان اثر منفی داشت. در این دما برای زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه پیش‌فرآوری تولید متان به ترتیب ۸۰/۶ و ۵۹/۰ میلی‌لیتر به ازای هر گرم جامد فرار به دست آمد که به ترتیب کاهش ۱۵/۹ درصد و ۳۸/۵ درصد را نسبت به نمونه پیش‌فرآوری نشده نشان می‌دهد. تحلیل آماری نشان می‌دهد که پیش‌فرآوری در دمای صفر درجه

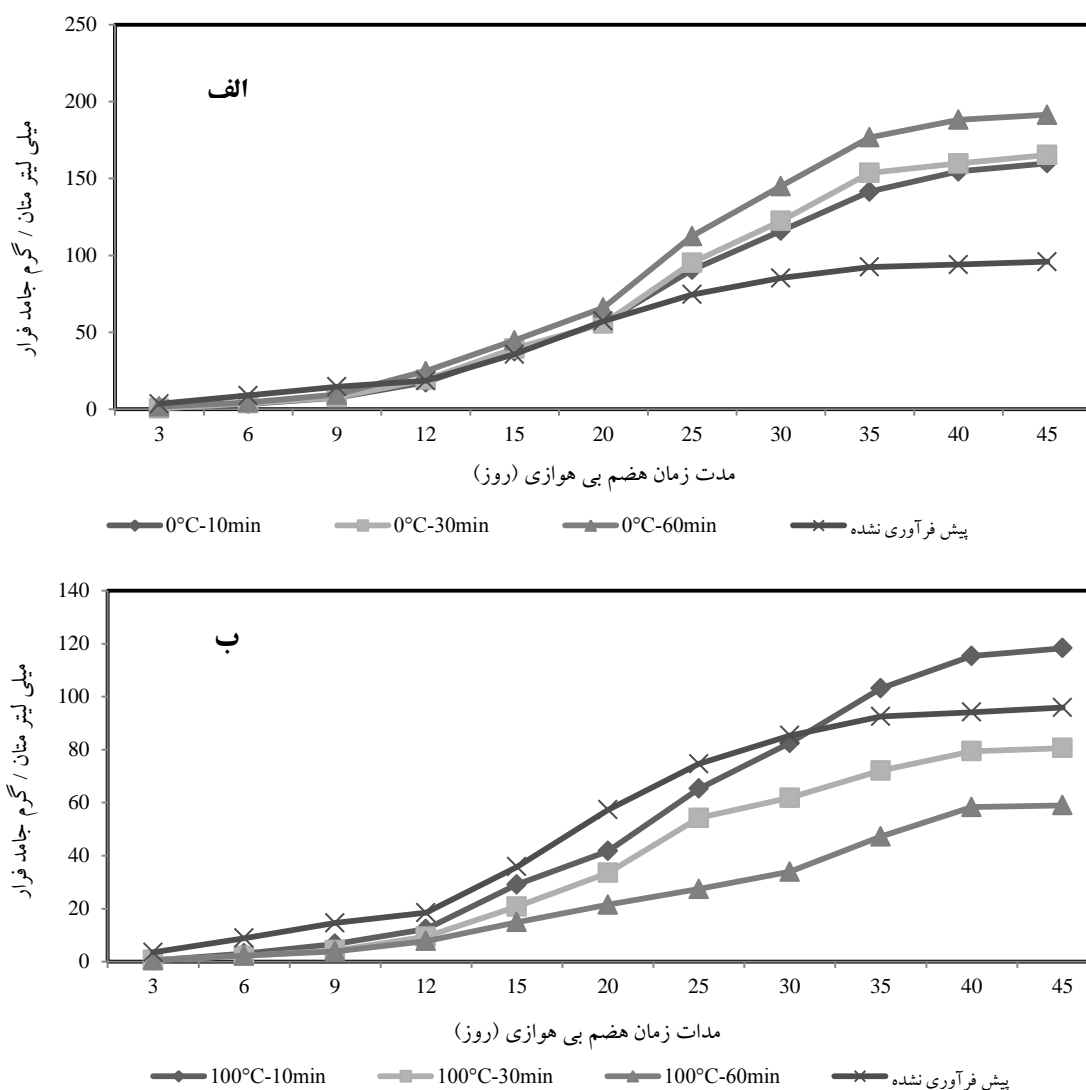


تولید متان پس از ۹ روز (خاکستری روشن)، ۳۰ روز (خاکستری تیره) و ۴۵ روز (سیاه)

شکل ۵- نمودار میله‌ای تجمعی میزان تولید متان از کاه گلرنگ الف) پیش‌فرآوری دمای صفر درجه سانتیگراد ب) پیش‌فرآوری دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد، حروف مشابه بین پیش‌فرآوری‌ها نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.

سانتیگراد برای زمان ۱۰ دقیقه از روز سی ام به بعد تولید متان نسبت به نمونه پیش فرآوری نشده افزایش یافت. علاوه بر این شکل ۶ نشان می دهد که بعد از روز سی ام تولید متان از نمونه پیش فرآوری نشده ناچیز است. مایع حاصل از هر شش پیش فرآوری هیچ گونه گازی تولید نکرده است.

همچنین نمودار تجمعی تولید متان در طی ۴۵ روز در شکل ۶ ارائه شده است. با توجه به شکل ۶، پیش فرآوری در دمای صفر درجه سانتیگراد در ۲۰ روز نخست اثر چندانی بر افزایش بازده تولید بیوگاز از کاه گلرنگ نداشته است؛ اما در ادامه موجب افزایش میزان تولید متان از سوپسترا شده است. در دمای ۱۰۰ درجه



شکل ۶- نمودار تجمعی میزان تولید متان از کاه گلرنگ (الف) پیش فرآوری دمای صفر درجه سانتیگراد (ب) پیش فرآوری دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد.

**نتایج حاصل از هیدرولیز آنزیمی:** بازده فرایند هیدرولیز آنزیمی نمونه‌های پیش‌فرآوری نشده و پیش‌فرآوری شده کاه گلرنگ پس از ۷۲ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد با استفاده از معادله ۴ (۱۸) محاسبه و در شکل ۷ آورده شده است.

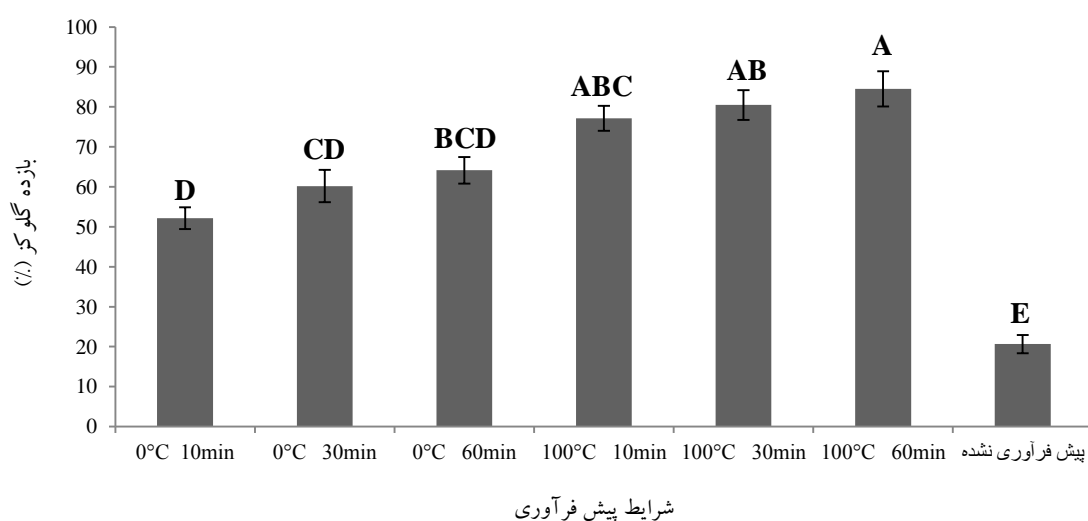
بازده گلوکز برای شرایط مختلف پیش‌فرآوری در بازه ۵/۸۴-۱/۵۲ درصد قرار گرفت؛ در حالی که این مقدار برای نمونه پیش‌فرآوری نشده تنها ۶/۲۰ درصد بود. افزایش دما از صفر به ۱۰۰ درجه سانتیگراد بازده گلوکز را به صورت مؤثری بهبود بخشید. برای مثال بازده گلوکز برای نمونه‌های کاه پس از پیش‌فرآوری با سود، برای زمان ۱۰ دقیقه در دماهای صفر و ۱۰۰ درجه سانتیگراد به ترتیب ۱/۵۲ درصد و ۱/۷۷ درصد به دست

آمد. با توجه به تحلیل آماری نتایج هیدرولیز آنزیمی می‌توان گفت پیش‌فرآوری با سود بازه گلوکز را نسبت به نمونه پیش‌فرآوری نشده بسیار افزایش داده است ( $p < 0.05$ ). اگرچه پیش‌فرآوری در دمای کم منجر به افزایش بازده تولید گلوکز شد، پیش‌فرآوری در دمای زیاد اثر بیشتری در افزایش بازده داشت. همچنین در هر دو دما افزایش زمان پیش‌فرآوری موجب بهبود بازده گلوکز شد ( $p < 0.05$ ).

**تخمیر و هیدرولیز هم‌زمان (SSF):** نمونه‌های جامد پیش‌فرآوری نشده و پیش‌فرآوری شده کاه گلرنگ به مدت ۷۲ ساعت تحت فرایند SSF قرار گرفتند. بازده تولید اتانول با استفاده از معادله ۵ (۱۸) محاسبه و نتایج آن در جدول ۲ ارائه شد.

$$\text{بازده گلوکز (\%)} = \frac{\text{گلوکز تولید شده (g/L)}}{1.111 \times \text{گلوکان در نمونه (g/L)}} \times 100 \quad (۴)$$

$$\text{بازده اتانول (\%)} = \frac{\text{اتانول تولید شده (گرم بر لیتر)}}{1.11 \times 0.51 \times \text{گلوکان موجود در نمونه (\%)} \times 50 \times \text{گرم بر لیتر}} \times 100 \quad (۵)$$



شکل ۷- بازده هیدرولیز نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با سود ۸ درصد و پیش‌فرآوری نشده کاه گلرنگ، پس از ۷۲ ساعت هیدرولیز آنزیمی، حروف مشابه بین پیش‌فرآوری‌ها نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.

برابر (۸۳/۲ درصد) افزایش یافت. افزایش دمای پیش فرآوری از صفر به ۱۰۰ درجه سانتیگراد، منجر به افزایش مؤثر بازده اتانول شده است. این نتایج با داده‌های به دست آمده از هیدرولیز آنزیمی تطابق خوبی دارد و نمونه‌های با بازده بیشتر تولید گلوکز، بیشترین بازده تولید اتانول را نیز نشان داده‌اند.

نتایج نشان می‌دهد که پیش فرآوری قلیایی، بازده تولید اتانول را نسبت به نمونه پیش فرآوری نشده بسیار افزایش داده است. محدوده بازده تولید اتانول برای نمونه‌های پیش فرآوری شده بین ۸۳/۲-۴۵/۴ درصد متغیر است. بازده تولید اتانول از ۱۰/۸ درصد برای نمونه پیش فرآوری نشده، در شرایط بهینه پیش فرآوری (۱۰۰ درجه سانتیگراد و ۶۰ دقیقه) تا حدود ۷/۵

جدول ۲- غلظت و بازده اتانول تولیدی پس از ۷۲ ساعت هیدرولیز و تخمیر هم‌زمان نمونه‌های پیش فرآوری شده و پیش فرآوری نشده کاه گلرنگ.

| بازده تئوری (%) | غلظت اتانول (گرم بر لیتر) | شرایط پیش فرآوری |          |
|-----------------|---------------------------|------------------|----------|
|                 |                           | زمان (دقیقه)     | دما (°C) |
| ۴۵/۴±۱/۹        | ۵/۵۷±۰/۲۳                 | ۱۰               | ۰        |
| ۵۶/۵±۲/۴        | ۷/۳۳±۰/۳۲                 | ۳۰               | ۰        |
| ۵۸/۱±۱/۴        | ۷/۸۲±۰/۱۹                 | ۶۰               | ۰        |
| ۶۸/۲±۲/۸        | ۱۰/۱۱±۰/۴۲                | ۱۰               | ۱۰۰      |
| ۷۸/۸±۲/۲        | ۱۱/۹۲±۰/۳۳                | ۳۰               | ۱۰۰      |
| ۸۳/۲±۳/۱        | ۱۲/۲۱±۰/۴۵                | ۶۰               | ۱۰۰      |
| ۱۰/۸±۱/۳        | ۱/۰۹±۰/۱۳                 | پیش فرآوری نشده  |          |

۲- از جامد حاصل از پیش فرآوری برای تولید بیوگاز استفاده شد.

از مایع حاصل از پیش فرآوری‌ها نیز برای تولید بیوگاز استفاده شد که هیچ گونه گازی تولید نکرد. بیشترین حجم بنزین معادل از یک تن کاه گلرنگ مربوط به حالت ۲ و برابر ۱۲۴/۹ لیتر محاسبه شد که پس از پیش فرآوری در دمای صفر درجه سانتیگراد و زمان ۶۰ دقیقه به دست آمد. در حالت ۱ نیز بیشترین بنزین معادل به دست آمده مربوط به پیش فرآوری در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد و زمان ۳۰ دقیقه و برابر ۹۰/۹ لیتر گزارش شد. در حالت ۱ افزایش دمای پیش فرآوری موجب افزایش بنزین معادل شد؛ در حالی که در حالت

**بنزین معادل:** برای مقایسه بین پیش فرآوری‌های مختلف و انتخاب بهترین پیش فرآوری، میزان بنزین معادل بیوگاز و بیو اتانول تولید شده از یک تن کاه گلرنگ با پیش فرآوری‌های مختلف محاسبه شد و نتایج در جدول ۳ آورده شده است. ارزش حرارتی یک مترمکعب متان ۳۶/۱ مگاژول، و ارزش حرارتی یک لیتر اتانول و بنزین به ترتیب ۲۱/۲ و ۳۲ مگاژول در نظر گرفته شد (۱۹). برای محاسبه بنزین معادل دو حالت انتخاب شد:

۱- از جامد حاصل از پیش فرآوری برای تولید اتانول استفاده شد.

۲ برای نمونه پیش‌فرآوری نشده ۹۷/۸ لیتر است که از نمونه‌های پیش‌فرآوری شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد بسیار بیشتر است.

۲ حجم بنزین معادل را به شدت کاهش داد. بنزین معادل تولید شده از نمونه پیش‌فرآوری نشده در حالت ۱ تنها ۱۸/۳ لیتر است که از همه پیش‌فرآوری‌ها در همین حالت بسیار کمتر است؛ اما حجم بنزین معادل در حالت

جدول ۳- حجم اتانول، متان و بنزین معادل تولید شده از یک تن کاه گلرنگ اولیه برای نمونه‌های پیش‌فرآوری شده و پیش‌فرآوری نشده.

| بنزین معادل حالت ۲ (لیتر) | بنزین معادل حالت ۱ (لیتر) | متان از جامد (مترمکعب) | اتانول از جامد (لیتر) | شرایط پیش‌فرآوری |              |
|---------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------|------------------|--------------|
|                           |                           |                        |                       | دما (°C)         | زمان (دقیقه) |
| ۱۰۷/۰                     | ۶۰/۷                      | ۹۴/۹                   | ۹۱/۶                  | ۰                | ۱۰           |
| ۱۰۹/۷                     | ۷۹/۶                      | ۹۷/۲                   | ۱۲۰/۲                 | ۰                | ۳۰           |
| ۱۲۴/۹                     | ۸۳/۰                      | ۱۱۰/۷                  | ۱۲۵/۳                 | ۰                | ۶۰           |
| ۵۷/۲                      | ۸۱/۰                      | ۵۰/۷                   | ۱۲۲/۲                 | ۱۰۰              | ۱۰           |
| ۳۶/۶                      | ۹۰/۹                      | ۳۲/۴                   | ۱۳۷/۲                 | ۱۰۰              | ۳۰           |
| ۲۶/۰                      | ۸۹/۶                      | ۲۳/۰                   | ۱۳۵/۳                 | ۱۰۰              | ۶۰           |
| ۹۷/۸                      | ۱۸/۳                      | ۸۶/۷                   | ۲۷/۷                  | پیش‌فرآوری نشده  |              |

پیش‌فرآوری است. اثر سمی یون‌های سدیم برای باکتری‌های موجود در مخلوط میکروبی را می‌توان دلیل تولید نشدن بیوگاز از بخش مایع دانست. افزایش غلظت یون سدیم، سبب افزایش فشار اسمزی در دیواره سلول میکروارگانیسم‌ها می‌شود که در نهایت منجر به مرگ یا فعالیت نداشتن آنها می‌شود (۲۲).

نتایج نشان می‌دهد بر خلاف بیوگاز، افزایش دمای پیش‌فرآوری بازده هیدرولیز آنزیمی و تولید اتانول را به میزان زیادی افزایش می‌دهد. نمونه‌های با بیشترین بازده هیدرولیز آنزیمی، بیشترین بازده تولید اتانول را نیز از خود نشان داده‌اند. بیشترین بازده هیدرولیز آنزیمی در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد و زمان ۶۰ دقیقه به دست آمد. این نتیجه با نتیجه‌ای که صالحیان<sup>۳۷</sup> و کریمی (۶) به دست آوردند مطابقت داشت. عملکرد مناسب پیش‌فرآوری قلبایی در دمای زیاد جهت بهبود هیدرولیز و همچنین افزایش میزان تولید اتانول در پژوهش‌های

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از تولید بیوگاز نشان‌دهنده اثر مطلوب‌تر پیش‌فرآوری در دمای کم و زمان بیشتر (صفر درجه سانتیگراد و ۶۰ دقیقه) نسبت به بهره‌گیری از دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد است. حذف بخش عمده‌ای از همی سلولز (جدول ۱) می‌تواند علت کاهش بازده متان در دماهای زیاد باشد (۲۰). همی سلولز عمدتاً از زیلان تشکیل شده است که هضم بی‌هوازی آن به متان ساده‌تر است. با توجه به داده‌های جدول ۱، در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد بخش عمده‌ای از همی سلولز حذف می‌شود که با استفاده از آن می‌توان اثر منفی پیش‌فرآوری بر تولید متان در دمای زیاد را توجیه کرد (۲۱). مایع حاصل از هر شش پیش‌فرآوری متان تولید نکرده است. بخش مایع حاصل از پیش‌فرآوری اگرچه با فسفریک اسید خنثی شد، همچنان حاوی غلظت زیادی از یون سدیم و سایر بازدارنده‌های تولید شده در طول

۱۰/۸ درصد بود، پس از پیش‌فرآوری با افزایش حدود ۷/۵ برابری به ۸۳/۲ درصد افزایش یافت. بازده تولید بیوگاز نیز از ۹۵/۹ میلی‌لیتر به ازای یک گرم جامد فرار برای نمونه پیش‌فرآوری نشده، در بهترین حالت به ۱۹۱/۴ میلی‌لیتر رسید که افزایش ۹۹/۶ درصد را نشان می‌دهد. به طور کلی بازده تولید اتانول و بیوگاز به ترتیب در دمای زیاد (۱۰۰ درجه سانتیگراد) و کم (صفر درجه سانتیگراد) به بیشترین میزان خود رسید. حجم بیشینه بنزین معادل نیز در حالت ۲ و برای پیش‌فرآوری در دمای صفر درجه سانتیگراد و زمان ۶۰ دقیقه به میزان ۱۲۴/۹ لیتر به دست آمد؛ در حالی که در حالت ۱ این میزان ۹۰/۹ لیتر بود. میزان بنزین معادل برای کاه پیش‌فرآوری نشده در حالت ۱ و ۲ به ترتیب ۱۸/۱ و ۹۷/۸ لیتر گزارش شد. با توجه به نوع سوخت مورد نیاز (بیوگاز یا اتانول) و ارزیابی اقتصادی هر دو حالت می‌توان پیش‌فرآوری مناسب برای تولید سوخت زیستی از کاه گلرنگ را انتخاب کرد.

## References

- (1) Gupta A., Verma JP. Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2015; 41: 550-67.
- (2) Ostovareh S., Karimi K., Zamani A. Efficient conversion of sweet sorghum stalks to biogas and ethanol using organosolv pretreatment. *Industrial Crops and Products* 2015; 66: 170-7.
- (3) Guo M., Song W., Buhain J. Bioenergy and biofuels: History, status, and perspective. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2015; 42: 712-25.

گذشته نیز دیده شده است (۲۱، ۲۳، ۲۴). پیش‌فرآوری کاه گلرنگ منجر به کاهش کریستالینیتی، افزایش ظرفیت جذب آب، افزایش سطح در دسترس و حذف لیگنین و همی سلولز شده است. ترکیبی از این تغییرات می‌تواند منجر به بهبود بازده هیدرولیز آنزیمی و به دنبال آن افزایش بازده فرایند تخمیر و هیدرولیز هم‌زمان (SSF) شود (۲۳).

در طول پیش‌فرآوری سدیم هیدروکسید، یون‌های سدیم به داخل منافذ کوچک سلولز نفوذ می‌کنند که منجر به تغییر ویژگی پلی‌یونیک سوبسترای لیگنوسلولزی می‌شود. یون‌های سدیم موجود در ساختار زیست‌توده به‌عنوان بار متضاد برای یون‌های کربوکسیل<sup>۳۸</sup> عمل می‌کنند و بهبود در نفوذ و جذب آب به ساختار ترکیبات لیگنوسلولزی را به دنبال دارد. بنابراین سطح ویژه افزایش می‌یابد و دسترسی میکروارگانیسیم‌ها و آنزیم‌ها به کربوهیدرات‌ها را تسهیل می‌کند که بهبود بازده فرایندهای هضم بی‌هوازی و هیدرولیز آنزیمی را به دنبال دارد. افزایش ظرفیت جذب آب نمونه‌های پیش‌فرآوری شده، این مطلب را تأیید می‌کند (۷).

در حالت ۱ (تولید اتانول از بخش جامد)، حجم بنزین معادل با افزایش دما افزایش یافت؛ در حالی که در حالت ۲ (تولید بیوگاز از بخش جامد) میزان بنزین معادل کاهش یافت. این روند مشابه روند تولید اتانول و بیوگاز است که به ترتیب در جدول ۲ و شکل ۵ ارائه شده است. بازده تولید اتانول و بیوگاز از کاه گیاه گلرنگ با استفاده از پیش‌فرآوری قلبیایی به میزان زیادی بهبود یافت که میزان این بهبود در زمینه تولید اتانول بیشتر بود. در حالی که بازده تولید اتانول از کاه پیش‌فرآوری نشده تنها



- (4) Mood SH., Golfeshan AH., Tabatabaei M., Jouzani GS., Najafi GH., Gholami M., et al. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2013; 27: 77-93.
- (5) Kumar P., Barrett DM., Delwiche MJ., Stroeve P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 2009; 48(8): 3713-29.
- (6) Salehian P., Karimi K. Alkali pretreatment for improvement of biogas and ethanol production from different waste parts of pine tree. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2013; 52(2): 972-8.
- (7) Karimi K., Shafiei M., Kumar R. Progress in physical and chemical pretreatment of lignocellulosic biomass. In: Gupta VK., Tuohy MG., editors. *Biofuel technologies: recent developments*. Berlin Heidelberg, Springer; 2013: 53-96.
- (8) Mirahmadi K., Kabir MM., Jeyhanipour A., Karimi K., Taherzadeh M. Alkaline pretreatment of spruce and birch to improve bioethanol and biogas production. *BioResources* 2010; 5(2): 928-38.
- (9) Talebnia F. Bioethanol from Lignocellulosic wastes: current status and future prospects. In: Karimi K., editor. *Lignocellulose-Based Bioproducts*. Switzerland; Springer; 2015: 175-206.
- (10) Zamani A. Introduction to lignocellulose-based products. In: Karimi K., editor. *Lignocellulose-based bioproducts*. Switzerland; Springer; 2015: 1-36.
- (11) Hansen TL., Schmidt JE., Angelidaki I., Marca E., la Cour Jansen J., Mosbæk H., et al. Method for determination of methane potentials of solid organic waste. *Waste Management* 2004; 24(4): 393-400.
- (12) Adney B., Baker J. Measurement of cellulase activities. *Laboratory analytical procedure, National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO, NREL/TP-510-42628* 1996; 1-6.
- (13) Karimi K., Emtiazi G., Taherzadeh MJ. Ethanol production from dilute-acid pretreated rice straw by simultaneous saccharification and fermentation with *Mucor indicus*, *Rhizopus oryzae*, and *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology* 2006; 40(1): 138-44.
- (14) Shafiei M., Karimi K., Zilouei H., Taherzadeh MJ. Enhanced ethanol and biogas production from pinewood by NMMO pretreatment and detailed biomass analysis. *BioMed Research International* 2014; 2014: 1-10.
- (15) Sluiter A., Hames B., Hyman D., Payne C., Ruiz R., Scarlata C., et al. Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples. *National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO, NREL/TP-510-42621* 2008; 1-6.
- (16) Sluiter A., Hames B., Ruiz R., Scarlata C., Sluiter J., Templeton D., et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. *National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO, NREL/TP-510-42618* 2008; 1-14.
- (17) Colom X., Carrillo F., Nogués F., Garriga P. Structural analysis of photodegraded wood by means of FTIR spectroscopy. *Polymer Degradation and Stability* 2003; 80(3): 543-9.
- (18) Poornejad N., Karimi K., Behzad T. Improvement of saccharification and ethanol production from rice straw by NMMO and [BMIM][OAc] pretreatments. *Industrial Crops and Products* 2013; 41: 408-13.
- (19) Shafiei M., Karimi K., Zilouei H., Taherzadeh MJ. Economic impact of NMMO pretreatment on ethanol and biogas production from pinewood. *BioMed Research International* 2014; 2014: 1-13.
- (20) Mirmohamadsadeghi S., Karimi K., Zamani A., Amiri H., Horváth IS. Enhanced solid-state biogas production from lignocellulosic biomass by organosolv pretreatment. *BioMed research international* 2014; 2014: 1-6.

- (21) Bateni H., Karimi K., Zamani A., Benakashani F. Castor plant for biodiesel, biogas, and ethanol production with a biorefinery processing perspective. *Applied Energy* 2014; 136: 14-22.
- (22) Deublein D., Steinhauser A. *Biogas from waste and renewable resources: an introduction*: John Wiley & Sons; 2011.
- (23) Salehi SA., Karimi K., Behzad T., Poornejad N. Efficient conversion of rice straw to bioethanol using sodium carbonate pretreatment. *Energy & Fuels* 2012; 26(12): 7354-61.
- (24) Jeihanipour A., Taherzadeh MJ. Ethanol production from cotton-based waste textiles. *Bioresource technology* 2009; 100(2): 1007-10.

- 
- 1- Biogas
  - 2- Lignocellulose
  - 3- Cellulose
  - 4- Hemicellulose
  - 5- Lignin
  - 6- Anaerobic Digestion
  - 7- Simultaneous Saccharification and Fermentation
  - 8- Enzymatic hydrolysis
  - 9- Crystallinity
  - 10- Ester bonds
  - 11- Solubilized monomers or short chain carbohydrates
  - 12- Microorganism
  - 13- *Saccharomyces cerevisiae*
  - 14- Freeze dryer
  - 15- Hansen
  - 16- Inoculum
  - 17- Anaerobic
  - 18- Incubator
  - 19- Novozymes
  - 20- Adney and Baker
  - 21- Karimi
  - 22- Culture Collection of Gothenburg University
  - 23- Water Swelling Capacity
  - 24- Shafiei
  - 25- Total Solid (TS)
  - 26- Volatile Solid (VS)
  - 27- Sluiter
  - 28- Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass
  - 29- Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)
  - 30- Crystallinity index (CI)
  - 31- Total crystallinity index (TCI)
  - 32- Gas Chromatography
  - 33- High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
  - 34- Refractive Index
  - 35- Glucose
  - 36- Xylose
  - 37- Salehian
  - 38- Carboxylate ions