

## Ozonolysis Pretreatment of Wheat Straw for Enhanced Delignification: Applying RSM Technique for Modeling and Optimizing Process

MARZIEH GHORBANI<sup>1</sup>, MOHAMMAD HOSSEIN KIANMEHR<sup>1\*</sup>, AKBAR ARABHOSSEINI<sup>1</sup>, ALI ASADI ALAMOUTI<sup>2</sup>, REZA SADEGHI<sup>3</sup>

1. Department of Agrotechnology, College of Abouraihan, University of Tehran, Tehran, Iran

2. Department of Animal and Poultry Science, College of Abouraihan, University of Tehran, Tehran, Iran

3. Department of Entomology and Plant Pathology, College of Abouraihan, University of Tehran, Tehran, Iran

(Received: Apr. 22, 2020- Revised: Feb. 4, 2021- Accepted: Feb. 27, 2021)

### ABSTRACT

Wheat straw is widely used for animal feed and biorefinery to sugar production. However, cellulose, which is the major source of sugar, is protected by lignin. Ozone is a powerful oxidizer that can deconstruct lignin and makes cellulose accessible to enzymatic digestion. The aim of this study is the delignification of wheat straw using ozonolysis technology as a green, environmentally friendly, and energy-efficient process. Modeling and optimization were performed by response surface methodology and the effects of five factors including ozone production rate (1, 2, and 3 g/h), reaction time (15, 30, and 45 min), the flow rate of ozone/oxygen (0, 3, and 6 L/min), moisture content (100, 200, and 300% w/w) and urea (0, 1.5, and 3% w/w) were investigated. The results of this study showed that the highest delignification (50%) was observed in the highest levels of ozone amount, time, flow rate, urea, and the lowest level of moisture content. The flow rate and moisture content factors were the most contributing factors in the delignification process with 36 and 20%, respectively. Under optimal conditions, 49.8% of delignification was obtained at an ozone amount (3 g/h), time (45 min), flow rate (5.7 L/min), moisture content (100% w/w), and urea amount (3% w/w) with a desirability index of 0.99. The response surface method creates a desirable fitness between the experimental and predicted responses with  $R^2=0.90$ . The results showed that the ozonolysis process using the proposed factors can be used to delignification of wheat straw.

**Keywords:** Wheat Straw, Ozonolysis, Delignification, Desirability Analysis, Response Surface Methodology.

---

\* Corresponding Author's Email: [kianmehr@ut.ac.ir](mailto:kianmehr@ut.ac.ir)

## پیش‌فرآوری ازن کافت کاه گندم با هدف بهبود لیگنین‌زدایی: استفاده از روش سطح پاسخ برای مدل‌سازی و بهینه‌سازی فرآیند

مرضیه قربانی<sup>۱</sup>، محمد حسین کیانمهر<sup>۱\*</sup>، اکبر عرب حسینی<sup>۱</sup>، علی اسدی الموتی<sup>۲</sup>، رضا صادقی<sup>۳</sup>

۱. گروه فنی کشاورزی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲. گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳. گروه حشره‌شناسی و بیماری‌های گیاهی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۳ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۱۱/۱۶ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۱۲/۹)

### چکیده

کاه گندم به‌طور گسترده برای خوراک دام و در پالایشگاه‌های زیستی برای تولید قند استفاده می‌شود. با این حال، سلولز به‌عنوان منبع اصلی قند، توسط لیگنین محافظت شده است. ازن اکسیدکننده‌ای قوی است که می‌تواند لیگنین را تجزیه و سلولز را برای هضم آنزیمی در دسترس قرار دهد. هدف از این پژوهش لیگنین‌زدایی کاه گندم با فن‌آوری ازن کافت به‌عنوان یک فرآیند سبز، محیط‌زیست‌پسند و انرژی‌کارآمد است. مدل‌سازی و بهینه‌سازی با استفاده از روش سطح پاسخ و با بررسی اثرات پنج عامل نرخ تولید ازن (۱، ۲ و ۳ گرم بر ساعت)، زمان ازن‌دهی (۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه)، نرخ جریان (۰، ۳ و ۶ لیتر بر دقیقه)، محتوای رطوبت (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ درصد وزنی) و مقدار اوره (۰، ۱/۵ و ۳ درصد وزنی) انجام شد. یافته‌های این پژوهش بیشینه لیگنین‌زدایی (۵۰ درصد) را در بیشترین سطوح عامل‌های نرخ تولید ازن، زمان، نرخ جریان، اوره و کمترین سطح رطوبت نشان داد. عامل‌های نرخ جریان و محتوای رطوبت به‌ترتیب با بیشترین تأثیرگذاری (۳۶ و ۲۰ درصد)، مؤثرترین پارامترها در فرآیند لیگنین‌زدایی بودند. در شرایط بهینه، ۴۹/۸ درصد لیگنین‌زدایی در نرخ تولید ازن‌دهی ۳ گرم بر ساعت، زمان ۴۵ دقیقه، نرخ جریان ۵/۷ لیتر بر دقیقه، رطوبت ۱۰۰ درصد وزنی و مقدار اوره ۳ درصد وزنی با شاخص مطلوبیت ۰/۹۹ حاصل شد. روش سطح پاسخ توانست برازش بالایی بین داده‌های آزمایشی و پیش‌بینی شده با ضریب تبیین ۰/۹۰ ایجاد کند. یافته‌ها نشان داد که فرآیند ازن کافت با استفاده از عامل‌های پیشنهادی می‌تواند برای لیگنین‌زدایی کاه گندم مورد استفاده قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** کاه گندم، ازن کافت، لیگنین‌زدایی، آنالیز مطلوبیت، روش سطح پاسخ.

### مقدمه

دانه‌ها، سبوس، تکه‌های دانه‌های شکسته و غیره)، می‌توان انتظار داشت ۱۸/۸۵ میلیون تن محصول جانبی<sup>۱</sup> و بیش از ۱۴ میلیون تن کاه گندم (۱ کیلوگرم کاه به‌ازای هر کیلوگرم غله) در ایران تولید شود (Tajinia et al., 2020; Talebnia et al., 2010). کاه گندم از لیگنین (۱۵-۲۰ درصد)، سلولز (۳۳-۴۰ درصد) و همی‌سلولز (۲۰-۲۵ درصد) تشکیل شده است (Talebnia et al., 2010). سلولز فراوان‌ترین پلی‌ساکارید دیواره سلولی در طبیعت بوده و از زنجیره طویل گلوکز با اتصالات هیدروژنی  $4 \rightarrow 1 - \beta$  ساخته شده است. لیگنین یک پلیمر سه‌بعدی با وزن مولکولی زیاد، ساخته شده از سه پیش‌ساز الکل‌های کونیفریل<sup>۲</sup>، سیناپیل<sup>۳</sup> و کوماریل<sup>۴</sup>، مشتق شده از ترکیبات فنولی و بعد از سلولز بیشترین

گندم از جمله محصولاتی است که سهم زیادی از مزارع کشاورزی جهان را به خود اختصاص داده است. سیاست‌های کشاورزی ایران برای خودکفایی گندم، این دانه را به‌عنوان محصول غالب غلات معرفی کرده است و در حدود ۷۰ درصد از تولید کل غلات در کشور را شامل می‌شود (Shariat Panahi et al., 2020). طبق آمار سازمان غذا و کشاورزی ایالات متحده تا اواخر سال ۲۰۱۹ تولید جهانی گندم ۷۶۳/۶ میلیون تن تخمین زده شده است که سهم ایران از این مقدار ۱۴/۵ میلیون تن است (FAO<sup>۱</sup>, 2020). با در نظر گرفتن ۱/۳ برابر باقیمانده به محصول در غلات (کاه، پوشینه

\* نویسنده مسئول: kianmehr@ut.ac.ir

1. Food and Agriculture Organization  
2. Byproduct  
3. Coniferyl  
4. Sinapyl  
5. Coumaryl

بیشتر محصولات فرعی، تولید و استفاده مستقیم ازن در محل (اجتناب از مشکلات مربوط به عرضه و ذخیره‌سازی مواد شیمیایی)، کاهش آلودگی محیط‌زیست با طراحی مناسب سامانه و تجزیه ازن باقیمانده در پایان فرآیند، عدم وجود فاز مایع و جلوگیری از مشکلات مربوط به رقت محصول، عدم نیاز به افزودنی‌های شیمیایی در طول فرآیند است. از معایب آن می‌توان به خوردگی و سمیت ازن در غلظت‌های زیاد، گرماده‌بودن فرآیند و در صورت نیاز استفاده از سامانه‌های خنک‌کننده، استفاده از تجهیزات مقاوم به اکسیداتیو (فولاد ضد زنگ، شیشه و سرامیک‌های دیگر، تفلون، هایپالون<sup>۱</sup> و بتن) و هزینه‌های به نسبت زیاد تولید ازن به دلیل تقاضای بیش از حد انرژی اشاره کرد (Travaini *et al.*, 2014; Ghorbani *et al.*, 2020a). البته پژوهش‌های زیادی در کاهش هزینه‌های انرژی مربوط به تولید ازن و ژنراتورهای ازن در حال انجام است؛ به‌طوریکه ژنراتورهای جدید انرژی مصرفی کمی دارند و از طرفی تأمین برق از منابع انرژی تجدیدپذیر، این فن‌آوری را در مسیر آینده جالبی قرار داده است (Graves *et al.*, 2011; Goede & van de Sanden, 2016; Ghorbani *et al.*, 2020b).

ازن، در میان اکسیدان‌های شیمیایی نسبت به ترکیبات حاوی پیوندهای دوگانه و گروه‌های عاملی با تراکم الکترونی زیاد مانند لیگنین، واکنش‌پذیری زیادی نشان می‌دهد. ازن با ساختار مولکولی  $O_3$ ، به دلیل کمبود الکترون در اتم اکسیژن آخر خود، ترجیحاً به لیگنین، یک جزء سرشار از الکترون به کربوهیدرات‌ها حمله می‌کند. تفاوت در ویژگی‌های الکترونگاتیوی بین لیگنین و کربوهیدرات‌ها، عمده‌تاً به دلیل پیوندهای دوگانه غیراشباع، حلقه‌های آروماتیک و مراکز دهنده الکترون موجود در لیگنین، موجب فرآیند انتخابی تخریب لیگنین توسط ازن می‌شود؛ زیرا ازن نسبت به لیگنین  $10^6$  برابر سریع‌تر از کربوهیدرات‌ها واکنش می‌دهد (Maia & Colodette, 2003).

مطالعات قبلی کارایی زیادی از پیش‌فراوری ازن برای بهبود آزادسازی قند در طول هیدرولیز آنزیمی نشان داده‌اند (García-Cubero *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2013; Bule *et al.*, 2013; Rosen *et al.*, 2019; Ai *et al.*, 2019; Ben'ko & Lunin, 2020; Ghorbani *et al.*, 2020c). همچنین ازن به‌عنوان لیگنین‌زدا با انواع مختلف زیست‌توده، از جمله کاه‌گندم (Heiske *et al.*, 2013; Kádár *et al.*, 2015; Ben'ko *et al.*, 2017; Ben'ko *et al.*, 2020) خاک‌اره صنوبر (García-Cubero *et al.*, 2010)، باگاس نیشکر (Travaini *et al.*, 2013; Gitifar *et al.*, 2013) و ساقه پنبه (Kaur *et al.*, 2020; Osuna-Laveaga *et al.*, 2020)، تراشه‌های چوب کاج (Miura *et al.*, 2012)، سرو ژاپنی (Miura *et al.*, 2012)، تراشه‌های چوب کاج

ترکیب آلی موجود در طبیعت است. لیگنین نقش حیاتی در رشد و سلامت گیاه به‌عهده دارد و با اتصال دیگر اجزای دیواره سلولی و پوشاندن آن‌ها، سبب مقاومت مکانیکی و شیمیایی گیاه به عوامل محیطی و میکروبی می‌شود (Pedersen *et al.*, 2005; Sharif Paghaleh *et al.*, 2017).

در کاه‌هایی که هیچ‌گونه فرآوری در آن‌ها انجام نمی‌شود، به دلیل وجود پیوندهای محکم فیزیکی و شیمیایی بین کربوهیدرات‌ها و لیگنین، هضم‌پذیری کمی دارند. برای بهره‌بردن کامل از پتانسیل کاه، باید ساختار لیگنین-سلولز دیواره‌های سلولی شکسته شده یا تغییر پیدا کند. هدف اصلی پیش‌فراوری‌ها، افزایش مساحت سطح و تخلخل بستر (سوبسترا)، کاهش بلورینگی سلولز و تخریب همی‌سلولز و لیگنین است (Talebniya *et al.*, 2010; Sarlaki *et al.*, 2017). لیگنین می‌تواند به روش‌های مختلفی جدا و محصولات متنوع با کیفیت‌های متفاوتی ایجاد کند. هر یک از روش‌های پیش‌فراوری ممکن است برای یک زیست‌توده خاص کافی نباشد و بهتر است از روش‌های ترکیبی استفاده شود. انتخاب روش پیش‌فراوری بستگی به ترکیب زیست‌توده دارد و هر کدام از روش‌ها دارای مزایا و معایب مخصوص به خود هستند (Das *et al.*, 2015). طیف گسترده‌ای از پیش‌فراوری‌ها شامل فرآیندهای فیزیکی (خیساندن، قطعه قطعه کردن، آسیاب کردن، پلت‌کردن، جوشاندن، استخراج با آب داغ، فراصوت، ریزموج و پرتوتابی)، شیمیایی (استفاده از اسیدهای قوی/ضعیف، قلیاها و اکسیدان‌ها)، فیزیکوشیمیایی و روش‌های بیولوژیکی (افزودن آنزیم‌ها، تلقیح کاه با قارچ‌ها یا باکتری‌ها) وجود دارند (Das *et al.*, 2015; Ghorbani *et al.*, 2017; Sarlaki *et al.*, 2019a, b, 2020). پیش‌فراوری مورد استفاده در نهایت باید شرایط زیر را داشته باشد: (۱) بهبود یا توانایی تشکیل قندها توسط فرآیند هیدرولیز، (۲) اجتناب از تشکیل محصولات جانبی به‌عنوان عامل بازدارنده هیدرولیز و فرآیند تخمیر پس از آن، (۳) اجتناب از تخریب و یا اتلاف کربوهیدرات‌ها و (۴) از نظر مصرف انرژی مقرون به صرفه و با عملکرد زیاد باشد (Kumar *et al.*, 2009).

مزایای بسیاری برای فرآیند ازن‌کافت در مقایسه با سایر روش‌های پیش‌فراوری گزارش شده است که می‌تواند یک مسیر مطلوب در توسعه پیش‌فراوری‌ها باشد؛ از جمله آزادشدن ترکیبات سمی، انجام آزمایش در دما و فشار محیط، تخریب لیگنین با کمترین اثرات روی سلولز و همی‌سلولز، تولید بسیار کم ترکیبات بازدارنده، توانایی میکروارگانیزم‌ها برای متابولیسم

در سال ۱۳۹۸ انجام شد. برای انجام آزمایش‌ها از کاه گندم رقم N-81-18 که از زمین‌های شهرستان گنبد کاووس با ۵۵ درجه و ۱۸ دقیقه طول جغرافیایی و ۳۷ درجه و ۱۷ دقیقه عرض جغرافیایی واقع در سمت شمالی و مرکزی استان گلستان استفاده شد. کاه گندم پس از جداسازی خوشه، در آون در دمای ۴۰°C به مدت ۲۴ ساعت خشک و توسط آسیاب چکشی-سایشی تا رسیدن به اندازه ذرات ۳ میلی‌متر خرد شد (García-Cubero et al., 2009; Travaini et al., 2016). بر اساس استاندارد ASAE S319.3 از رابطه ۱ تعیین شد.

$$d_{gw} (mm) = \log^{-1} \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (w_i \log d_i)}{\sum_{i=1}^n w_i} \right] \quad (\text{رابطه ۱})$$

که در این رابطه  $d_{gw}$  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. رطوبت اولیه مواد بر اساس استاندارد ASAE S358.2 تعیین شد که به موجب آن ۲۵ گرم کاه گندم آسیاب شده در دمای ۱۰۳°C به مدت ۲۴ ساعت در آون قرار خشک شد و جرم آن توسط ترازوی دیجیتال با دقت زیاد (۰/۰۰۱) تعیین و درصد رطوبت بر پایه تر بر اساس رابطه ۲ با سه تکرار معادل ۵/۳۲ درصد محاسبه شد.

$$MC (\%) = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (\text{رابطه ۲})$$

که  $MC$  مقدار رطوبت بر پایه تر (درصد)،  $m_i$  جرم اولیه مواد (گرم) و  $m_f$  جرم نهایی مواد (گرم) است. برای افزودن آب در سه سطح مورد نظر قبل از فرآیند ازن‌کافت از رابطه ۳ استفاده شد (Shaw & Tabil, 2006).

$$m_w (g) = \frac{m_i(M_{wf} - M_{wi})}{1 - M_{wf}} \quad (\text{رابطه ۳})$$

که  $m_w$  جرم آب اضافه شده به نمونه (گرم)،  $m_i$  جرم اولیه نمونه بر مبنای تر (گرم)،  $M_{wi}$  رطوبت اولیه نمونه بر مبنای تر (درصد)،  $M_{wf}$  رطوبت نهایی نمونه بر مبنای تر (درصد) است. پس از افزودن رطوبت و اوره، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در کیسه‌های پلاستیکی دربسته در دمای ۴°C به‌منظور توزیع یکنواخت رطوبت نگهداری شدند و بلافاصله تحت فرآیند ازن‌کافت قرار گرفتند.

#### فرآیند ازن‌کافت

عامل‌های بسیاری بر کارایی فرآیند ازن‌کافت از قبیل طراحی راکتور، محتوای رطوبت، اندازه ذرات، pH، غلظت ازن، نرخ جریان ازن / اکسیژن و زمان واکنش تأثیر می‌گذارند (Travaini et al., 2016). روش ازن‌کافت در شرایط فشار (اتمسفر) و دمای هوا (محیط) انجام و میانگین طول هندسی ذرات (۳ میلی‌متر) ثابت

و صنوبر، خاک اره بلوط قرمز، پوسته بادام زمینی و یونجه سبز (Neely, 1984)، کاه چاودار (García-Cubero et al., 2009)، کاه جو (Wu et al., 2013)، خاک اره صنوبر لرزان (Mamleeva et al., 2009)، ماکروجلبک (Schultz-Jensen et al., 2013)، کاه ذرت (Shi et al., 2015) و ذرت علوفه‌ای (Li et al., 2015) گزارش شده است.

چندین پژوهش در کاهش محتوای لیگنین کاه گندم و افزایش دسترسی به واحدهای قندی آن انجام شده است. آن‌ها شرایط بهینه را برای زمان‌های ۳۰ تا ۱۲۰ دقیقه، نرخ جریان‌های ۱ و ۲ لیتر بر دقیقه با بیشترین لیگنین‌زدایی ۳۰ تا ۵۰ درصد گزارش کردند (García-Cubero et al., 2009; Bule et al., 2015; Al Jibouri et al., 2013). تنها در یک پژوهش کاهش ۸۶ درصدی لیگنین در مدت زمان ۶۰ دقیقه با نرخ جریان ۴ لیتر بر دقیقه گزارش شده است. آن‌ها آزمایش را طی سه مرحله (خیساندن ۱۲ ساعت در سدیم هیدروکسید، شستشو و خشک کردن، مرطوب کردن و ازن‌دهی) انجام دادند و در مورد کاهش لیگنین بعد از مرحله اول (سدیم هیدروکسید قلیایی به تنهایی می‌تواند مقدار لیگنین را کاهش دهد) اطلاعاتی ارائه ندادند. بسیاری از گزارش‌ها در شرایط بهینه به حدود ۵۰ درصد لیگنین‌زدایی در کاه گندم دست یافتند و این مقدار را برای هیدرولیز آنزیمی نیز مطلوب دانستند (Binder et al., 1980) و بیان کردند که رابطه بین قابلیت هضم آنزیمی و کاهش محتوای لیگنین بیش از ۵۰ درصد غلظت اصلی، نه تنها قابلیت هضم را افزایش نمی‌دهد، بلکه می‌تواند موجب کاهش قابلیت هضم کاه به‌دلیل واکنش‌های ازن با پلی‌ساکاریدها شود (Moore-Landecker, 1966).

هدف از این پژوهش، بررسی فن‌آوری ازن‌کافت به‌منظور بهبود شرایط لیگنین‌زدایی و هضم‌پذیری کاه گندم است. با توجه به این هدف، اثر ۵ عامل نرخ تولید ازن، زمان ازن‌دهی، نرخ جریان ازن / اکسیژن، محتوای رطوبت و مقدار اوره بر درصد لیگنین‌زدایی کاه گندم با استفاده از روش سطح پاسخ<sup>۱</sup> (RSM) مورد بررسی و تحلیل قرار می‌گیرد و پس از آن، بهینه‌سازی عامل‌های مذکور برای تعیین شرایط مطلوب با مهم‌ترین متغیرها انجام می‌شود.

#### مواد و روش‌ها

##### آماده‌سازی نمونه‌ها

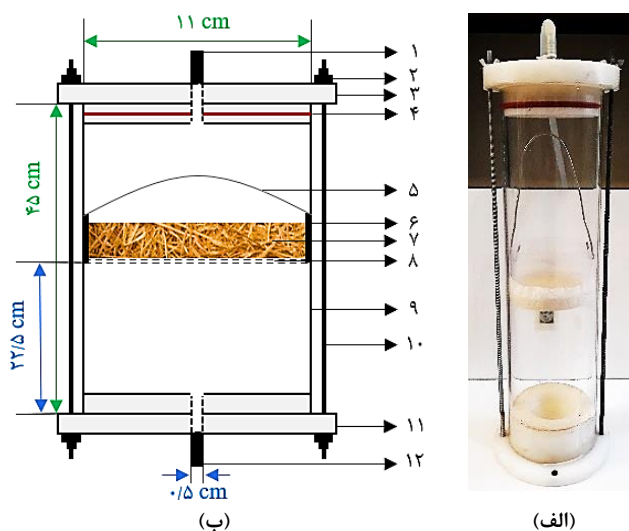
به‌منظور بررسی اثرات ازن بر درصد لیگنین‌زدایی کاه گندم، پژوهشی در گروه فنی کشاورزی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران

فرآیند ازن کافت داخل ظرف مخصوص در راکتور قرار داده شد. مطابق شکل ۲، گاز ازن با روش تخلیه الکتریکی<sup>۵</sup> از اکسیژن با خلوص زیاد تولید و مخلوطی از گاز ازن / اکسیژن پس از تنظیم نرخ جریان ورودی از شیر پایین وارد راکتور و پس از تماس با کاه‌های گندم مرطوب که روی توری پلاستیکی در وسط راکتور از پیش بارگذاری شده بودند، از شیر بالای راکتور خارج و به منهدم کننده گاز ازن منتقل و پس از انهدام به شکل گاز اکسیژن به محیط تخلیه شد. نمونه شاهد، کاه گندم خشک بدون فراوری در نظر گرفته شد. طرح کلی سامانه فرآیند ازن کافت در شکل ۲ نشان داده شده است. پس از فرآیند ازن کافت، نمونه‌ها در آن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۰°C خشک و در کیسه‌های پلاستیکی درب‌دار در مکان خشک و خنک برای انجام آزمون اندازه‌گیری لیگنین نگهداری شدند.

در نظر گرفته شد (García-Cubero *et al.*, 2009, 2012; Travaini *et al.*, 2013; Huang *et al.*, 2017) عامل‌های متغیر با توجه به مقالات و پژوهش‌های انجام شده توسط سایر پژوهشگران با استفاده از نرم افزار دیزاین اکسپرت<sup>۱</sup> با روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی<sup>۲</sup> با ۵ عامل در ۳ سطح بررسی شدند. مقادیر واقعی و کدشده متغیرهای مستقل و سطوح آن‌ها در جدول (۱) آورده شده است. فرآیند ازن کافت در یک راکتور استوانه‌ای بستر ثابت<sup>۳</sup> از جنس پلکسی گلاس<sup>۴</sup> شفاف به قطر داخلی ۱۱ سانتی‌متر و ارتفاع ۴۵ سانتی‌متر با درب مهر و موم شده در مقیاس آزمایشگاهی انجام شد. طرح کلی راکتور و اجزای تشکیل دهنده آن در شکل ۱ قابل مشاهده است. در این پژوهش از دستگاه تولیدکننده گاز اکسیژن با خلوص زیاد (۳ ± ۹۳ درصد) و ژنراتور ازن (ARION, ODS-1300p, 220v, Iran) استفاده شد. ۱۰۰ گرم کاه گندم (وزن خشک) برای

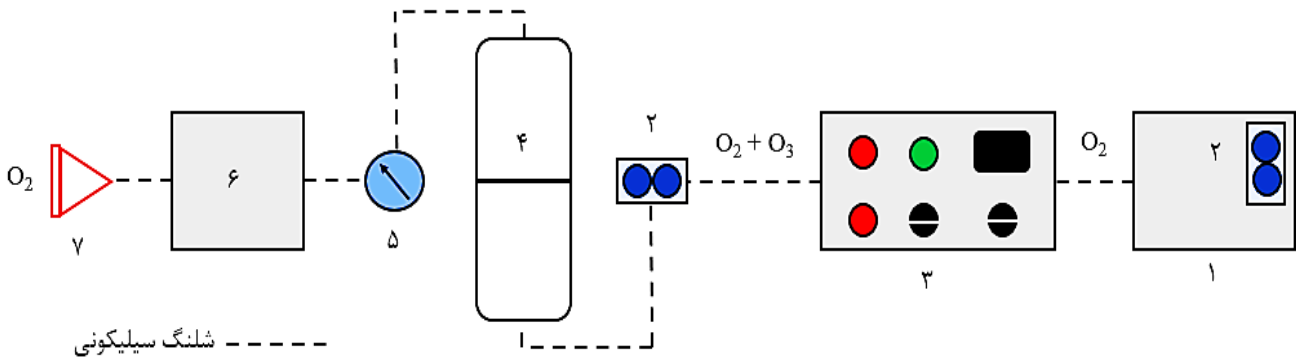
جدول ۱- متغیرهای مستقل و مقادیر واقعی و کدشده آن‌ها

سطوح			پارامترها	متغیرهای مستقل (واحد)
-۱	۰	+۱		
۱	۲	۳	X <sub>1</sub>	نرخ تولید ازن (g/h)
۱۵	۳۰	۴۵	X <sub>2</sub>	زمان (min)
۰	۳	۶	X <sub>3</sub>	نرخ جریان ازن / اکسیژن (L/min)
۱۰۰	۲۰۰	۳۰۰	X <sub>4</sub>	محتوای رطوبت (% w/w)
۰	۱/۵	۳	X <sub>5</sub>	مقدار اوره (% w/w)



شکل ۱- طرح کلی راکتور ازن کافت: الف) تصویر واقعی، ب) طرح‌واره

(۱) شیر خروجی مخلوط گاز ازن / اکسیژن، (۲) پیچ و مهره، (۳) درب متحرک از جنس تفلون، (۴) اورینگ سیلیکونی، (۵) دستگیره آلومینیومی، (۶) ظرف نگهداری نمونه، (۷) کاه گندم مرطوب، (۸) توری پلاستیکی دو لایه، (۹) بدنه راکتور از جنس پلکسی گلاس، (۱۰) پایه نگهدارنده، (۱۱) درب ثابت از جنس تفلون، (۱۲) شیر ورودی مخلوط گاز ازن / اکسیژن



شکل ۲- طرح کلی سامانه فرآیند ازن کافت: (۱) اکسیژن ساز، (۲) جریان سنج، (۳) ژنراتور ازن، (۴) راکتور ازن کافت، (۵) فشارسنج، (۶) منهدم کننده، (۷) دریچه خروج گاز اکسیژن

### اندازه گیری لیگنین زدایی

لیگنین نامحلول اسید<sup>۱</sup>، از طریق حل شدن سلولز نمونه‌ها (۵/گرم) در ۱۰۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد به مدت ۳ ساعت در دمای محیط و با روش اختلاف وزن اندازه گیری شد (Van Soest *et al.*, 1991). درصد لیگنین زدایی نمونه‌ها نیز با اختلاف لیگنین نمونه از لیگنین شاهد (۱۶/۴۰ درصد) مطابق رابطه ۴ محاسبه شد.

(رابطه ۴)

$$Delignification (\%) = \frac{Lignin_{control} - Lignin_{sample}}{Lignin_{control}} \times 100$$

### طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل آماری

برازش سطوح پاسخ و بهینه سازی فرآیند ازن کافت با استفاده از نرم افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۱۱ (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA) با روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی (CCD) مرکز وجه<sup>۲</sup> ( $\alpha=1$ ) انجام شد. روش سطح پاسخ به منظور یافتن حالت بهینه برهمکنش عامل‌ها و برآورد شرایط بهینه فرآیند با کمترین تعداد آزمایش‌ها انجام می‌شود. در این پژوهش از روش سطح پاسخ به منظور بررسی ارتباط بین پنج متغیر مستقل نرخ تولید ازن (۱، ۲ و ۳ گرم بر ساعت)، زمان ازن دهی (۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه)، نرخ جریان ازن / اکسیژن (۰، ۳ و ۶ لیتر بر دقیقه)، محتوای رطوبت (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ درصد وزنی) و مقدار اوره (۰، ۱/۵ و ۳ درصد وزنی) با یک متغیر پاسخ (وابسته) درصد لیگنین زدایی استفاده شد. هر عامل در طرح مرکب مرکزی مرکز وجه، در سه سطح مختلف (-۱، ۰ و +۱)، دو نقطه محوری ( $a+$  و  $-a$ ) و هشت تکرار در نقطه مرکزی برای

تخمین خطای آزمایش بررسی شد. طرح CCD این آزمایش، شامل ۸ نقطه مرکزی، ۱۰ نقطه محوری<sup>۳</sup> و ۳۲ نقطه حقیقی<sup>۴</sup> به منظور فراهم آوردن اطلاعاتی در مورد مرزهای داخلی نواحی آزمایشی بود که موجب شد اثرات انحنایی<sup>۵</sup> نیز مورد بررسی قرار گیرد (Sarlaki *et al.*, 2021).

تعداد کل آزمایش‌های مورد نیاز برای طرح CCD از رابطه ۵ محاسبه شد (Box & Hunter, 1957).

(رابطه ۵)

$$N = 2^n + 2n + n_c = 2^5 + (2 \times 5) + 8 = 50$$

که N تعداد کل آزمایش‌ها، n تعداد متغیرهای مستقل،  $2^n$ ،

و  $2n$  و  $n_c$  به ترتیب تعداد نقاط حقیقی، محوی و مرکزی هستند. در خروجی این طراحی مطابق رابطه ۵، تعداد ۵۰ واحد آزمایشی توسط نرم افزار تعیین و آزمایش‌ها انجام شد که یافته‌های آن‌ها در جدول ۲ آورده شده است.

کیفیت مدل برازش شده با استفاده از آزمون معنی داری و آنالیز واریانس (ANOVA) ارزیابی شد. رابطه ۶ مدل پاسخ درجه دوم برازش شده را نشان می‌دهد.

(رابطه ۶)

$$Y_k = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j$$

که  $Y_k$  متغیر وابسته یا پاسخ مدل، k تعداد متغیرهای مستقل،  $\beta_0$ ،  $\beta_i$ ،  $\beta_{ii}$ ،  $\beta_{ij}$ ،  $\beta_{ij}$  به ترتیب، ضریب رگرسیون برای عامل ثابت (عرض از مبدأ)، ضرایب اثرات خطی، ضرایب اثرات درجه‌ی دوم، ضریب اثرات برهمکنش و  $X_i$  و  $X_j$  متغیرهای مستقل هستند (Yang *et al.*, 2009).

کدگذاری متغیرها مطابق با رابطه ۷ انجام شد (Napier-

4. Factorial  
5. Curvature effect

1. Acid Detergent Lignin (ADL)  
2. Face Centered  
3. Axial

اگر پاسخ از نوع "بیشینه" بهترین باشد، مطلوبیت خاص مطابق با رابطه ۱۰ تعریف می‌شود.

$$\begin{cases} d_i = 0 & \text{if } y_i \leq L_i \\ d_i = (y_i - L_i/T_i - L_i)^p & \text{if } L_i \leq y_i \leq T_i \\ d_i = 1 & \text{if } y_i \geq T_i \end{cases} \quad (\text{رابطه ۱۰})$$

در نهایت اگر پاسخ از نوع "کمینه" بهترین باشد، مطلوبیت خاص (d<sub>i</sub>) مطابق با رابطه ۱۱ بیان می‌شود.

$$\begin{cases} d_i = 1 & \text{if } y_i \leq T_i \\ d_i = (y_i - U_i/T_i - U_i)^q & \text{if } T_i \leq y_i \leq U_i \\ d_i = 0 & \text{if } y_i \geq U_i \end{cases} \quad (\text{رابطه ۱۱})$$

که L<sub>i</sub>، U<sub>i</sub> و T<sub>i</sub> به ترتیب مقادیر کمینه، بیشینه و هدف برای پاسخ مورد نظر y<sub>i</sub> با محدوده L<sub>i</sub> ≤ y<sub>i</sub> ≤ U<sub>i</sub> هستند.

درصد تأثیرگذاری هر یک از عامل‌ها مطابق رابطه ۱۲ محاسبه شدند.

$$\text{Contribution factor (\%)} = \frac{SS_f}{SS_T} \quad (\text{رابطه ۱۲})$$

که SS<sub>f</sub> و SS<sub>T</sub> به ترتیب مجموع مربعات عامل مورد نظر و کل عامل‌ها است

### نتایج و بحث

در این پژوهش از روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی مرکز وجه به منظور تجزیه و تحلیل و بهینه‌سازی لیگنیزدایی توسط فرآیند ازن کافت استفاده شد. برای متغیر پاسخ یک مدل مرتبه دوم توسط نرم‌افزار با بیشترین R<sup>2</sup> و کمترین انحراف معیار<sup>۱</sup> و مجموع مربعات باقیمانده پیش‌بینی شده<sup>۲</sup> پیشنهاد شد (جدول ۳). تجزیه و تحلیل واریانس و ضرایب رگرسیون تخمین‌زده شده مدل مرتبه دوم کاهش یافته<sup>۳</sup> با سطح معنی‌داری (P < ۰/۰۱) برای متغیر پاسخ لیگنیزدایی در جدول ۴ آورده شده است. کاهش یافتن مدل با استفاده از گزینه گام به گام<sup>۴</sup> برای نمایش تنها اثرات متغیرهای معنی‌دار و مؤثر در مدل انجام شد. علامت مثبت و منفی ضرایب رگرسیون تخمین‌زده شده از مدل به ترتیب دارای مفهوم تأثیر مستقیم و غیر مستقیم متغیرهای مستقل بر متغیر پاسخ است. همچنین با توجه به اینکه مدل بر اساس داده‌های کد شده بدست آمده است، مقدار بزرگی ضرایب، تأثیر بیشتر متغیر مستقل بر متغیر پاسخ را نشان می‌دهد (Chen et al., 2008)

یافته‌های آزمایش تأثیر ۵ متغیر مستقل نرخ تولید ازن، زمان ازن‌دهی، نرخ جریان، محتوای رطوبت و مقدار اوره بر درصد لیگنیزدایی در جدول ۲ ارائه شده است. کمترین و بیشترین درصد لیگنیزدایی به ترتیب در واحد آزمایشی ۲۴ با ۷/۳ درصد

(Munn, 2000)

$$x_i = \frac{(X_i - X_0)}{\Delta X_i} \quad (\text{رابطه ۷})$$

که در آن X<sub>0</sub> و X<sub>i</sub>، x<sub>i</sub> به ترتیب مقدار اُمین متغیر مستقل کد شده (بدون بعد)، کد نشده و واقعی در نقطه مرکزی و ΔX<sub>i</sub> تغییر گام است (Sen, 1997).

### تابع مطلوبیت

رویکرد تابع مطلوبیت روشی برای تعیین همزمان مقادیر بهینه متغیرهای ورودی است که می‌تواند سطوح عملکرد مطلوب را برای یک یا چند پاسخ تعیین کند (Mourabet et al., 2017). روش مطلوبیت شامل دو مرحله است: (۱) یافتن سطوح متغیرهای مستقل که به‌طور همزمان مطلوب‌ترین پاسخ‌های پیش‌بینی‌شده را روی متغیرهای وابسته ایجاد می‌کنند و (۲) مطلوبیت کلی را با توجه به متغیرهای مستقل قابل کنترل به بیشینه می‌رسانند. رویکرد تابع مطلوبیت در ابتدا توسط Harrington (1965) ارائه شد. سپس یک نسخه جدیدی از آن توسط Derringer & Suich (1980) توسعه داده شد. رویکرد کلی در ابتدا تبدیل هر پاسخ (y<sub>i</sub>) به یک تابع مطلوبیت خاص (d<sub>i</sub>) در دامنه محدود 0 ≤ d<sub>i</sub> ≤ 1 است.

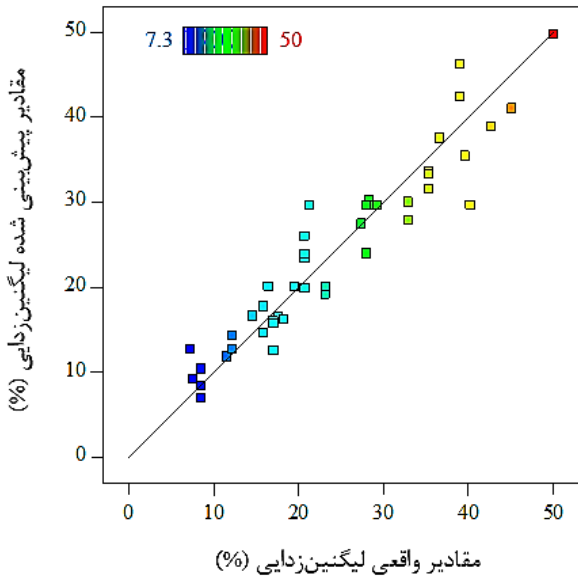
$$D = (d_1 \times d_2 \times \dots \times d_n)^{\frac{1}{n}} \quad (\text{رابطه ۸})$$

در رابطه ۸، n تعداد پاسخ‌های اندازه‌گیری است. اگر پاسخ y<sub>i</sub> هدف مورد نظر باشد d<sub>i</sub> = 1 است و اگر پاسخ خارج از یک محدوده قابل قبول باشد d<sub>i</sub> = 0 می‌شود. سپس متغیرهای طراحی برای بیشینه کردن مطلوبیت کلی انتخاب می‌شوند (Derringer & Suich, 1980). بسته به اینکه یک پاسخ خاص (y<sub>i</sub>) به‌منظور بیشینه‌سازی، کمینه‌سازی یا تعیین مقدار هدف استفاده شود، توابع مختلف مطلوبیت d<sub>i</sub>(y<sub>i</sub>) توسط Derringer & Suich (1980) پیشنهاد شده است.

اگر پاسخ از نوع "هدف" بهترین باشد، تابع مطلوبیت خاص آن مطابق رابطه ۹ محاسبه می‌شود.

$$\begin{cases} d_i = (y_i - L_i/T_i - L_i)^p & \text{if } L_i \leq y_i \leq T_i \\ d_i = (y_i - U_i/T_i - U_i)^q & \text{if } T_i \leq y_i \leq U_i \\ d_i = 1 & \text{if } y_i = T_i \\ d_i = 0 & \text{if } y_i = L_i \text{ or } y_i = U_i \end{cases} \quad (\text{رابطه ۹})$$

که p و q میزان اهمیت رسیدن به مقدار هدف را تعیین می‌کنند.



شکل ۳- تطابق یافته‌های حاصل از مدل و آزمایش‌های تجربی بر لیگنین-زدایی

و واحد آزمایشی ۳۰ با ۵۰ درصد لیگنین‌زدایی بدست آمد. مقایسه مقادیر مشاهده شده با مقادیر پیش‌بینی شده بیانگر همبستگی زیاد ( $R^2 = 0/90$ ) بین یافته‌های بدست آمده با روش تجربی و مقادیر پیش‌بینی شده با روش آماری است که اعتبار زیاد مدل را نشان می‌دهد (شکل ۳). مدل نهایی پیش‌بینی تأثیر متغیرهای مستقل نرخ تولید ازن ( $X_1$ )، زمان ازن‌دهی ( $X_2$ )، نرخ جریان ( $X_3$ )، محتوای رطوبت ( $X_4$ ) و مقدار اوره ( $X_5$ ) بر لیگنین‌زدایی ( $Y$ ) با حذف عوامل غیرمعنی‌دار در رابطه ۱۳ نشان داده شده که در آن ضرایب به‌صورت کدگذاری شده هستند.

$$Y (\%) = +29.65 + 3.68X_1 + 1.81X_2 + 7.68X_3 - 5.77X_4 + 1.33X_2X_3 - 1.20X_2X_4 - 4.16X_3X_4 - 1.74X_4X_5 - 7.32C^2 \quad (13)$$

جدول ۲- آزمایش‌های طراحی شده و یافته‌های حاصل از آن‌ها

متغیر پاسخ (پیش‌بینی)	متغیر پاسخ (مشاهدات)	متغیرهای مستقل					نوع نقاط	واحد آزمایش	متغیر پاسخ (پیش‌بینی)	متغیر پاسخ (مشاهدات)	متغیرهای مستقل					نوع نقاط	واحد آزمایش
		$X_5$	$X_4$	$X_3$	$X_2$	$X_1$					$X_5$	$X_4$	$X_3$	$X_2$	$X_1$		
۱۱/۸	۱۱/۶	۰	۳۰۰	۰	۱۵	۱	حقیقی	۲۶	۱۴/۷	۱۵/۹	۱/۵	۲۰۰	۰	۳۰	۲	محوری	۱
۱۶/۶	۱۴/۶	۳	۳۰۰	۶	۴۵	۱	حقیقی	۲۷	۲۰/۱	۲۳/۲	۰	۳۰۰	۶	۴۵	۱	حقیقی	۲
۱۶/۲	۱۸/۳	۰	۳۰۰	۶	۱۵	۱	حقیقی	۲۸	۲۹/۷	۴۰/۲	۰	۲۰۰	۳	۳۰	۲	محوری	۳
۱۲/۵	۱۷/۱	۰	۱۰۰	۰	۴۵	۱	حقیقی	۲۹	۴۲/۳	۳۹/۰	۳	۱۰۰	۶	۴۵	۱	حقیقی	۴
۴۹/۷	۵۰/۰	۳	۱۰۰	۶	۴۵	۳	حقیقی	۳۰	۴۱/۰	۴۵/۱	۳	۱۰۰	۶	۱۵	۳	حقیقی	۵
۳۵/۴	۳۹/۷	۱/۵	۱۰۰	۳	۳۰	۲	محوری	۳۱	۱۷/۷	۱۵/۹	۰	۳۰۰	۰	۴۵	۳	حقیقی	۶
۳۰/۰	۳۳/۰	۱/۵	۲۰۰	۶	۳۰	۲	محوری	۳۲	۶/۹	۸/۵	۳	۳۰۰	۰	۴۵	۱	حقیقی	۷
۱۶/۰	۱۷/۱	۳	۱۰۰	۰	۴۵	۱	حقیقی	۳۳	۱۹/۹	۲۰/۷	۰	۱۰۰	۰	۴۵	۳	حقیقی	۸
۱۰/۴	۸/۵	۰	۳۰۰	۰	۴۵	۱	حقیقی	۳۴	۲۹/۷	۲۱/۳	۱/۵	۲۰۰	۳	۳۰	۲	مرکزی	۹
۴۶/۲	۳۹/۰	۰	۱۰۰	۶	۴۵	۳	حقیقی	۳۵	۱۹/۲	۲۳/۲	۰	۳۰۰	۰	۱۵	۳	حقیقی	۱۰
۲۵/۰	۲۰/۷	۱/۵	۲۰۰	۳	۳۰	۱	محوری	۳۶	۲۹/۷	۲۹/۳	۱/۵	۲۰۰	۳	۳۰	۲	مرکزی	۱۱
۱۵/۷	۱۷/۱	۳	۳۰۰	۰	۱۵	۳	حقیقی	۳۷	۲۳/۴	۲۰/۷	۳	۱۰۰	۰	۴۵	۳	حقیقی	۱۲
۲۷/۸	۳۲/۹	۱/۵	۲۰۰	۳	۱۵	۲	محوری	۳۸	۱۶/۵	۱۷/۷	۰	۱۰۰	۰	۱۵	۳	حقیقی	۱۳
۱۴/۳	۱۲/۲	۳	۳۰۰	۰	۴۵	۳	حقیقی	۳۹	۳۰/۲	۲۸/۴	۰	۱۰۰	۶	۱۵	۱	حقیقی	۱۴
۲۳/۹	۲۰/۷	۱/۵	۳۰۰	۳	۳۰	۲	محوری	۴۰	۲۹/۷	۲۹/۳	۱/۵	۲۰۰	۳	۳۰	۲	مرکزی	۱۵
۲۰/۱	۱۶/۵	۳	۳۰۰	۶	۱۵	۳	حقیقی	۴۱	۸/۳	۸/۵	۳	۳۰۰	۰	۱۵	۱	حقیقی	۱۶
۲۳/۶	۲۰/۷	۰	۳۰۰	۶	۱۵	۳	حقیقی	۴۲	۳۷/۵	۳۶/۶	۰	۱۰۰	۶	۱۵	۳	حقیقی	۱۷
۳۸/۹	۴۲/۷	۰	۱۰۰	۶	۴۵	۱	حقیقی	۴۳	۲۹/۷	۲۸/۱	۳	۲۰۰	۳	۳۰	۲	محوری	۱۸
۲۹/۷	۲۸/۱	۱/۵	۲۰۰	۳	۳۰	۲	مرکزی	۴۴	۲۴/۰	۲۸/۱	۳	۳۰۰	۶	۴۵	۳	حقیقی	۱۹
۳۳/۶	۳۵/۴	۳	۱۰۰	۶	۱۵	۱	حقیقی	۴۵	۲۹/۷	۲۸/۱	۱/۵	۲۰۰	۳	۳۰	۲	مرکزی	۲۰
۳۳/۳	۳۵/۴	۱/۵	۲۰۰	۳	۳۰	۳	محوری	۴۶	۹/۲	۷/۵	۰	۱۰۰	۰	۱۵	۱	حقیقی	۲۱
۳۱/۵	۳۵/۴	۱/۵	۲۰۰	۳	۴۵	۲	محوری	۴۷	۲۹/۷	۲۸/۱	۱/۵	۲۰۰	۳	۳۰	۲	مرکزی	۲۲
۲۹/۷	۲۸/۷	۱/۵	۲۰۰	۳	۳۰	۲	مرکزی	۴۸	۲۹/۷	۲۸/۷	۱/۵	۲۰۰	۳	۳۰	۲	مرکزی	۲۳
۱۲/۷	۱۲/۲	۳	۳۰۰	۶	۱۵	۱	حقیقی	۴۹	۱۲/۶	۷/۳	۳	۱۰۰	۰	۱۵	۱	حقیقی	۲۴
۲۰/۰	۱۹/۵	۳	۱۰۰	۰	۱۵	۳	حقیقی	۵۰	۲۷/۴	۲۷/۴	۰	۳۰۰	۶	۴۵	۳	حقیقی	۲۵



جدول ۳- یافته‌های آنالیز آماری مدل برازش یافته بر پاسخ لیگنین‌زدایی

مدل	انحراف معیار	ضریب تبیین <sup>۱</sup>	ضریب تبیین اندازه‌گیری شده <sup>۲</sup>	ضریب تبیین پیش‌بینی شده <sup>۳</sup>	مجموع مربعات باقیمانده پیش‌بینی شده
درجه دوم	۳/۹۱	۰/۹۲	۰/۸۷	۰/۷۴	۱۴۶۲/۰۰
برهمکنش دو عاملی <sup>۴</sup>	۵/۶۴	۰/۸۱	۰/۷۲	۰/۶۰	۲۲۳۴/۳۷
خطی <sup>۵</sup>	۶/۵۴	۰/۶۶	۰/۶۳	۰/۵۶	۲۴۷۶/۱۷

جدول ۴- تجزیه واریانس و ضرایب رگرسیون تخمین‌زده شده مدل مرتبه دوم کاهش یافته برای متغیر پاسخ لیگنین‌زدایی

منبع تغییرات	درجه آزادی	ضرایب رگرسیون	مجموع مربعات	میانگین مربعات	تأثیرگذاری (درصد)	ارزش F	ارزش P
مدل	۹		۵۰۴۵/۸۴	۵۶۰/۶۵		۴۰/۳۸	< ۰/۰۰۰۱
نرخ تولید ازن	۱	+۳/۶۸	۴۶۰/۲۹	۴۶۰/۲۹	۸/۲۲	۳۳/۱۵	< ۰/۰۰۰۱
زمان	۱	+۱/۸۱	۱۱۱/۹۱	۱۱۱/۹۱	۲/۰۰	۸/۰۶	۰/۰۰۷۱۰
نرخ جریان ازن / اکسیژن	۱	+۷/۶۸	۲۰۰۴/۷۰	۲۰۰۴/۷۰	۳۵/۷۹	۱۴۴/۳۹	< ۰/۰۰۰۱
محتوای رطوبت	۱	-۵/۷۷	۱۱۳۲/۶۸	۱۱۳۲/۶۸	۲۰/۲۲	۸۱/۵۸	< ۰/۰۰۰۱
زمان × نرخ تولید ازن	۱	+۱/۳۳	۵۶/۶۷	۵۶/۶۷	۱/۰۱	۴/۰۸	۰/۰۵۰۱۰
محتوای رطوبت × زمان	۱	-۱/۲۰	۴۶/۳۵	۴۶/۳۵	۰/۸۳	۳/۳۴	۰/۰۷۵۱۰
محتوای رطوبت × (نرخ جریان ازن / اکسیژن)	۱	-۴/۱۶	۵۵۲/۹۹	۵۵۲/۹۹	۹/۸۷	۳۹/۸۳	< ۰/۰۰۰۱
مقدار اوره × محتوای رطوبت	۱	-۱/۷۴	۹۶/۵۶	۹۶/۵۶	۱/۷۲	۶/۹۵	۰/۰۱۱۸۰
(نرخ جریان ازن / اکسیژن) <sup>۲</sup>	۱	-۷/۳۲	۵۸۳/۶۹	۵۸۳/۶۹	۱۰/۴۲	۴۲/۰۴	< ۰/۰۰۰۱
باقیمانده	۴۰		۵۵۵/۳۷	۱۳/۸۸	۹/۹۲		
عدم برازش	۳۳		۵۰۷/۸۲	۱۵/۳۹	۹/۰۷	۲/۲۷	۰/۱۳۱۲
خطای خالص	۷		۴۷/۵۴	۶/۷۹	۰/۸۵		
کل	۴۹		۵۶۰/۱۲۱		۱۰۰		
انحراف معیار		۳/۷۳					
ضریب تغییرات		۱۵/۱۰					
ضریب تبیین		۰/۹۰					
ضریب تبیین اندازه‌گیری شده		۰/۸۷					
ضریب تبیین پیش‌بینی شده		۰/۸۲					

عامل‌های آزمایش نیز نشان داد که نرخ جریان، محتوای رطوبت، نرخ تولید ازن و زمان ازن‌دهی به ترتیب بیشترین تأثیر معنی‌دار را بر لیگنین‌زدایی داشتند.

شکل پرشیدگی<sup>۶</sup> مقایسه اثرات همه متغیرهای مستقل حول نقطه مرکزی در شکل ۴ نشان داده شده است. شیب یا انحنای خط در شکل نشان‌دهنده حساس بودن پاسخ به عامل مورد نظر است. هر چه شیب خط تندتر باشد، پاسخ نسبت به متغیر حساس‌تر است و خط نسبتاً صاف، غیرحساس بودن پاسخ را به تغییر آن متغیر خاص نشان می‌دهد. همان‌طور که

### تأثیر متغیرهای مستقل بر لیگنین‌زدایی

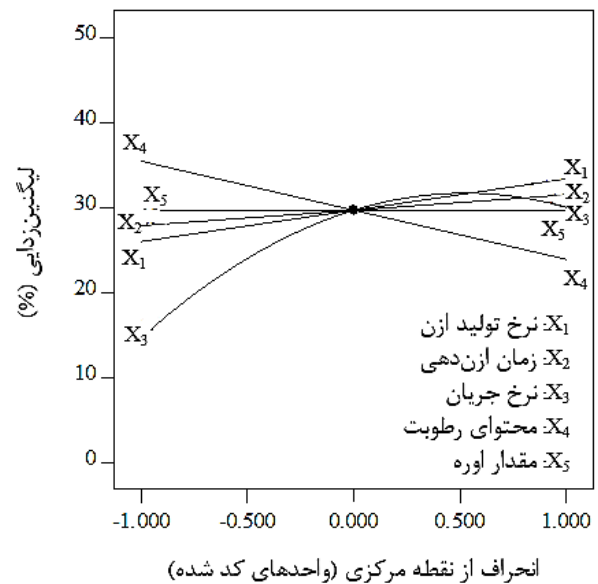
یافته‌های تجزیه و تحلیل واریانس در جدول ۴ نشان داد که ارزش P برای مدل ( $P < ۰/۰۱$ ) و برای عدم برازش داده‌ها با مدل ( $P < ۰/۰۵$ )  $P >$ ، تأییدی بر تطابق خوب مدل با داده‌های آزمایشی بدست آمده است. همچنین اثرات متغیرهای مستقل نرخ تولید ازن، زمان ازن‌دهی و محتوای رطوبت به شکل خطی ( $P < ۰/۰۱$ )، نرخ جریان ( $P < ۰/۰۱$ ) به شکل درجه دوم، برهمکنش متغیرهای نرخ جریان - محتوای رطوبت ( $P < ۰/۰۱$ ) و محتوای رطوبت - مقدار اوره ( $P < ۰/۰۵$ ) معنی‌دار شدند. درصد تأثیرگذاری هر یک از

1. Coefficient of Determination ( $R^2$ )  
 2. Adjusted  $R^2$   
 3. Predicted  $R^2$   
 4. Two Factor Interaction (2FI)  
 5. Linear  
 6. Perturbation

(2015). همچنین Souza-Correa *et al.* (2013) گزارش کردند که مصرف ازن با زمان واکنش در یک روش مشابه برای انواع زیست توده متفاوت است. آن‌ها در ابتدای واکنش بین ازن و لیگنین، بیشترین لیگنین زدایی و نرخ هیدرولیز آنزیمی را با مصرف سریع و کامل ازن توسط نمونه بدست آوردند. پس از مدتی، یک دوره تثبیت مشاهده کردند که مصرف ازن به سرعت کاهش و لیگنین زدایی و عملکرد انتشار قند بسیار کند افزایش یافت. در نهایت، پلیمرهای قند شروع به تخریب شدن کردند و انتشار قند کاهش یافت. همچنین در مطالعات متعددی، هنگام استفاده از یک راکتور بستر ثابت، افزایش غلظت ازن نتیجه‌ای در افزایش عملکرد قند نداشت. برای مثال در بلوط قرمز، افزایش ازن از ۳ به ۳/۳۷ درصد حجمی، قابلیت هضم را از ۶۴ به ۸۹ درصد افزایش داد، در حالی که در غلظت ازن ۶/۰۸ درصد حجمی قابلیت هضم تنها ۲ درصد افزایش یافت (Neely, 1984). برای کاه گندم و چاودار، غلظت ازن ۲/۷ و ۳ درصد حجمی یافته‌های مشابهی را برای لیگنین زدایی و آزاد شدن قند ارائه داد (García-Cubero *et al.*, 2009). همچنین در پژوهش دیگر افزایش غلظت ازن از ۴۰ تا ۵۸ گرم بر لیتر، یافته‌های یکسانی از لیگنین زدایی و آزادسازی قند در گیاهان مورد استفاده برای تولید انرژی<sup>۱</sup> نشان داد که برخلاف یافته‌های پژوهش حاضر است (Panneerselvam *et al.*, 2013).

در بررسی اثر زمان ازن دهی ( $X_2$ ) بر درصد لیگنین زدایی کاه گندم، یافته‌های این پژوهش نشان داد که با افزایش زمان ازن دهی، درصد لیگنین زدایی افزایش یافت (شکل ۴). دلیل آن را می‌توان افزایش مدت زمان در معرض قرار گرفتن ذرات کاه با ازن و داشتن فرصت بیشتر برای اکسید کردن پیوندهای دوگانه لیگنین و حلقه‌های آروماتیک بیان کرد (Barrera-Martínez *et al.*, 2016). در واکنش زیست توده با ازن، گزارش شده است که ازن در ابتدا عمدتاً با لیگنین واکنش می‌دهد و نرخ واکنش به‌طور عمده به غلظت لیگنین در سطح ذرات کاه بستگی دارد. اما پس از گذشت زمان طولانی، ازن با مواد تشکیل دهنده کاه غیر از لیگنین واکنش نشان می‌دهد (Binder, 1980). (Baig *et al.*, 2015)، در بررسی اثر زمان واکنش از ۱ تا ۱۸۰ دقیقه و نرخ جریان ۱، ۲ و ۴ لیتر بر دقیقه، بیان کردند که در شروع واکنش نرخ کاهش لیگنین سریع‌تر است، زیرا دسترسی ازن به لیگنین سطحی آسان است. آن‌ها گزارش کردند که در حدود ۸۶ درصد لیگنین در نرخ جریان ۴ لیتر بر دقیقه و ۶۰ دقیقه زمان واکنش ازن با کاه گندم کاهش یافت و در طول مدت ۶۰ تا ۱۲۰ دقیقه

در شکل ۴ مشاهده می‌شود، متغیرهای نرخ تولید ازن ( $X_1$ )، زمان ازن دهی ( $X_2$ )، محتوای رطوبت ( $X_3$ ) و مقدار اوره ( $X_4$ ) دارای اثرات خطی و متغیر نرخ جریان ( $X_5$ ) دارای اثر درجه دوم است. از طرفی خط نسبتاً صاف متغیر E، تأثیر غیر معنی‌دار آن را بر لیگنین زدایی به وضوح نشان می‌دهد. همچنین تأثیر مستقیم سه متغیر  $X_1$ ،  $X_2$  و  $X_3$  با ضرایب مثبت رگرسیون به دلیل روند صعودی و تأثیر غیر مستقیم متغیر  $X_4$  با ضریب منفی و روند نزولی قابل مشاهده است. به عبارت دیگر اثر مستقل متغیرها نشان داد که با افزایش نرخ تولید ازن، زمان ازن دهی و نرخ جریان، درصد لیگنین زدایی افزایش و با افزایش مقدار رطوبت، درصد لیگنین زدایی کاهش یافت.



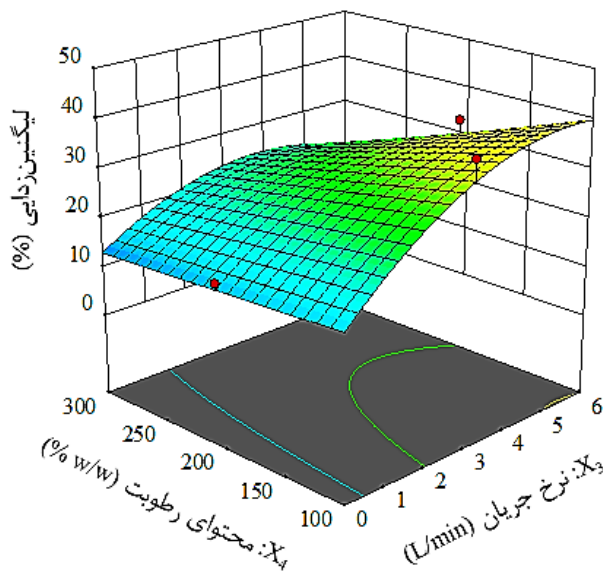
شکل ۴- پیش‌بینی مدل حول نقطه مرکزی

در بررسی اثر متغیر مستقل نرخ تولید ازن ( $X_1$ ) بر لیگنین زدایی، در شکل ۴ مشاهده می‌شود که با افزایش نرخ تولید ازن، درصد لیگنین زدایی افزایش یافت. یافته‌های Binder *et al.* (1980) نیز روی کاه گندم روند مشابهی را نشان داد. آن‌ها بیان کردند که با افزایش مصرف ازن از صفر تا ۲۰۰ میلی گرم بر گرم، مقدار لیگنین کاهش یافت. از طرفی گزارش شده است که ازن مصرفی پیچیده‌ترین متغیر برای مقایسه است، زیرا به‌طور مستقیم به عامل‌های فرآیند مانند زمان واکنش، غلظت ازن و جریان گاز ورودی وابسته است (Travaini *et al.*, 2016). در پژوهشی دیگر، از میزان مصرف ۱۰۰ تا ۲۵۰ میلی گرم ازن بر گرم علوفه ذرت استفاده کردند و رابطه‌ای بین مصرف ازن، لیگنین زدایی و عملکرد قند نیافتند، آن‌ها دلیل این پدیده را به اثر محتوای رطوبت که می‌تواند بر نرخ تجزیه ازن اثر گذارد، نسبت دادند (Li *et al.*,

بدست آوردند (Schultz-Jensen *et al.*, 2011). García-Cubero *et al.*, (2012) نیز ۵۰ درصد لیگنین زدایی کاه گندم را در یک ستون بستر ثابت با زمان واکنش ۲ ساعت بدست آوردند. از طرفی به منظور افزایش تولید هیدروژن زیستی از کاه‌های گندم و جو با ازن، پژوهشگران زمان بهینه ۴۵ دقیقه را با ۱۵۸ و ۱۶۶ درصد افزایش به ترتیب برای کاه گندم و جو در مقایسه با نمونه شاهد گزارش کردند (Wu *et al.*, 2013) و در پژوهشی در بررسی شرایط مختلف ازن کافت در کاه چاودار، مؤثرترین ازن کافت با بیشترین میزان کاه چاودار (۱۵ گرم)، غلظت کمتر ازن ( $100 \text{ gO}_3/\text{m}^3$ ) و طولانی‌ترین دوره زمانی (۶۰ دقیقه) گزارش شد (Domański *et al.*, 2017).

#### تأثیر برهمکنش متغیرهای مستقل بر لیگنین زدایی

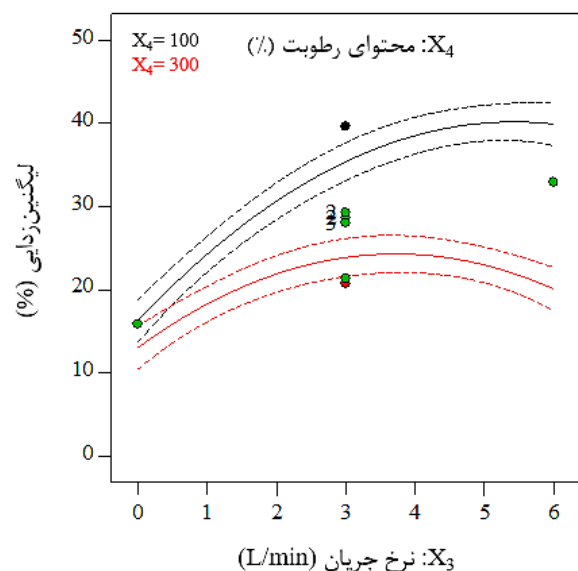
برای بررسی اثرات معنی‌دار برهمکنش متغیرهای مستقل بر متغیر پاسخ لیگنین زدایی، تنها برهمکنش‌های معنی‌دار (با ثابت بودن سه متغیر دیگر در نقطه مرکزی) به شکل منحنی‌های دو بعدی و سه بعدی (رویه) مدل برازش شده در شکل‌های ۵ و ۶ نشان داده شده است.



شکل ۵- برهمکنش‌های دو بعدی و سه بعدی عامل‌های نرخ جریان و محتوای رطوبت بر لیگنین زدایی

در بررسی برهمکنش محتوای رطوبت و نرخ جریان، کاهش در لیگنین زدایی با افزایش رطوبت در یک نرخ جریان ثابت مشاهده شد (شکل ۵). دلیل آن را می‌توان اینگونه بیان کرد که واکنش با انتقال ازن از فاز گازی به آب آزاد شروع می‌شود، سپس به آب محدود شده<sup>۲</sup> (بافتی) می‌رسد و در نهایت واکنش بین ازن و زیست‌توده لیگنوسولوزی رخ می‌دهد (Choi *et al.*, 2002; Li

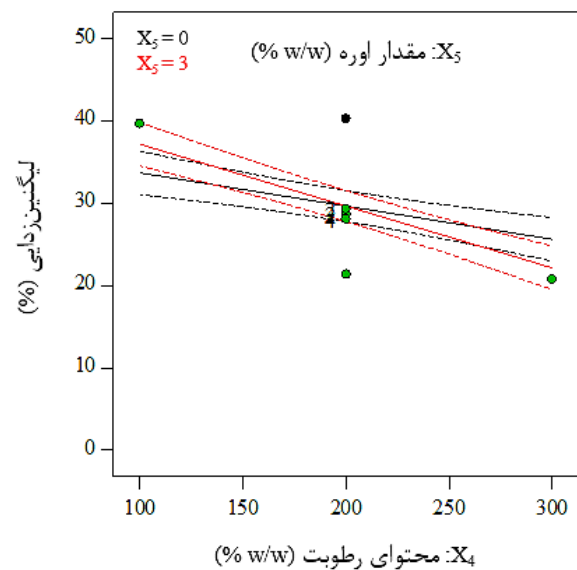
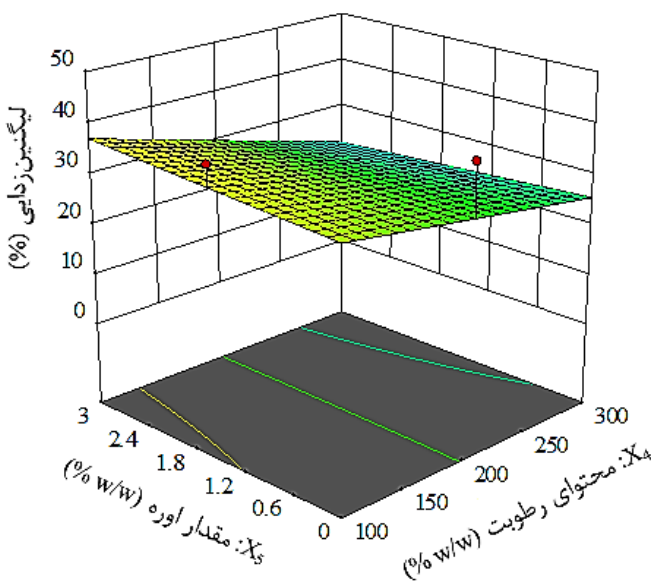
تنها ۴-۸ درصد لیگنین حذف شد. همچنین نتیجه لیگنین زدایی آن‌ها در نمونه با نرخ جریان ۲ لیتر بر دقیقه و زمان ۱۲۰ دقیقه با نمونه دیگر با نرخ جریان ۴ لیتر بر دقیقه و زمان ۹۰ دقیقه یکسان بود و با گذشت زمان بعد ۱۲۰ دقیقه روند لیگنین زدایی به ازای نرخ‌های مختلف جریان ثابت شد. مقدار زمان ازن دهی به نوع زیست‌توده وابسته است و مشاهده شده است که زمان واکنش‌های جزئی و کلی برای هر ترکیبی از عامل‌های فرآیند با توجه به نوع زیست‌توده متفاوت است. برای مثال در ازن کافت خفیف درخت سرو ژاپنی با ترکیب ازن و آب دی‌اکسان<sup>۱</sup>، مدت زمان ۱۰ تا ۳۰ دقیقه برای حذف لیگنین از بخش‌های نازک دیواره سلولی کافی بود (Yokota *et al.*, 2006). در حالیکه در ازن کافت کاه گندم و چاودار، به ترتیب عملکرد قند از ۲۹ درصد و ۱۶ درصد (شاهد) به ۸۸/۶ درصد و ۵۷ درصد، نیازمند ۲/۵ ساعت فرار گرفتن در معرض ازن بود (García-Cubero *et al.*, 2009). همچنین باگاس نیشکر پس از ۱۲۰ دقیقه پیش‌فراوری با ازن، عملکرد گلوکز را از ۶/۶۴ درصد (شاهد) به ۵۲/۴۴ درصد افزایش داد (Travaini *et al.*, 2013). در پژوهشی دیگر، عملکرد اتانول ۵۲ درصد را با ۶۰ درصد لیگنین زدایی به مدت ۳ ساعت



۲. Bounded

یافته‌های پژوهش حاضر همچنین نشان داد که در نرخ جریان‌های کمتر، اختلاف در لیگنین‌زدایی بین رطوبت‌ها کمتر بود و با افزایش نرخ جریان، میزان اختلاف تا نقطه مرکزی افزایش و لیگنین‌زدایی روند صعودی داشت و بعد از آن تقریباً روند ثابتی مشاهده شد. دلیل روند صعودی تا نقطه مرکزی را می‌توان افزایش سرعت برخورد مخلوط ازن / اکسیژن به نمونه‌ها با افزایش نرخ جریان بیان کرد. با توجه به اینکه گزارش شده است که در ابتدای پیش‌فرآوری، همه ازن در آب آزاد است و با عبور ازن از آب محدود، واکنش با زیست‌توده آغاز می‌شود (Travaini *et al.*, 2016)، بنابراین محتوای رطوبت بیشتر، زمان زیادی نیز برای آغاز واکنش نیاز دارد. از طرفی جریان ازن / اکسیژن و افزایش دمای ناشی از واکنش‌های اکسیداسیون گرماده می‌تواند اثر خشکی قابل توجهی داشته باشد و رطوبت را در طول ازن‌کافت به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد (Mamleeva *et al.*, 2009). دلیل ثابت بودن لیگنین‌زدایی بعد از نقطه مرکزی و با افزایش بیشتر نرخ جریان در این پژوهش را می‌توان سرعت بیشتر برخورد مخلوط ازن / اکسیژن به نمونه، کاهش مدت زمان ماند ازن در راکتور و تماس آن با نمونه بیان کرد که موجب ثابت ماندن درصد لیگنین‌زدایی شد. همچنین در گزارش‌ها آمده است که در این حالت یک دوره تثبیت شروع می‌شود، مصرف ازن به سرعت کاهش می‌یابد و لیگنین‌زدایی و عملکرد انتشار قند بسیار کند افزایش می‌یابد (Souza-Correa *et al.*, 2013). Ben'ko *et al.* (2017) نیز یافته‌های مشابهی را در کاهش گندم مشاهده کردند.

زیرا سطح تماس بین ازن و لیگنین نسبتاً کوچک است. در مقابل، هنگامیکه محتوای رطوبت بسیار زیاد است، ازن در اکثریت آب جذب و تجزیه می‌شود. در واقع یک پوسته ضخیم از موانع آب در منافذ زیست‌توده، منجر به زمان اقامت زیاد ازن و افزایش تجزیه آن در دیگر رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود. واکنش‌ها از مسیرهای غیر انتخابی دنبال و مصرف بیش از حد ازن را به همراه دارد (Mamleeva *et al.*, 2009). مطالعات زیادی نشان می‌دهند که مقدار رطوبت اولیه برای واکنش‌پذیری ازن با زیست‌توده لیگنوسولوزی ضروری است. در پژوهشی بیان شد که افزایش میزان رطوبت از ۳۰ تا ۹۰ درصد وزنی کارایی ازن‌کافت را بهبود بخشد و منجر به افزایش بازایی قند از ۱۳ درصد (شاهد) تا ۶۳ درصد در ذرات کاه گندم شد (Bule *et al.*, 2013). آن‌ها دلیل این افزایش را تولید رادیکال‌های  $^*OH$  واکنش‌پذیر و واکنش احتمالی  $^*OH$  در کنار ازن با لیگنین دانستند که در جای دیگر نیز گزارش شده است (Staehelin & Hoigne, 1985). همچنین، Al jibouri (2012) گزارش داد که مقدار کافی آب و بیش‌تر از محتوای رطوبت تعادلی برای فرآیند ازن‌کافت و بهبود حلالیت ازن در آب لازم و محتوای رطوبت کم مطلوب نیست. همچنین در بررسی اثر متقابل بین محتوای رطوبت و اندازه ذرات در کاه ذرت ازن‌دهی شده، یافته‌های پژوهشگران نشان داد که فعالیت آب (نسبت آب آزاد و محدود) تنظیم‌کننده رطوبت مطلوب است و برای اندازه ذرات مختلف، رطوبت بهینه متفاوتی را برای لیگنین‌زدایی بدست آوردند (Li *et al.*, 2015).



شکل ۶- برهمکنش‌های دو بعدی و سه بعدی عامل‌های محتوای رطوبت و مقدار اوره بر لیگنین‌زدایی

لیگنین‌زدایی با افزایش رطوبت کاهش یافت. همچنین تا قبل از نقطه مرکزی، با افزایش رطوبت، مقدار اوره تأثیر بیشتری بر

در بررسی برهمکنش محتوای رطوبت و مقدار اوره در پژوهش حاضر، یافته‌ها نشان داد که در مقدار ثابت اوره،

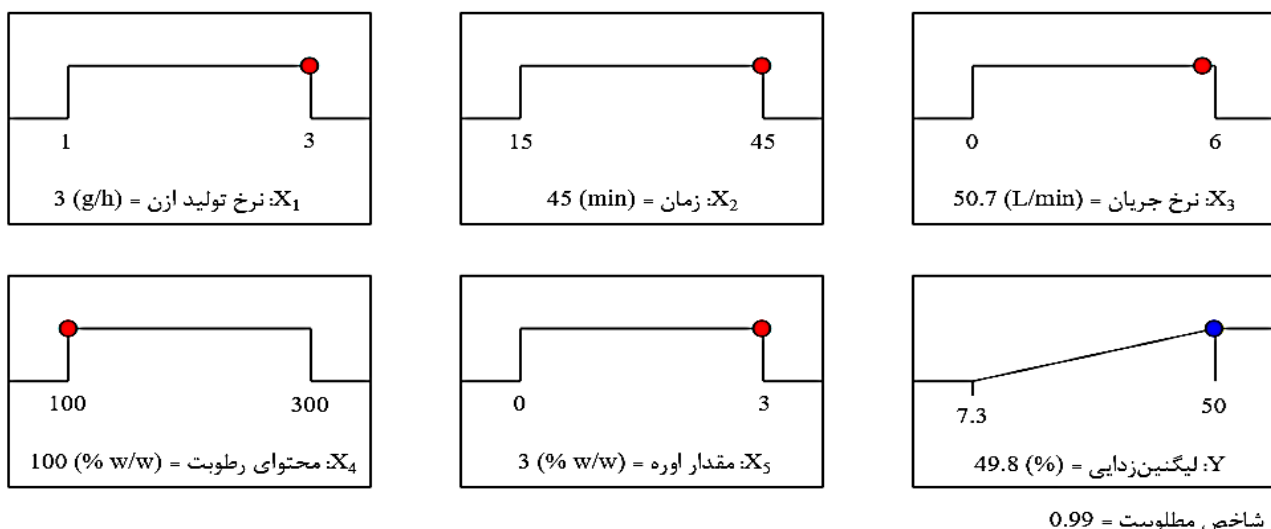
یک طرف و مقدار کم اوره مصرفی در آزمایش از طرف دیگر، موجب عدم معنی دار شدن این متغیر مستقل شدند؛ بطوریکه بین سطوح ۰ (بدون اوره)، ۱/۵ و ۳ درصد وزنی اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

#### بهینه سازی

با توجه به اهمیت زیاد لیگنین زدایی در کاربرد سوخت های زیستی و خوراک دام، در بخش بهینه سازی فرآیند از یافته های پژوهشگران مبنی بر وجود همبستگی مثبت بین لیگنین زدایی با انتشار قند برای تولید سوخت های زیستی (Osuna-Laveaga et al., 2020; Rosen et al., 2019; Heiske et al., 2013) و تولید گاز آزمایشگاهی توسط میکروارگانیسم های شکمبه برای خوراک دام (Van Kuijk et al., 2017; Nayan et al., 2018, 2019) استفاده شد. در این راستا، نقطه بهینه با تعیین بیشترین لیگنین زدایی و قرار دادن متغیرهای مستقل (نرخ تولید ازن، زمان ازن دهی، نرخ جریان، محتوای رطوبت و مقدار اوره) در محدوده خودشان<sup>۱</sup> تعیین شد. تحت شرایط بهینه، ۴۹/۸ درصد لیگنین زدایی با شاخص مطلوبیت ۰/۹۹ در نرخ تولید ازن ۳ گرم بر ساعت، زمان ازن دهی ۴۵ دقیقه، نرخ جریان ۵/۷ لیتر بر دقیقه، محتوای رطوبت ۱۰۰ درصد وزنی و مقدار اوره ۳ درصد وزنی حاصل شد (شکل ۷).

لیگنین زدایی داشت. بعد نقطه مرکزی روند معکوس شد و در نقطه مرکزی، افزایش مقدار اوره تأثیری بر لیگنین زدایی نداشت (شکل ۶). دلیل این پدیده را می توان غلظت زیادتر اوره در رطوبت های کم تر گزارش کرد که می تواند اثر بیشتری بر لیگنین زدایی داشته باشد. از طرفی در یک رطوبت ثابت، با افزایش مقدار اوره لیگنین زدایی تقریباً ثابت بوده است که دلیل آن را می توان عدم معنی داری متغیر مستقل مقدار اوره و ناشی از کاربرد مقدار کم اوره (زیر ۳ درصد وزنی) دانست که با توجه به میزان بهینه مقدار اوره برای کاربردهای خوراک دام انتخاب گردید.

مواد قلیایی با افزایش pH بیش از ۸ می توانند به خوبی ساختار لیگنین - سلولز را بشکنند (Severe & ZoBell, 2012)، زیرا در pH های بیشتر، ازن ناپایدارتر و به خوبی تجزیه شده و رادیکال های هیدروکسیل و مولکول های بسیار ناپایدار با یک الکترون جفت نشده را بوجود می آورد که می توانند به ازن در لیگنین زدایی بیشتر کمک کنند (Song et al., 2007; Mussatto, 2016). علاوه بر این، در گزارشات زیادی بیان شده است که واکنش ازن با زیست توده در ابتدای واکنش و طی یک دوره کوتاه، موجب کاهش سریع pH به دلیل تشکیل اسیدهای آلی و کربوکسیلیک می شود که نقش مهمی را در لیگنین زدایی ایفا می کنند (Binder et al., 1980; Contreras, 2002; García-Cubero et al., 2009; Yu et al., 2011). بنابراین می توان نتیجه گرفت که دو عامل کاهش سریع مقدار pH در ابتدای واکنش از



برای رسیدن به پتانسیل زیاد کاه، مانع لیگنین در دیواره سلولی باید شکسته شود. در این زمینه پژوهش ها و روش های مختلف پیش فراوری برای لیگنین زدایی انجام شده است. یافته های این پژوهش نشان داد که ازن کافت کاه گندم یک پیش فراوری

#### نتیجه گیری

کاه های لیگنوسلولزی به طور گسترده به عنوان یک منبع بزرگ برای تغذیه دام و تولید سوخت های زیستی شناخته شده است که

بررسی‌های تکمیلی جهت تعیین افزایش هیدرولیز آنزیمی در تولید سوخت‌های زیستی و مطالعات گوارش‌پذیری در بخش خوراک دام مورد استفاده قرار بگیرد.  
هیچگونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

امیدبخشی است که در شرایط بهینه می‌تواند موجب کاهش لیگنین به میزان قابل قبول (۴۹/۸ درصد) با نرخ تولید ازن ۳ گرم بر ساعت، زمان ازن‌دهی ۴۵ دقیقه، نرخ جریان ۵/۷ لیتر بر دقیقه، رطوبت ۱۰۰ درصد وزنی و مقدار اوره ۳ درصد وزنی با شاخص مطلوبیت ۰/۹۹ شود. یافته‌های این پژوهش می‌تواند در

## REFERENCES

- Ai, P., Zhang, X., Dinamarca, C., Elsayed, M., Yu, L., Xi, J. & Mei, Z. (2019). Different effects of ozone and aqueous ammonia in a combined pretreatment method on rice straw and dairy manure fiber for enhancing biomethane production. *Bioresource Technology*, 282, 275-284.
- Al jibouri, A.K.H. (2012). Effect of intermediate washing on ozonolysis delignification and enzymatic hydrolysis of wheat straw. Master Thesis, Ryerson University, Toronto, Canada.
- Al jibouri, A.K.H., Turcotte, G., Wu, J. & Cheng, C.H. (2015). Ozone pretreatment of humid wheat straw for biofuel production. *Energy Science and Engineering*, 3(6), 541-548.
- ASAE Standards: ASAE S319.3. (2006). Method of determining and expressing fineness of feed materials by sieving. (pp, 601-605).
- ASAE Standards: ASAE S358.2. (2003). Moisture measurement-forages. (pp, 607-608).
- Baig, K.S., Wu, J., Turcotte, G. & Doan, H.D. (2015). Novel ozonation technique to delignify wheat straw for biofuel production. *Energy and Environment*, 26(3), 303-318.
- Barrera-Martínez, I., Guzman, N., Pena, E., Vazquez, T., Ceron-Camacho, R., Folch, J., Salazar, J.A.H. & Aburto, J. (2016). Ozonolysis of alkaline lignin and sugarcane bagasse: Structural changes and their effect on saccharification. *Biomass and Bioenergy*, 94, 167-172.
- Ben'ko, E.M., Chukhchin, D.G. & Lunin, V.V. (2017). Ozone pretreatment and fermentative hydrolysis of wheat straw. *Zhurnal Fizicheskoi Khimii*, 91(11), 1851-1857.
- Ben'ko, E.M. & Lunin, V.V. (2020). Patterns of the ozone pretreatment of lignocellulosic biomass for subsequent fermentation into sugars. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 94(9), 1943-1948.
- Ben'ko, E.M., Chukhchin, D.G. & Lunin, V.V. (2020). Changes in wheat straw cell walls during ozone pretreatment. *Holzforchung*, 74(12), 1157-1167.
- Binder, A., Pelloni, L. & Fiechter, A. (1980). Delignification of straw with ozone to enhance biodegradability. *European journal of applied microbiology and biotechnology*, 11, 1-5.
- Box, G.E.P. & Hunter, J.S. (1957). Multi-factor experimental design for exploring response surfaces. *Annals of Mathematical Statistics*, 28, 195-241.
- 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, 3916-3925.
- Chen, X., Du, W. & Liu, D. (2008). Response surface optimization of biocatalytic biodiesel production with acid oil. *Biochemical Engineering Journal*, 40, 423-429.
- Choi, H., Lim, H.N., Kim, J., Hwang, T.M. & Kang, J.W. (2002). Transport characteristics of gas phase ozone in unsaturated porous media for in-situ chemical oxidation. *Journal of Contaminant Hydrology*, 57, 81-98.
- Contreras, S. (2002). Degradation and biodegradability enhancement of nitrobenzene and 2,4-dichlorophenol by means of advanced oxidation processes based on ozone. Ph. D Thesis, University of Barcelona.
- Das, A., Chanchal, M. & Roy, S. (2015). Pretreatment methods of ligno-cellulosic biomass: a review. *Journal of Engineering Science and Technology Review*, 8(5), 141-165.
- Derringer, G. & Suich, R. (1980). Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of Quality Technology*, 12, 214-219.
- Domański, J., Marchut-Mikołajczyk, O., Polewczyk, A. & Januszewicz, B. (2017). Ozonolysis of straw from *Secale cereale* L. for anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 245, 394-400.
- FAO. (2020). Crop Prospects and Food Situation - Quarterly Global Report No. 1, March 2020, Rome.
- García-Cubero, M.T., Coca, M., Bolado, S. & González-Benito, G. (2010). Chemical oxidation with ozone as pre-treatment of lignocellulosic materials for bioethanol production. *Chemical Engineering Transactions*, 21, 1273-1278.
- 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, 1608-1613.
- García-Cubero, M.T., Palacín, L.G., González-Benito, G., Bolado, S., Lucas, S. & Coca, M. (2012). An analysis of lignin removal in a fixed bed reactor by reaction of cereal straws with ozone. *Bioresource Technology*, 107, 229-234.
- Ghorbani, M., Aboonajmi, M., Ghorbani Javid, M. & Arabhosseini, A. (2017). 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. (In Farsi)

- Ghorbani, M., Kianmehr, M.H., Arabhosseini, A., Sarlaki, E., Asadi Alamouti, A. & Sadeghi, R. (2020a). A review on ozone: properties, effects, reaction mechanisms, environmental and safety aspects in food processing. In: Proceedings of 12<sup>th</sup> National Congress on Biosystems Engineering and Agricultural Mechanization. 5-7 February, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran. (In Farsi)
- 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 12<sup>th</sup> National Congress on Biosystems Engineering and Agricultural Mechanization. 5-7 February, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran. (In Farsi)
- 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 12<sup>th</sup> National Congress on Biosystems Engineering and Agricultural Mechanization. 5-7 February, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran. (In Farsi)
- Gitifar, V., Eslamloueyan, R. & Sarshar, M. (2013). Experimental study and neural network modeling of sugarcane bagasse pretreatment with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and O<sub>3</sub> for cellulosic material conversion to sugar. *Bioresource Technology*, 148, 47-52.
- Goede, A. & van de Sanden, R. (2016). The need for basic energy research. *Europhysics News*, 47: 22-26.
- Graves, C., Ebbesen, S.D., Mogensen, M. & Lackner, K.S. (2011). Sustainable hydrocarbon fuels by recycling CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O with renewable or nuclear energy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(1), 1-23.
- Harrington, E.C. (1965). The Desirability Function. *Industrial Quality Control*, 21, 494-498.
- Heiske, S., Schultz-Jensen, N., Leipold, F. & Schmidt, J.E. (2013). Improving anaerobic digestion of wheat straw by plasma-assisted pretreatment. *Journal of Atomic and Molecular Physics*, 2013, 7 pages.
- Huang, H., Wang, Z., Pan, S.C., Shoup, L.M., Felix, T.L., Perkins, J.B., May, O. & Singh, V. (2017). Fungal pretreatment to improve digestibility of corn stover for animal feed. *Transactions of the ASABE*, 60(3), 973-979.
- Kádár, Z., Schultz-Jensen, N., Jensen, J.S., Hansen, M.A.T., Leipold, F. & Bjerre, A.B. (2015). Enhanced ethanol production by removal of cutin and epicuticular waxes of wheat straw by plasma assisted pretreatment. *Biomass and Bioenergy*, 81, 26-30.
- Kaur, U., Oberoi, H.S., Bhargav, V.K., Sharma-Shivappa, R. & Dhaliwal, S.S. (2012). Ethanol production from alkali- and ozone-treated cotton stalks using thermotolerant *Pichia kudriavzevii* HOP-1. *Ind. Industrial Crops and Products*, 37, 219-226.
- Kumar, P., Barrett, D.M., Delwiche, M.J. & Stroeve, P. (2009). Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48(8), 3713-3729.
- Li, C., Wang, L., Chen, Z., Li, Y.Y., Wang, R., Luo, X., Cai, G., Yu, Q. & Lu, J. (2015). Ozonolysis pretreatment of maize stover: the interactive effect of sample particle size and moisture on ozonolysis process. *Bioresource Technology*, 183, 240-247.
- Maia, E.P. & Colodette, J.L. (2003). Efeito do conteúdo e da natureza da lignina residual na eficiência e na seletividade do branqueamento com ozônio. *Revista Árvore*, 27, 217-232.
- Mamleeva, N.A., Autlov, S.A., Bazarnova, N.G. & Lunin, V.V. (2009). Delignification of softwood by ozonation. *Pure and Applied Chemistry*, 81, 2081-2091.
- Miura, T., Lee, S.H., Inoue, S. & Endo, T. (2012). Combined pretreatment using ozonolysis and wet-disk milling to improve enzymatic saccharification of Japanese cedar. *Bioresource Technology*, 126, 182-186.
- Moore-Landecker, E. (1996). Fundamentals of the fungi. Prentice Hall. Simon and Schuster/Aviacom company, (pp, 376-383).
- Mourabet, M., El Rhilassi, A., El Boujaady, H., Bennani-Ziatni, M. & Taitai, A. (2017). Use of response surface methodology for optimization of fluoride adsorption in an aqueous solution by Brushite. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S3292-S3302.
- Mussatto, S.I. (2016). Biomass fractionation technologies for a lignocellulosic feedstock based biorefinery. Publisher: John Fedor. ISBN: 978-0-12-802323-5, 674 Pages.
- Napier-Munn, T.J. (2000). The central composite rotatable design JKMRC. Brisbane: The University of Queensland.
- Nayan, N., Sonnenberg, A., Hendriks, W. & Cone, J. (2018). Screening of white-rot fungi for bioprocessing of wheat straw into ruminant feed. *Journal of Applied Microbiology*, 125, 468-479.
- Nayan, N., van Erven, G., Kabel, M.A., Sonnenberg, A.S., Hendriks, W.H. & Cone, J.W. (2019). Improving ruminal digestibility of various wheat straw types by white-rot fungi. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(2), 957-965.
- Neely, W.C. (1984). Factors affecting the pretreatment of biomass with gaseous ozone. *Biotechnology and Bioengineering*, 26, 59-65.
- Osuna-Laveaga, D.R., García-Depraect, O., Vallejo-Rodríguez, R., López-López, A. & León-Becerril, E. (2020). Integrated ozonation-enzymatic hydrolysis pretreatment of sugarcane bagasse: Enhancement of sugars released to expended ozone ratio. *Processes*, 8(10), 1274.
- Panneerselvam, A., Sharma-Shivappa, R.R., Kolar, P., Ranney, T. & Peretti, S. (2013). Potential of ozonolysis as a pretreatment for energy grasses. *Bioresource Technology*, 148, 242-248.

- Pedersen, J.F., Vogel, K.P. & Funnell, D.L. (2005). Impact of reduced lignin on plant fitness. *Crop Science*, 45, 812-819.
- Rosen, Y., Mamane, H. & Gerchman, Y. (2019). Short ozonation of lignocellulosic waste as energetically favorable pretreatment. *BioEnergy Research*, 12, 292-301.
- 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, 475-489. (In Farsi)
- Sarlaki, E., Sharif Paghaleh, A., Kianmehr, M.H. & Asefpour Vakilian, K. (2019a). Extraction and purification of humic acids from lignite wastes using alkaline treatment and membrane ultrafiltration. *Journal of Cleaner Production*, 235, 712-723.
- Sarlaki, E., Sokhandan Toomaj, M., Sharif Paghaleh, A., Kianmehr, M.H. & Nikousefat, O. (2019b). Extraction of humic acid from lignite coals using stirred tank reactors (STRs): Assessment of process parameters and final product characterization. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 50, 1111-1125. (In Farsi)
- Sarlaki, E., Sharif Paghaleh, A., Kianmehr, M.H. & Asefpour Vakilian, K. (2020). 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. (2021). Valorization of lignite wastes into humic acids: Process optimization, energy efficiency and structural features analysis. *Renewable Energy*, 163, 105-122.
- Schultz-Jensen, N., Kádár, Z., Thomsen, A., Bindslev, H. & Leipold, F. (2011). Plasmaassisted pretreatment of wheat straw for ethanol production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 165, 1010-1023.
- Schultz-Jensen, N., Thygesen, A., Leipold, F., Thomsen, S.T., Roslander, C., Lilholt, H. & Bjerre, A.B. (2013). Pretreatment of the macroalgae *Chaetomorpha linum* for the production of bioethanol-comparison of five pretreatment technologies. *Bioresource Technology*, 140, 36-42.
- Sen, R.K. (1997). Response surface optimization of the critical media components for the production of surfactin. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 68, 263-270.
- Severe, J. & ZoBell, D.R. (2012). Review: Technical aspects for the utilization of small grain straws as feed energy sources for ruminants: Emphasis on beef cattle. AG/BeefCattle/2012-03, UtahState University Cooperative Extension from [www.extension.usu.edu](http://www.extension.usu.edu).
- Shariat Panahi, H.K., Dehghani, M., Aghbashlo, M., Karimi, K. & Tabatabaei, M. (2020). Conversion of residues from agro-food industry into bioethanol in Iran: An under-valued biofuel additive to phase out MTBE in gasoline. *Renewable Energy*, 145, 699-710.
- 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 Farsi)
- Shaw, M. & Tabil, L. (2006). Mechanical properties of selected biomass grinds. In: ASABE Annual International Meeting. July 9-12, Portland.
- Shi, F., Xiang, H. & Li, Y. (2015). Combined pretreatment using ozonolysis and ball milling to improve enzymatic saccharification of corn straw. *Bioresource Technology*, 179, 444-451.
- Song, S., Xia, M., He, Z., Ying, H., Lü, B. & Chen, J. (2007). Degradation of p-nitrotoluene in aqueous solution by ozonation combined with sonolysis. *Journal of Hazardous Materials*, 144, 532-537.
- Souza-Correa, J.A., Oliveira, C., Wolf, L.D., Nascimento, V.M., Rocha, J.G.M. & Amorim, J. (2013). Atmospheric pressure plasma pretreatment of sugarcane bagasse: the influence of moisture in the ozonation process. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171, 104-116.
- Staehelin, J. & Hoigne, J. (1985). Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions. *Environmental Science and Technology*, 19(12), 1206-1213.
- Sundstol, F., Coxworth, E. & Mowat, D.N. (1978). Improving the nutritive value of straw and other low-quality roughages by treatment with ammonia. *World Animal Review*, 26, 13-21.
- 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 Farsi)
- Talebnia, F., Karakashev, D. & Angelidaki, I. (2010). Production of bioethanol from wheat straw: an overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. *Bioresource Technology*, 101, 4744-4753.
- Travaini, R., Marangon-Jardim, C., Colodette, J.L., Morales-Otero, M.D. & Bolado-Rodríguez, S. (2014). In: Pandey, A., Negi, S., Binod, P. and Larroche, C. (Eds.), *Pretreatment of biomass-processes and technologies*, (pp, 105-135), Academic Press, USA.
- 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.
- Van Kuijk, S.J.A., Sonnenberg, A.S.M., Baars, J.J.P., Hendriks, W.H., del Río, J.C., Rencoret, J., Gutiérrez, A., de Ruijter, N.C.A. & Cone, J.W. (2017). Chemical changes and increased degradability of wheat straw and oak wood chips treated with the white rot fungi *Ceriporiopsis subvermispota* and *Lentinula edodes*. *Biomass and Bioenergy*, 105, 381-391.
- 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, 3583-3597.
- Wu, J., Ein-Mozaffari, F. & Upreti, S. (2013). Effect of ozone pretreatment on hydrogen production from barley straw. *Bioresource Technology*, 144, 344-349.
- Yang, Z.H., Huang, J., Zeng, G.M., Ruan, M., Zhou, C.S., Li, L. & Rong, Z.G. (2009). Optimization of flocculation conditions for kaolin suspension using the composite flocculant of MBFGA1 and PAC by response surface methodology. *Bioresource Technology*, 100(3), 4233-4239.
- Yokota, S., Iizuka, K., Ishiguri, F., Abe, Z. & Yoshizawa, N. (2006). Ozone-dioxane delignification from the cell walls of Japanese cypress (*Chamaecyparis obtuse* Endl.). *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 8, 140-144.
- Yu, Z., Jameel, H., Chang, H.M. & Park, S. (2011). The effect of delignification of forest biomass on enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 102, 9083-9089.