ازن‌کافت: یک تکنیک اکسیداسیون نوین و مؤثر برای پیش‌فرآوری زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی

مرضیه قربانی [۱*]، محمدحسین کیانمهر [۲]، اکبر عرب حسینی [۳]، احسان سرلکی [۴]، علی اسدی الموتی [۵]، رضا صادقی [۶]

۱. دانشجوی دکتری مکانیک بیوسیستم، گروه فنی کشاورزی، پردیس ابوریحان - دانشگاه تهران (marzie.ghorbani@ut.ac.ir)
۲. استاد گروه فنی کشاورزی، پردیس ابوریحان - دانشگاه تهران (kianmehr@ut.ac.ir)
۳. دانشیار گروه فنی کشاورزی، پردیس ابوریحان - دانشگاه تهران (ahosseini@ut.ac.ir)
۴. دانشجوی دکتری مکانیک بیوسیستم، پردیس ابوریحان - دانشگاه تهران (e.sarlaki685@ut.ac.ir)
۵. استادیار گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان - دانشگاه تهران (a.alamouti@ut.ac.ir)
۶. دانشیار گروه حشره‌شناسی و بیماری‌های گیاهی، پردیس ابوریحان - دانشگاه تهران (rsadeghi@ut.ac.ir)

چکیده

ازن یک اکسیدکننده شیمیایی عالی است که می‌تواند لیگنین را بدون تأثیر بر سلولز تجزیه کند. ازن‌کافت به‌عنوان یک روش پیش‌فرآوری زیست‌توده هنوز در کاربردهای صنعتی به‌خوبی مستقر و پایدار نشده است. با این وجود، یافته‌های تحقیقات نشان می‌دهند که این فن‌آوری از پتانسیل عظیمی برای استفاده در صنعت برخوردار است. اثربخشی ازن‌کافت به عوامل مختلفی ازجمله: طراحی و آرایش راکتور، شرایط فرآیند ازجمله سرعت و مصرف جریان ازن، رطوبت زیست‌توده، زمان واکنش و اندازه ذرات زیست‌توده بستگی دارد. اثرات پارامترها در پیش‌فرآوری زیست‌توده با استفاده از ازن‌دهی به‌صورت دقیق و مفهومی خلاصه شده‌اند. این عوامل می‌توانند واکنش ازن را با کربوهیدرات و لیگنین تقویت کرده و همچنین آن‌ها را به شکل فیبرهایی که برای کاربردهای پایین دستی مفید هستند، تجزیه کنند. این امکان وجود دارد که با کاهش هزینه تولید ازن و کاهش مصرف آن از طریق استفاده مؤثرتر، پیش‌فرآوری با ازن اقتصادی‌تر شده و بهبود یابد. این مقاله مروری به‌طور خلاصه آخرین یافته‌های تحقیقات را گزارش داده و درک گسترده‌ای در مورد انواع زیست-توده‌های لیگنوسلولزی و پارامترهای فرآیند لیگنین‌زدایی آن‌ها از طریق فرآیند پیش‌فرآوری ازن به‌همراه ملاحظات اقتصادی را ارائه می‌دهد.

کلمات کلیدی: *ازن، زیست‌توده لیگنوسلولزی، پیش‌فرآوری، سوخت‌های زیستی، لیگنین‌زدایی*

[*]نویسنده مسئول: marzie.ghorbani@ut.ac.ir

ازن‌کافت: یک تکنیک اکسیداسیون نوین و مؤثر برای پیش‌فرآوری زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی

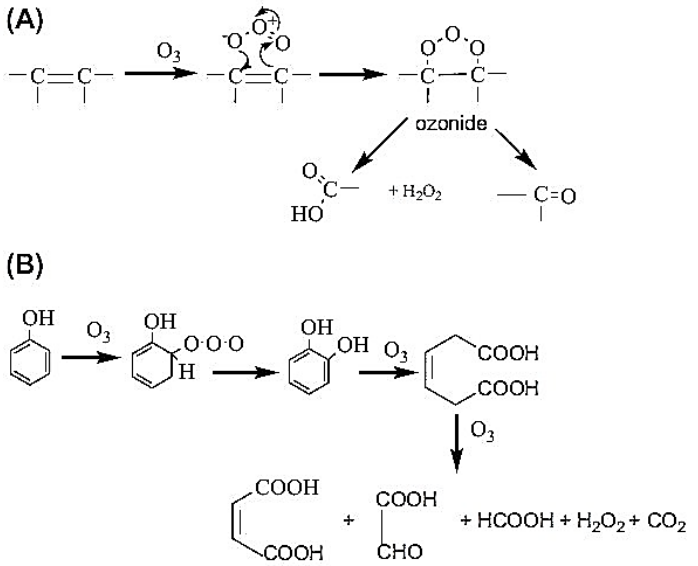
مقدمه

مواد لیگنوسلولزی یک منبع فراوان، ارزان و قابل دسترس برای تولید زیست سوخت‌ها و محصولات زیستی از طریق فرآیندهای مبتنی بر آنزیم هستند. مانع اصلی قابلیت هضم مواد لیگنوسلولزی به‌علت ساختار پیچیده دیواره سلول گیاهی است که توسط لیگنین، سلولز و همی‌سلولز تشکیل شده است و با یکدیگر همبستگی دارند [۲۱]. هیدرولیز آنزیمی مواد لیگنوسلولزی با درجه پلیمریزاسیون، محتوای رطوبت، مساحت سطح در دسترس، میزان لیگنین و درجه بلورینگی سلولز محدود می‌شود. همی‌سلولز به‌عنوان یک اتصال‌دهنده بین لیگنین و الیاف سلولز عمل می‌کند و کل شبکه سلولز، همی‌سلولز و لیگنین را استحکام بیشتری می‌دهد. لیگنین به‌عنوان یک محافظ عمل می‌کند که از هیدرولیز شدن قسمت‌های قابل هضم ماده جلوگیری کرده در نتیجه باعث کاهش کارایی هیدرولیز سلولز به قندهای کاهش‌یافته تخمیری می‌شود [۸]. برای تغییر ساختار زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی و برای دستیابی بیشتر آنزیم‌ها، یک مرحله پیش‌فرآوری قبل از هیدرولیز آنزیمی لازم است تا هیدرولیز کربوهیدرات‌ها به قندهای قابل تخمیر را بتوان سریعتر و با عملکرد بالاتری حاصل کرد. فن‌آوری‌های متنوعی برای پیش‌فرآوری زیست‌توده لیگنوسلولزی در دسترس هستند، ازجمله فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی. پیش‌فرآوری‌های نوع شیمیایی امیدوارکننده‌ترین روش به‌نظر می‌رسند [۴۲]. در میان اکسیدان‌های شیمیایی، ازن نسبت به ترکیباتی که گروه‌های عاملی با تراکم الکترونی بالا (لیگنین) دارند، بسیار واکنش‌پذیر نشان می‌دهد. تخریب لیگنین، قابلیت دسترسی آنزیم‌ها به سلولز را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، ازن یک اکسیدکننده بسیار انتخابی است و تلفات قابل‌توجهی در کربوهیدرات‌ها ایجاد نمی‌کند. مزیت دیگر این است که ازن‌کافت در دما و فشار محیط انجام می‌شود. از طرف مقابل، مقادیر بالایی از ازن برای فرآیند ضروری است، بنابراین شرایط عملیاتی باید بهینه‌سازی و از نظر مصرف انرژی، اقتصادی باشند. هدف از این مقاله، ارائه خلاصه‌ای از کاربرد ازن به‌عنوان یک فن‌آوری پیش‌فرآوری مواد لیگنوسلولزی برای تولید سوخت‌های زیستی، اثرات این اکسیدان بر ویژگی‌های زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی، تأثیر پارامترهای عملیاتی و تولید ترکیبات تجزیه شده‌ای است که می‌توانند در تبدیل مونوساکاریدها به سوخت‌های زیستی تأثیرگذار باشند.

سازو کار واکنش ازن

ازن یک گاز تحریک‌کننده، سنگین‌تر از هوا، بسیار واکنش‌پذیر و ناپایدار است و نمی‌توان آن را ذخیره و حمل کرد، بنابراین ازن باید در محل و از هوا یا اکسیژن تولید شود. ازن، یک مولکول سه اتمی غیرخطی، حدود ۱۴ برابر نسبت به اکسیژن محلول‌تر در آب، اما به‌طور قابل‌توجهی ناپایدارتر است. پایداری ازن تحت تأثیر دما، فشار، pH و قدرت یونی محلول آبی است. ساختار رزونانسی ازن که توسط اتم‌های اکسیژن انتهایی با تنها شش الکترون مشخص می‌شود، طبیعت الکتروفیلی (الکترون دوستی) قوی ازن را تعریف می‌کند. پتانسیل اکسیداسیون ازن ۲/۰۷ الکترون ولت بیشتر از هیدروژن پراکسید و اکسیژن است. ازن قوی‌ترین اکسیدان متداول موجود بوده که قادر به واکنش با بسیاری از مواد معدنی و آلی است. کاربردهای ازن از نظر تعداد و تنوع بسیار افزایش‌یافته است. این گاز برای تصفیه آب آشامیدنی، تصفیه فاضلاب صنعتی و خانگی و فرآیندهای تصفیه خاک استفاده می‌شود. با توجه به پتانسیل اکسیداسیونی آن، در فرآیندهای تولید به‌عنوان جایگزینی برای سفیدکردن پالپ (خمیر) استفاده می‌شود. ازن می‌تواند به‌عنوان یک روش پیش‌فرآوری زیست‌توده مورد استفاده قرار گیرد زیرا دارای خاصیت تجزیه‌کنندگی کربن-کربن دوگانه و پیوندهای سه گانه است [۴۳]. ازن عمدتاً به‌دلیل دو سازو کار واکنش می‌دهد: واکنش‌های مستقیم با ازن مولکولی و واکنش‌های غیرمستقیم با گونه‌های رادیکالی که در هنگام تجزیه ازن در آب تشکیل می‌شوند. واکنش‌های مستقیم انتخابی هستند و محدود به ترکیبات آروماتیک و آلیفاتیک غیراشباع و همچنین گروه‌های عاملی

خاص است. با توجه به ساختار دوقطبی آن، مولکول ازن ممکن است منجر به حلقه‌زایی ۳-۱ دوقطبی بر روی پیوندهای غیراشباع با تشکیل ازنایدها[1] بر اساس سازو کار Criegee شود (شکل ۱).



شکل ۱- سازو کار واکنش ازن با پیوندهای غیراشباع (A) و ترکیبات آروماتیک (B) [۴۰ و ۴۳]

ازنایدسپس به ترکیبات کربنیل (آلدهید یا کتون) و هیدروژن پراکسید تجزیه می‌شوند [۴۳]. ماهیت الکترون دوستی ازن نیز واکنش آن را با مکان‌های مولکولی با چگالی الکترونی بالا مانند ترکیبات آروماتیک تحریک می‌کند. آروماتیک‌های جایگزین‌شده توسط گروه‌های دهنده الکترون (گروه‌های هیدروکسیل و آمین) واکنش‌پذیری بالایی با ازن دارند. برعکس، آروماتیک‌های جایگزین با گروه‌های گیرنده الکترون (-COOH, -CN, -NO_2) واکنش‌پذیر ضعیفی با ازن دارند [۲۰]. حمله ازن موجب تشکیل کوینوئیدها[2] می‌شود که سپس بر اساس سازو کار Criegee واکنش می‌دهند و منجر به باز شدن حلقه آروماتیک و تشکیل محصولات آلیفاتیک با گروه‌های کربونیلی و کربوکسیلی می‌شوند (شکل ۱). واکنش‌های مستقیم با ازن در شرایط اسیدی و در حضور مهارکننده‌های رادیکال محدود هستند. مهارکننده‌های رایج شامل واکنش‌های رادیکال آزاد، یون‌های بی‌کربنات و کربنات، فسفات، گروه‌های آلکیل و الکل‌های سه‌گانه[3] (گروه کربن متصل به سه گروه اتم کربن دیگر) هستند. ازن در pH بالا و در حضور پراکسید هیدروژن، پرتو فرابنفش یا سایر ترکیبات (فلزات، اکسیدهای فلزی، اسید فرمیک، گروه‌های آریل[4]) تجزیه شده و گونه‌های رادیکالی را به‌وجود می‌آورد که مولکول‌های بسیار ناپایدار با یک الکترون جفت نشده هستند. تجزیه ازن در آب شامل یک سری فرآیند انتقال الکترون و اتم‌های یگانه و واسطه‌های رادیکال‌های هیدروکسیل است [۱۹]. در این شرایط، واکنش‌های غیرمستقیم و رادیکالی غیرانتخابی غالب هستند.

رادیکال بسیار واکنش‌پذیر هیدروکسیل ($OH^{\bullet}$) با پتانسیل اکسیداسیونی ۲/۸ الکترون ولت گونه‌ای متداول در این سیستم‌ها همراه با رادیکال‌های پراکسید هیدروژن (HO_2) است. سازو کار واکنش ازن با یک ماده ممکن است شامل هر دو واکنش مستقیم با ازن و واکنش-

1 Ozonides
2 Quinoids
3 Tertiary
4 Aryl groups

های غیرمستقیم با رادیکال‌های OH باشد. این مورد به این دلیل است که پروموترهای[1] واکنش‌های رادیکال آزاد مانند پراکسید هیدروژن در جریان فرآیندهای ازن‌دهی مستقیم شکل می‌گیرند.

ازن‌کافت مواد لیگنوسلولزی

واکنش‌پذیری ترکیبات لیگنوسلولزی با ازن

مواد لیگنوسلولوزی شامل چوب، علف، پسماند جنگل، باقیمانده‌های کشاورزی و پسماند جامد شهری است [۳۴]. مواد لیگنوسلولزی با ساختار پیچیده مشخص و عمدتاً شامل لیگنین، سلولز، همی سلولز، مواد استخراج‌شده و مواد معدنی هستند. ساختار و مقدار سلولز، همی-سلولز و لیگنین وابسته به گونه‌ها، بافت و بلوغ دیواره سلولی گیاهان است [۱]. علف‌ها[2] حاوی مقادیر نسبتاً زیادی سلولز هستند در حالیکه چوب‌های سخت و نرم حاوی لیگنین بیشتری است [۹]. سلولز از زیرواحدهای D-glycosis تشکیل شده است که توسط پیوندهای گلیکوزیدی β-1,4 متصل می‌شوند. اجزای سلولز دارای ساختار بلوری بوده، در حالیکه اجزا دارای یک ساختار بی‌شکل هستند [۲۱]. بلورینگی سلولز یک عامل کاهش‌دهنده هیدرولیز است. همی‌سلولز شامل پلی‌ساکاریدهای شاخه‌ای پنتوزها (زایلوز و آرابینوز) و هگزوزها (گلوکز، مانوز، گالاکتوز و اسید اوروئیک[3]) است. قندهای غالب در همی‌سلولز، مانوز در چوب نرم و زایلوز در چوب‌های سخت و پسماندهای کشاورزی هستند [۳۴ و ۴۶]. همی‌سلولز به‌عنوان یک اتصال‌دهنده بین لیگنین و الیاف سلولز عمل می‌کند و استحکام بیشتری به شبکه سلولز-همی‌سلولز-لیگنین می‌بخشد [۲۱]. در مقایسه با سلولز، همی‌سلولز یک ساختار بی‌نظم‌تر و مقاومت کمتری به هیدرولیز دارد. لیگنین یکی از مشکلات استفاده از مواد لیگنوسلولزی به‌عنوان یک ماده برای تولید سوخت‌های زیستی است، زیرا باعث می‌شود که مقاومت لیگنوسلولز در برابر تجزیه شیمیایی و بیولوژیکی بیشتر شود. در طی هیدرولیز آنزیمی، فعالیت‌های آنزیمی می‌تواند به‌علت برهمکنش آبگریز بین آنزیم‌ها و لیگنین کاهش یابد [۳۹]. حذف لیگنین می‌تواند اتصال آنزیم‌ها را به دیواره سلولی و عملکرد هیدرولیز آنزیمی افزایش دهد [۱۳]. لیگنین در تأمین پشتیبان ساختاری، نفوذناپذیری و مقاومت در برابر حملات میکروبی نقش دارد. لیگنین یک هتروپلیمر[4] پیچیده و بی‌نظم است که از مونولینول‌های coniferyl، sinapyl، و الکل‌های *p*-coumaryl تشکیل شده است. این پیش‌سازها در لیگنین به‌صورت واحدهای فنیل پروپانوئیدی گوایاسیل، سرینگیل و هیدروکسی فنیل گنجانده شده‌اند.

در لیگنین چوب نرم، عناصر ساختاری از الکل coniferyl مشتق شده‌اند. در چوب‌های سخت، نسبت‌های مختلف کنیفریل به سیناپیل مشاهده شده است، در حالیکه در کاه و علف‌ها حضور الکل *p*-coumaryl معمول است. نسبت سرینگویل به گوایاسیل یک عامل مهم است که بر پیش‌فرآوری و آزادسازی قند تأثیر می‌گذارد [۷]. لیگنین چوب نرم در واحدهای گوایاسیل تحت سلطه قرار گرفته است، در حالیکه چوب‌های سخت تقریباً مقدار مساوی از گوایاسیل و سیرینگیل دارند [۹]. اتصالات درون واحدی[5] مختلفی وجود دارد که مونولینول‌ها را برای تشکیل لیگنین ماکرومولکولی بهم پیوند می‌دهد [۷]. با این حال، ارتباطات غالب آن، β-O-4 اریل اترها[6] هستند [۳۵]. بیشترین پیوندهای شیمیایی مرتبط باهم که واحدهای فنولی را در ماکرومولکول لیگنین متصل می‌کنند، بدون ترکیبات غیر قابل هیدرولیز و یا نسبتا مقاوم به هیدرولیز ملایم هستند [۶]. لیگنین یکی از سرسخت‌ترین ترکیبات دیواره سلول گیاهی بوده و نسبت بالای لیگنین، مقاومت در برابر تجزیه شیمیایی و آنزیمی را بیشتر می‌کند. چوب نرم به‌طور کلی حاوی لیگنین بیشتری نسبت به چوب سخت می‌باشد. لیگنین می-تواند در طبیعت توسط فرآیندهای اکسیداسیون تجزیه شود [۴۰].

1 Promoters
2 Grasses
3 Uronic acids
4 Heteropolymer
5 Interunit
6 Arylethers

ازن یک واکنش‌دهنده پیشرفته برای اکسیداسیون لیگنین به‌علت واکنش آن با ترکیبات آروماتیک و غیراشباع است. مهم‌ترین اثر مهم ازن، تجزیه لیگنین است. همی‌سلولز همچنین می‌تواند خیلی کم از طریق واکنش‌های غیرانتخابی ازن تجزیه شود. همان‌طور که مقدار لیگنین کاهش می‌یابد، حل‌پذیری همی‌سلولز می‌تواند افزایش یابد، زیرا هر دو ترکیب با هم در یک ترکیب لیگنین-همی‌سلولز حل می‌شوند [۴۵].

اگرچه اتصالات گلیکوزیدها در سلولز نیز می‌تواند توسط ازن شکسته شود، سلولز خیلی سخت تحت تأثیر قرار می‌گیرد [۲۳ و ۴۵]. انتظار می‌رود که حذف لیگنین از سطوح فیبری با پیش‌فرآوری ازن، واکنش‌پذیری آنزیم‌ها با کربوهیدرات در دیواره‌های فیبر را افزایش دهد. پیش‌فرآوری ازن همچنین می‌تواند حجم کلی منافذ و همچنین مساحت سطح ویژه را افزایش دهد و این امر می‌تواند دسترسی آنزیم‌ها به دیواره‌های فیبری را بهبود بخشد [۴ و ۲۳]. مرحله اول واکنش ازن با حلقه آروماتیکی ساختار لیگنین شامل اضافه شدن الکترون دوستی با باز شدن حلقه آروماتیک بعدی و تشکیل O-quinones و مشتقات دی‌کربوکسیلیک اسید است [۶]. واکنش‌های دیگر نیز ممکن است، مانند هیدروکسیلی شدن حلقه‌های آروماتیک ساختارهای coniferylic یاp-coumarylic از لیگنین یا تجزیه اکسیداسیون گروه‌های متوکسیل [۴۳]. اعتقاد بر این است که واکنش‌های ازن با پیوندهای دوگانه کربن و بخش‌های β-O-4 سریع‌تر باشد. واکنش بعدی ازن با محصولات میانی می‌تواند در میزان بسیار کمتری رخ دهد. ازن‌کافت لیگنین در ساقه‌های ذرت، مواد شیمیایی محلول در آب مانند اسیدهای کربوکسیلیک (گلیکولیک، اگزالیک، مالیک، مالونیک[1]، گلیکسالیک[2]، گلیسریک)، اسیدهای آروماتیک (P- هیدروکسی بنزوئیک و اسید وانیلیک) و آلدئیدهای آروماتیک (هیدروکسی بنزیلدئید[3]، وانیلین و سرینگالدئید[4]) را تشکیل داده است [۶، ۳۷ و ۳۹]. اسیدهای اکسالیک و فرمیک محصولات اصلی در عصاره آبی ازنیده شده خاک اره صنوبر همراه با اسیدهای گلیکولیک، گلی‌اکسالیک، سوکسینیک[5]، گلیسیریک، مالونیک، p- هیدروکسی بنزوئیک، فوماریک و پروپانوئیک هستند [۱۶ و ۲۴]. اسید اکسالیک توسط اکسیداسیون شدتی حلقه‌های آروماتیک در لیگنین تولید می‌شود. اسیدهای وانیلین، لوولینیک، کربوریک[6]، آزلائیک، مالونیک و p-هیدروکسی بنزوئیک در ازن‌کافت علف برمودا[7] و کنتاکی ۳۱ فستیوال بلند[8] شناسایی شده‌اند [۲۵ و ۳۱].

محصولات تخریب لیگنین، که به دلیل واکنش‌های ازن شکل می‌گیرند، بر اساس ماده اولیه و محتوای رطوبت متفاوت است. شکل‌گیری اسیدهای کربوکسیلیک آلیفاتیک به‌عنوان محصولات ازناسیون، اسیدی شدن عصاره آبی را ایجاد می‌کند [۲۷]. زمان واکنش بیشتر، مقدار بالای ازن و محتوای رطوبت بالا باعث کاهش pH می‌شوند [۲۵ و ۴۴]. استفاده از ابزار طیف‌سنجی تأیید کرده است که واکنش لیگنین با ازن موجب تخریب حلقه‌های آروماتیک لیگنین و تشکیل اسیدهای کربوکسیلیک آلیفاتیک می‌شود [۷، ۹، ۲۷ و ۴۳]. Bule و همکاران (۲۰۱۳) بازشدن حلقه‌های آروماتیک را در زیرمجموعه‌های لیگنین را بر اساس میزان تخریب به‌صورت زیر پیشنهاد دادند [۷]:

Syringyl> guaiacyl> p-hydroxyphenyl

طیف رزونانس مغناطیسی هسته (NMR)[9] تجزیه اجزای β-O-4 تأیید می‌کنند که مونولینول‌ها به لیگنین اتصال دارند. مورفولوژی نمونه‌های ازنیده شده با استفاده از اسکن میکروسکوپ الکترونی (SEM) نشان داده است که یک ساختار آشفته، حضور میکروفیبرهای ریز و سطوح نسبتاً ناصاف‌تر نسبت به مواد اولیه وجود دارد [۴۰، ۴۳ و ۵۱] . همان‌طور که ازن لیگنین را تجزیه می‌کند، قدرت چسبندگی بین

1 Malonic
2 Glyoxalic
3 Hydroxybenzaldehide
4 Syringaldehyde
5 Succinic
6 Caproic
7 Bermuda grass
8 Kentucky 31 tall fescue
9 Nuclear magnetic resonance

میکروفیبرهای سلولز را کاهش می‌دهد [۳۳]، که می‌تواند دسترسی به آنزیم‌های سلولز و همی‌سلولز را بهبود بخشد. در ابتدای واکنش، لیگنین به‌راحتی تجزیه می‌شود. با این حال، مقدار کمی از لیگنین وجود دارد که حذف آن مشکل است [۲۷]. این امر می‌تواند بدین شکل توضیح داده شود که مقدار باقیمانده لیگنین می‌تواند در مکان‌هایی قرار بگیرد که قابلیت دسترسی آن برای ازن کمتر باشد. از طرف دیگر، می‌تواند یک جز لیگنین غیر-واکنشی باشد که در شرایط معمولی واکنش برای حذف مشکل است. بخشی از لیگنین دارای یک ساختار شیمیایی است که با تشکیل پیوندهای کربن- کربن جدید در نتیجه فرآیند هیدرولیز خودکار چگال شده و باعث مقاومت بیشتری نسبت به حمله ازن می‌شود [۷ و ۳۷]. هنگامی که اکثر لیگنین حذف شده باشد، اکسیداسیون هولوسلولز می‌تواند شروع شود. ازن می‌تواند پیوندهای گلیکوزیدها را تجزیه کند و منجر به اکسیدشدن گروه‌های عاملی به ترکیبات کربنیل و کربوکسیل، لاکتون‌ها و هیدروپراکسیدها شود [۴ و ۲۸]. تخریب کربوهیدرات‌ها نیز ممکن است ناشی از تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل غیر-انتخابی باشد. مسیر اصلی برای تشکیل رادیکال هیدروکسیل، واکنش‌های تجزیه ازن با فرآیند کاتالیستی در حضور یون‌های فلزی [۳۸] و واکنش‌های مستقیم بین ازن و لیگنین در سازو کار Criegee است [۱۰]. در حقیقت، رادیکال‌های H_2O_2، OH و HO_2 در ازن‌دهی باگاس نیشکر یافت شدند [۴۳]. اولین رادیکال تشکیل شده، رادیکال آنیون سوپراکسید ($O_2^{\bullet-}$) است که پس از آن با رادیکال‌های هیدروکسیل تولید شده ازن واکنش می‌دهد [۳۸]. رادیکال‌های OH گونه‌هایی هستند که پخش نمی‌شوند و نمی‌توانند درون الیاف نفوذ کنند. این گونه‌ها در نزدیکی مکانی تشکیل می‌شوند که واکنش می‌دهند. رادیکال‌های O_2 گونه‌هایی با طول عمر بالا هستند که به اندازه کافی در فیبر نفوذ می‌کنند. اگرچه رادیکال‌های O_2 به تخریب کربوهیدرات‌ها کمک نمی‌کنند، اما می‌تواند منجر به تشکیل رادیکال‌های OH در داخل فیبر شود. بنابراین رادیکال O_2 به‌عنوان وسیله‌ای برای هدایت رادیکال‌های OH به داخل الیاف شناخته می‌شوند که می‌تواند با سلولز واکنش دهد. واکنش ازن باید در شرایط اسیدی انجام شود تا تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل غیر-انتخابی را کاهش دهد. در هر صورت، میزان تجزیه ازن معمولاً در مقایسه با واکنش مستقیم ازن با ترکیبات آلی در pH >12 کاهش می‌یابد. در پیش‌فرآوری زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی، ازن معمولاً به‌عنوان یک اکسیدان واحد استفاده می‌شود. با این حال، ترکیبات آلی وجود دارند که می‌توانند به‌عنوان محافظ سلولز عمل کنند. این سازو کار را می‌توان به‌شرح زیر توضیح داد. ابتدا، انتقال یون‌های فلزی روی مواد لیگنوسلولزی واکنش‌های رادیکال را توسعه می‌دهند. گونه‌های رادیکال، عمدتا رادیکال‌های هیدروکسیل، از طریق واکنش‌های غیر-انتخابی می‌توانند خیلی سریع با کربوهیدرات‌ها واکنش دهند. این ترکیبات آلی به‌عنوان مهارکننده‌های رادیکال‌های هیدروکسیل عمل کرده و از واکنش‌های انتخابی ازن با لیگنین حمایت می‌کنند. از طرف دیگر، در حضور این افزودنی‌ها، سلولز زمانیکه فقط به آب خالص آغشته شده باشد کمتر متورم می‌شود. بنابراین دسترسی سلولز به مواد اکسیدکننده کاهش می‌یابد. سرانجام، مواد افزودنی با کاهش کشش سطحی فاز مایع و اندازه حباب‌ها، انتقال جرم ازن را بهبود می‌بخشند [۱۱]. این ترکیبات آلی عبارتند از: اسید اگزالیک، الکل ترت بوتیل ، الکل ۱-بوتیل، دی اتیل اتر، اتیل استات و اسید استیک. استفاده از این مواد افزودنی در مقیاس صنعتی به‌دلیل هزینه و تأثیر احتمالی آن‌ها در مراحل بعدی (هیدرولیز آنزیمی و تخمیر) و پساب‌های فرآیند محدود می‌شود.

عوامل تأثیرگذار بر واکنش ازن با مواد لیگنوسلولزی

اثرگذاری ازن به‌عنوان یک ماده لیگنین‌زدا نسبت به سایر فرآوری‌های شیمیایی دارای ویژگی‌های زیر است:

۱- تخریب اساساً به لیگنین محدود می‌شود، اگرچه همی سلولز می‌تواند اندکی مورد حمله قرار بگیرد و سلولز خیلی سخت مورد تجزیه قرار می‌گیرد. واکنش‌پذیری ازن نسبت به لیگنین در مقایسه با سایر فرآیندهای لیگنین‌زدایی، یک مزیت بارز است، زیرا باعث کاهش وزن کمتری در طول پیش فرآوری می‌شود.

۲- در صورت لزوم ازن می‌تواند در محل تولید شود و از این طریق از مشکلات مربوط به تأمین مواد شیمیایی در مناطق دور افتاده، ذخیره‌سازی، هزینه‌های حمل و نقل و مشکلات ایمنی مرتبط با حمل و نقل جلوگیری می‌شود.

۳- تولید ازن نیازی به کاربرد در مقیاس بزرگ ندارد که از لحاظ اقتصادی امکان‌پذیر باشد. استفاده از آن برای مصارف محلی با انواع مختلف زیست‌توده موجود بسیار جذاب است.

۴- واکنش‌ها در دما و فشار محیط انجام شده که باعث کاهش هزینه‌های سرمایه و انرژی می‌شود.

۵- اثر آلودگی جوی فرآیند حداقل است، زیرا ازن باقیمانده با استفاده از بستر کاتالیزوری به‌راحتی به اکسیژن تجزیه شود. در هر صورت، فرآیند باید برای بهینه‌سازی مصرف ازن طراحی شود، بنابراین باقیمانده ازن باید حداقل باشد.

۶- ازن مواد اسیدی، بازی یا سمی را در مواد فرآوری شده باقی نمی‌گذارد. بنابراین می‌توان از مواد لیگنوسلولزی ازن‌دهی شده به‌عنوان خوراک دام استفاده کرد.

همان‌طور که قبلاً توضیح داده شد، فرآوری با ازن منجر به تولید محصولات محلول عمدتاً اسیدهای کربوکسیلیک (اسید اگزالیک، اسید استیک و اسید فرمیک) می‌شود که می‌توانند در مراحل بعدی هیدرولیز آنزیمی و تخمیر میکروبی به‌کار گرفته شوند [۲ و ۱۲]. ترکیبات مهارکننده را می‌توان به سه گروه تقسیم کرد: اسیدهای ضعیف، مشتقات فوران و ترکیبات فنولی [۳۴]. اسیدهای آلی ضعیف می‌توانند به سلول‌های میکروبی نفوذ کرده و pH درون سلولی را کاهش دهند. محصولات تخریب لیگنین مانند ترکیبات فنولی می‌توانند به غشاهای سلولی میکروبی آسیب بزنند [۵۰ و ۳۴]. مهارکنندگان می‌توانند بر رشد میکروبی اثر متقابل داشته باشند. تبدیل سلولز در هیدرولیز آنزیمی نیز می‌تواند توسط حضور ترکیبات مهارکننده تحت تأثیر قرار بگیرند. ترکیبات فنولی می‌توانند باعث غیرفعال‌سازی آنزیم شوند و میزان عملکرد هیدرولیز را کاهش دهند [۳۶]. اسید فرمیک به‌عنوان یک مهارکننده در مرحله قندسازی شناخته می‌شود [۳۰]. اولین مطالعات در مورد فرآوری زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی با ازن بر افزایش ارزش غذایی زیست‌توده متمرکز بودند [۵، ۲۹، ۳۲ و ۴۰]. همچنین پیش‌فرآوری با ازن برای افزایش دسترس‌پذیری آنزیمی به‌منظور تولید سوخت‌های زیستی ارزیابی شده‌اند [۱۷، ۴۱ و ۴۴]. تحقیقات بسیاری با هدف بهینه‌سازی عوامل مؤثر بر ازن‌دهی مواد لیگنوسلولزی ازجمله رطوبت، اندازه ذرات، غلظت ازن در فاز گاز، pH واکنش و مقدار ازن انجام شده است (ازن اعمال شده به ازای ماده خشک). محتوای رطوبت و غلظت ازن همراه با نوع ماده اولیه، مهم‌ترین عوامل موثر بر ازن‌دهی هستند. در پژوهشی ازن‌دهی انواع زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی مانند مواد چوبی (کاج، بلوط و صنوبر) و بقایای کشاورزی (کاه گندم، پوسته بادام زمینی، کاه ذرت و باگاس) تحقیق شد. طبق این گزارش، مصرف ازن باید ۴ تا ۶ درصد وزن ماده خشک باشد تا یک پیش‌فرآوری کارآمد و مقرون به صرفه حاصل شود. ازن‌دهی طولانی مدت از دیدگاه مصرف ازن و دسترس‌پذیری هیدرولیزی، اثر بخشی فرآیند ازن‌دهی را کاهش می‌دهد. یک عامل اساسی درصد آب موجود در ماده لیگنوسلولزی است [۳۲]. Sugimoto و همکاران (۲۰۰۹)، خاطرنشان کردند که میزان رطوبت (از ۲۶ تا ۶۹ درصد) فقط بر میزان مصرف ازن تأثیر گذاشته و بر حذف لیگنین و یا بازده هیدرولیز آنزیمی برای همان مصرف ازن تأثیری ندارد [۴۴]. Mamleeva و همکاران (۲۰۰۹)، پیشنهاد کردند که مقدار لیگنین‌زدایی به میزان رطوبت بستگی دارد [۲۷]. Garcıa-Cubero و همکاران (۲۰۱۲)، اظهار داشتند که لیگنین نامحلول اسیدی با افزایش رطوبت تا ۳۰ درصد احتمالاً به‌دلیل عدم انتقال جرم مناسب ازن به سطح توده کاهش می‌یابد [۱۷]. افزایش محتوای رطوبت بالای ۳۰ درصد هیچ تأثیر معنی‌داری بر حذف لیگنین نشان نداد. رطوبت بهینه باید بر اساس ماده خشک (DM) در حدود ۲۵ تا ۳۵ درصد وابسته به نقطه اشباع الیاف باشد [۳۲]. مولکول‌های آب حفره‌های سلولی را پر می‌کنند و محیطی را ایجاد کرده که در آن گاز می‌تواند حل شود [۲۷]. پدیده انتشار، امکان دسترسی ازن محلول در آب را به سطح بستر فراهم می‌کند. نه ماده خیلی خشک و نه ماده خیلی مرطوب نمی‌توانند به‌طور مؤثری ازن‌دهی شوند. در رطوبت زیاد (۷۵ درصد) منافذ با آب مسدود شده و لایه آب می‌تواند ضخیم‌تر شود. در این شرایط، ازن نمی‌تواند به سطح توده منتقل شود و ازن موجود در آب به جای واکنش با لیگنین به رادیکال‌های هیدروکسیل غیر-منتخب

تجزیه می‌شود [۲۶]. در مطالعات نشان داده شده است که درصد رطوبت بهینه مشابه فرآیند سفیدکردن پالپ با ازن (حدود ۴۰ درصد) است. برای محدوده قوام پالپ ۳۰ تا ۵۰ درصد ضخامت لایه اطراف فیبر نزدیک به صفر است و ازن می‌تواند به‌راحتی به محل واکنش منتقل شود. رقیق شدن بیش از حد منجر به مصرف بیش از حد ازن به دلیل واکنش با محصولات فرعی و ناخالصی‌ها در فاز مایع شده و بنابراین فرآیندهای غیر مورد نظر را منجر خواهد شد [۱۱]. این رفتار ممکن است با تئوری لایه توضیح داده شود. قبل از واکنش با ذرات زیست‌توده، ازن ابتدا از طریق لایه آبی اطراف توده منتشر می‌شود. اگر سطح رطوبت بیشتر از حد مطلوب باشد، ازن برای انتشار به سمت ذرات زیست‌توده مدت طولانی‌تری منتشر می‌شود و با محصولات محلول در فاز آبی واکنش می‌دهد. در مقابل، اگر رطوبت کمتر از حد مطلوب باشد، میزان واکنش کاهش می‌یابد زیرا ساختار فیزیکی مواد مانع انتشار ازن می‌شود. بنابراین رطوبت بهینه باعث نفوذ ازن شده و واکنش‌های ثانویه ازن را به حداقل می‌رساند [۳۷]. مقدار مطلوب رطوبت از ۲۰ تا ۷۰ درصد متفاوت است [۴]. رطوبت زیاد (۷۵ درصد) میزان مصرف ازن را افزایش می‌دهد و از طریق واکنش‌های رادیکالی، زایلان را تخریب می‌کند و میزان لیگنین‌زدایی پایین‌تر است [۲۶]. از معیارهای تعیین رطوبت بهینه می‌توان به میزان لیگنین‌زدایی، تخریب همی سلولز و سلولز و بازده رهاسازی قند در مرحله هیدرولیز آنزیمی اشاره کرد.

به‌نظر می‌رسد که غلظت ازن در جریان گاز تأثیر کمتری نسبت به مقدار رطوبت داشته باشد. همان‌طور که انتظار می‌رود افزایش غلظت ازن میزان واکنش را افزایش می‌دهد اگرچه تناسبی برای آن وجود ندارد [۴۹]. غلظت ازن بین ۲ و ۶ درصد وزن بر وزن مؤثر است. غلظت بیشتر ازن ممکن است منجر به از بین رفتن پلی ساکاریدها شود [۳۲]. Sugimoto و همکاران (۲۰۰۹)،گزارش دادند که افزایش غلظت ازن در جریان گاز از ۱/۶ به ۳/۵ درصد تأثیری در دسترس‌پذیری آنزیمی مواد فرآوری شده با ازن ندارد که این امر فقط به مقدار ازن مصرفی بستگی دارد [۴۴]. به‌نظر می‌رسد اندازه ذرات کمترین تأثیر را در پیش فرآوری زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی داشته باشند. زمان واکنش با افزایش اندازه ذرات افزایش می‌یابد. با این حال با کاهش اندازه ذرات به کمتر از ۰/۵ میلی‌متر کمی بهبود ایجاد می‌شود [۳۲]. اثر یکسانی توسط دیگر محققان مشاهده شد [۱۷]، که هیچ اثر معنی‌داری در لیگنین‌زدایی و هضم آنزیمی بین ذرات ۳ تا ۵ میلیمتر و کمتر از ۱ میلیمتر مشاهده نکردند. در مقابل، در دیگر مطالعه محققان نشان دادند که کاهش اندازه از ۰/۸۴ به ۰/۰۴۴ میلیمتر سرعت واکنش ازن‌دهی را بهبود می‌بخشد [۲۶]. خردایش زیست‌توده با هدف افزایش مساحت سطح و کاهش حجم زیست‌توده می‌باشد. با این حال، اندازه ذرات با هزینه‌های عملیاتی آسیاب که بخش قابل‌توجهی از هزینه‌های عملیاتی را پوشش می‌دهد، محدود می‌شود. مطالعات در کاربرد ازن برای پیش‌فرآوری از راکتورهای ناپیوسته و راکتورهای بستر ثابت استفاده کرده‌اند. ساده‌ترین آرایش راکتورهای دارای یک ستون بستر ثابت است. با این حال، کانال‌بندی و هدایت ناهموار ازن به زیست‌توده اشکالات اصلی این آرایش‌هاست [۱۸]. راکتورهای ناپیوسته فقط برای دوغاب‌های بسیار رقیق لیگنوسلولز مناسب هستند. همچنین از سیلندرهای افقی دوار که در آن زیست‌توده در حال گردش بوده و در عین حال در معرض جریان ازن قرار دارند، به منظور برقراری تماس بهتر بین ازن و مواد لیگنوسلولزی و بازده بالاتر از نظر مصرف ازن استفاده شده است [۲۳، ۲۵، ۳۲ و ۴۴]. در جدول ۱، خلاصه‌ای از پیش‌فرآوری زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی با ازن گردآوری شده است.

جدول ۱- پیش‌فرآوری زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی با ازن، پارامترهای واکنش و اثر آن بر حذف لیگنین و عملکرد هیدرولیز آنزیمی

ماده	رطوبت (درصد وزنی/وزنی)	ازن در فاز گازی	اندازه ذرات (میلی‌متر)	نرخ جریان گاز (لیتر بر ساعت)	زمان واکنش (دقیقه)	مصرف ازن (گرم ازن بر گرم ماده خشک)	حذف لیگنین (درصد)	بازده هیدرولیز آنزیمی	مرجع
کاه گندم	۴۰	٪۲/۷ (w/w)	۳-۵	۶۰ L air/h	۱۵۰	۰/۰۹	۲۱-۷۰	گلوکز هیدرولیز شده: ۸۸-٪۵۳	[۱۷]
کاه گندم	۹۰	٪۵/۳ (w/w)	<۰/۲۵	۱۲۰ L O_2/h	۱۲۰	NR	۳۳	بازیافت قند: ٪۶۳/۲	[۷]

کاه چاودار	۴۰	٪۲/۷ (w/w)	۳–۵	۶۰ L air/h	۱۵۰	۰/۱	۱۷–۵۰	گلوکز هیدرولیز شده: ٪۳۶–۵۷	[۱۷]
کاه	۶۰	۲۰۴ (g/m^3)	<۲	۳۰ L O_2/h	۶۰	۰/۲۱۳	۳۷/۹	بازده گلوکان: ٪۴۶/۹ بازده زایلان: ٪۲۷/۸	[۱۳]
کاه ذرت	۵۰	۶۰ (g/m^3)	<۰/۶	۶۰ L O_2/h	۹۰	۰/۳۲	۵۷	بازده گلوکان (بعد شستشو): ٪۵۹/۷ بازده زایلان (بعد شستشو): ٪۴۰/۹	[۴۰]
علوفه ذرت	۶۰	۶۰ (g/m^3)	<۰/۰۵	۶۰۰ L O_2/h	۶۰	۰/۲۵۶	۷۸	بازده گلوکز: ٪۸۰	[۳۹]
ساقه‌های پنبه	۹۰	NR	<۳	۳۰۰ L O_2/h	۶۰–۹۰ ۳۰	NR	۱۵/۱۵– ۱۱/۹۷	NR	[۴۱]
باگاس نیشکر	۵۰	٪۱ (w/w)	<۱	NR	۲۱۰	NR	NR	بازده آنزیمی: ٪۶۷ بازده گلوکان: ٪۵۹/۲ بازده زایلان: ٪۳۲/۳۸	[۱۵]
باگاس نیشکر	۶۰	۲۰۴ (g/m^3)	<۲	۳۰ L O_2/h	۶۰	۰/۱۸۷	۵۵	NR	[۳۷]
باگاس نیشکر	۵۰	NR	<۰/۵	۱۸ L O_2/h	۲۴۰	NR	۶۵	بازده گلوکز: ٪۳۵/۲ بازده زایلوز: ٪۵۲	[۴۳]
باگاس نیشکر	۴۰	٪۳/۴۴ (v/v)	۳–۵	۶۰ L O_2/h	۱۲۰	۰/۲۱	۶۷	تبدیل گلوکان: ٪۸۰–۱۰۰ تبدیل زایلان: ٪۳۴–۵۴	[۴۸]
Miscanthus giganteus,M. gracillimus, Saccharum arundinaceum ,S. ravennae	۳۰	۵۰–۵۸ ۴۰ mg/L	<۲	۱۵ L O_2/h	۱۲۰	NR	۲۴–۵۰/۹	بازده گلوکز: ٪۵۳ بازده زایلوز: ٪۲۷/۴	[۳۶]
Coastal Bermuda grass	۳۰	٪۸ (w/w)	۰/۳۸–۰/۸۵	۶۰ L O_2/h	۶۰	۰/۲۶۴	۳۴	بازده گلوکز: ٪۶۴/۶ بازده زایلوز: ٪۸۲/۳	[۲۵]
Extruded switchgrass	۲۵	٪۰/۷ (w/w)	<۱/۸۵	۳/۷۵ L O_2/h	۲/۵	۰/۰۰۰۴۹	NR	بازده گلوکز: ٪۹۰/۸ بازده زایلوز: ٪۹۲/۲	[۲۲]
Extruded big bluestem	۲۵	٪۶/۹ (w/w)	<۱/۷۸۸	۳/۷۵ L O_2/h	۲/۵	۰/۰۱۴۶	NR		(۲۲)
تراشه‌های سرو	۴۰	۲۰۴	<۳	۳۰ L/h	۶۰	۰/۲۷۶	۷۰	بازده گلوکز:	[۳۰]

ژاپنی[1]		mg/L						۳۳۰mg/g زیست‌توده	
خاک اره سرو ژاپنی[2]	۲۶-۶۹	٪۳/۵	۰/۲۵-۰/۸۴	۳۰ L O_2/h	NR	۳ mol O_3/mol lignin unit	۸۰	بازده هیدرولیز: ٪۱۰۰	[۴۴]
Loblolly pine	۲۵	٪۵	۲-۸	۳۰ L O_2/h	۶۰	۰/۰۶۱۷	۳	>تبدیل گلوکز ٪۵	[۳۹]
Sweetgum	۲۵	٪۵	۲-۸	۳۰ L O_2/h	۶۰	۰/۰۶۲۲	۳	>تبدیل گلوکز ٪۵	[۳۹]

NR: گزارش نشده

ملاحظات اقتصادی پیش‌فرآوری زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی با ازن

ازن با تخلیه الکتریکی ایجاد می‌شود و جریان متناوب ولتاژ بالا (۶-۲۰ کیلو ولت) را در یک شکاف تخلیه دی الکتریک که حاوی یک منبع اکسیژن است، ایجاد می‌کند. هوای خشک یا اکسیژن خالص می‌تواند به‌عنوان منبع گاز مورد استفاده قرار گیرد، اما استفاده از اکسیژن می‌تواند غلظت ازن بالاتری را در فاز گاز تولید کند [۲۰]. کاربردهای ازن به‌دلیل پیشرفت چشمگیر در عملکرد و تجهیزات ازن از نظر تعداد و تنوع بسیار گسترش یافته‌اند. ازن در صنعت خمیر و کاغذ، در تأسیسات تصفیه آب و در صنعت نیمه هادی‌ها استفاده می‌شود. تولید ازن مقدار قابل‌توجهی انرژی الکتریکی مصرف می‌کند. تقریباً ۷ درصد از کل هزینه‌های انرژی در فرآیندهای ازن برای تولید ازن است. هزینه ازن به‌عنوان پیش فرآوری مواد اولیه لیگنوسلولزی بستگی به هزینه تولید ازن و هزینه زیست‌توده با اندازه مشخصی دارد. با در نظر گرفتن هزینه تولید ازن ۰/۵۷ دلار بر کیلوگرم O_3 (ازجمله هزینه‌های سرمایه) و مصرف ازن ۴ درصد وزنی، هزینه‌های پیش فرآوری با ازن حدود ۲۳ دلار در هر تن ماده خشک لیگنوسلولزی بدست می‌آید. قیمت‌های تجاری مواد لیگنوسلولزی خردشده را باید در هزینه‌های ازن در نظر گرفت. هزینه‌های بیشتر تولید ازن توسط منابع دیگر تأمین شده است. طبق گزارش دیگر محققان [۲۵]، هزینه‌های تولید ازن تقریباً ۱/۷۶ دلار بر کیلوگرم O_3 است. آژانس حفاظت از محیط زیست [۱۴] هزینه‌های برق تولید ازن را حدود ۲۴/۹ کیلووات ساعت بر کیلوگرم O_3 برای گیاهان کوچک گزارش کرده است (کمتر از ۴۳/۳۵ کیلوگرم O_3 در روز). محققان بیان کردند که تولید هر واحد ازن در حال حاضر در بازه ۸ تا ۱۴ کیلووات ساعت بر کیلوگرم O_3 است [۲۰]. هزینه‌های عملیاتی برای تولید ۱ کیلوگرم ازن به‌طور معمول در بازه ۰/۶ تا ۲/۲ دلار است. با توجه به میزان مصرف ازن ۱۰ درصد وزنی بر وزنی (w/w) [۱۸] و بازده تولید اتانول از زیست‌توده ازن‌دهی شده ۱۲/۴ کیلوگرم در هر ۱۰۰ کیلوگرم ماده خشک [۳]، هزینه برق حدود ۲۰ تا ۳۰ کیلووات ساعت بر گالن اتانول می‌توان تخمین زد. البته هزینه‌های بیشتر برای سایر روش‌های پیش‌فرآوری مانند انفجار فیبر آمونیاک (AFEX)، اسید رقیق، آهک و آب گرم مایع گزارش شده‌اند [۴۷]. بنابراین، هزینه‌های مصرف برق می‌تواند از ۲ تا ۴ دلار بر گالن اتانول باشد. پس‌انداز هزینه‌های سرمایه نیز امکان‌پذیر است زیرا واکنش‌ها در دما و فشار محیط انجام می‌شوند [۲۵]. با توجه به مجموع هزینه‌های سرمایه‌گذاری و عملیاتی، ازن هنوز یک فن-آوری گران قیمت است [۲۰]. باید تلاش کرد تا از طریق بهینه‌سازی شرایط فرآیند و توسعه راکتورهای کارآمدتر، روی کاهش مقدار ازن مورد نیاز پیش فرآوری به‌طور مؤثرتری تمرکز کرد.

نتیجه‌گیری و چشم‌انداز آینده

1 Japanese cedar chips
2 Japanese cedar sawdust

ازن ثابت شده است که یک اکسیدان کارآمد برای طیف بسیار وسیعی از مواد اولیه لیگنوسلولزی است. ازن عمدتا به لیگنین حمله کرده و ترکیبات محلول با وزن مولکولی کم عمدتا اسیدهای آلی مانند اسیدهای اگزالیک، فرمیک و استیک آزاد می‌شوند. همی سلولز را می‌توان کمی حل کرد در حالیکه سلولز تقریباً دست نخورده باقی می‌ماند. تولید قند کاهش‌یافته به شدت بستگی به شرایط پیش‌فرآوری و مواد سوبسترا دارد. مقادیر ۴۰ تا بالاتر از ۸۰ درصد برای لیگنین‌زدایی گزارش شده‌اند. میزان رطوبت مطلوب برای مواد اولیه مختلف، متفاوت است، اما رطوبت بهینه معمولاً با نقطه اشباع فیبر (۲۵ تا ۴۰ درصد) مطابقت دارد. رطوبت بیش از حد می‌تواند منجر به مصرف بیشتر ازن، واکنش‌های غیرانتخابی با همی سلولز، و اضافه شدن غیرضروری آب شود. بازیابی قند همی سلولزی در زیست‌توده‌های پیش‌فرآوری شده برای دستیابی به تولید قند تخمیر شده اهمیت دارد. استفاده از میکروارگانیسم‌های قوی در تبدیل پنتوزها (آرابینوز و زایلوز) و گلوکز به سوخت‌های زیستی (اتانول و بوتانول) می‌تواند بازده تولید اتانول را بهبود بخشد. زمان واکنش به آرایش راکتور و ماده اولیه بستگی دارد. تماس بهتر بین ازن و مواد لیگنوسلولزی می‌تواند میزان مصرف ازن را کاهش دهد. مهم‌ترین پارامتر مؤثر بر بازده پیش‌فرآوری، مصرف ازن در هر ماده خشک است. اگرچه مطالعات گزارش داده‌اند که پیش‌فرآوری موثر با ازن باید در حدود ۴ تا ۶ درصد وزن-وزن مصرف ازن باشد، اما میزان مصرف ازن در حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد وزن-وزن گزارش شده است [۳۲]. نه فورفورال و نه HMF، هیچ‌کدام در هیدرولیزهای مایع یافت نشده‌اند، اما غلظت‌هایی از اسیدهای با وزن مولکولی کم (اگزالیک، فرمیک، استیک) می‌تواند یک مرحله سم‌زدایی را برای کاهش غلظت مهارکننده‌های سلولز و میکروارگانیسم‌های تخمیرکننده ایجاد کند. اسیدهای استیک و اگزالیک، مهارکننده میکروارگانیسم‌های تخمیر کننده اتانول مانند ساکارومایسس سرویزیه و *P. stipitis* هستند. بیشتر مطالعات در مورد ازن‌دهی در انتخاب شرایط پیش‌فرآوری برای میزان لیگنین‌زدایی بیشتر متمرکز شده است. منابع کمی از تخمیر هیدرولیزها به سوخت‌های زیستی وجود دارد. معمولاً پارامتر تعیین کارآیی مرحله پیش فرآوری، مقدار لیگنین‌زدایی است. با این حال، افزایش تخریب لیگنین لزوماً شامل بازیابی قند قابل تخمیر بیشتر در مرحله قندسازی نیست. باید در آرایش راکتورها که ارتباط بهتری بین ازن و ماده لیگنوسلولزی برقرار می‌کنند، تلاش شود. همچنین مطالعه این فرآیند در یک رویکرد یکپارچه و با در نظر گرفتن تأثیر شرایط پیش‌فرآوری ازن بر بازده تخمیر، بسیار مهم می‌باشد. ممکن است با کاهش هزینه تولید ازن و کاهش مصرف ازن از طریق استفاده کارآمدتر آن، اقتصادی شدن پیش‌فرآوری با ازن بهبود یابد.

منابع

1. Barakat, A., Mayer, C., Solhy, A., Arancon, R.A.D., De Vries, H., and Luque, R. 2014. Mechanical pretreatments of lignocellulosic biomass: towards facile and environmentally sound technologies for biofuels production. RSC Advances R. Soc. Chem, 4: 48109–48127.
2. Bellido, C., Bolado, S., Coca, M., Lucas, S., González-Benito, G., and García-Cubero, M.T. 2011. Effect of inhibitors formed during wheat straw pretreatment on ethanol fermentation by Pichia stipites. Bioresour. Technol, 102: 10868–10874.
3. Bellido, C., González-Benito, G., Coca, M., Lucas, S., and García-Cubero, M.T. 2013. Influence of aeration on bioethanol production from ozonized wheat straw hydrolysates using Pichia stipites. Bioresour. Technol, 133: 51–58.
4. Ben'ko, E.M., Manisova, O.R., and Lunin, V.V. 2013. Effect of ozonation on the reactivity of lignocellulose substrates in enzymatic hydrolyses to sugars, Russ. J. Phys. Chem. A, 87: 1108–1113.
5. Binder, A., Pelloni, L., and Fiechter, A. 1980. Delignification of straw with ozone to enhance biodegradability. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol, 11: 1–5.

6. Bonini, C., D'Auria, M., Di Maggio, P., and Ferri, R. 2008. Characterization and degradation of lignin from steam explosion of pine and corn stalk of lignin: the role of superoxide ion and ozone. Industrial crops and products, 27(2): 182-188.
7. Bule, M.V., Gao, A.H., Hiscox, B., and Chen, S. 2013. Structural modification of lignin and characterization of pretreated wheat straw by ozonation. J. Agric. Food Chem, 61: 3916–3925.
8. Chang, V.S., and Holtzapple, M.T. 2000. Fundamental factors affecting enzymatic reactivity. Appl. Biochem. Biotechnol, 84–86: 5–37.
9. Chuck, C.J., Parker, H.J., Jenkins, R.W., and Donnelly, J. 2013. Renewable biofuel additives from the ozonolysis of lignin. Bioresour. Technol, 143: 549–554.
10. Coca, M., Peña, M., and González, G. 2005. Variables affecting efficiency of molasses fermentation wastewater ozonation, Chemosphere 60: 1408–1415.
11. Cogo, E., Albet, J., Malmary, G., Coste, C., and Moliner, J. 1999. Effect of reaction medium on ozone mass transfer and applications to pulp bleaching. Chem. Eng. J, 73: 23–28.
12. Delgenes, J.P., Moletta, R., and Navarro, J.M. 1996. Effects of lignocellulose degradation products on ethanol fermentations of glucose and xylose by Saccharomyces cerevisiae, Zymomonas mobilis, Pichia stipitis, and Candida shehatae. Enzyme Microb. Technol, 19: 220–225.
13. Ding, S.Y., Liu, Y.S., Zeng, Y., Himmel, M.E., Baker, J.O., and Bayer, E.A. 2012. How does plant cell wall nanoscale architecture correlate with enzymatic digestibility? Science, 338: 1055–1060.
14. EPA. 2006. Environmental Protection Agency of United States, Technology and Cost Document for the Final Ground Water Rule. EPA 815-R-06–015.
15. Eqra, N., Ajabshirchi, and Y., Sarshar, M. 2014. Effect of ozonolysis pretreatment on enzymatic digestibility of sugarcane bagasse. Agric. Eng. Int. CIGR J, 16: 151–156.
16. Euphrosine-Moy, V., Lasry, T., Bes, R.S., Molinier, J., and Mathieu, J. 1991. Degradation of poplar lignin with ozone. Ozone Sci. Eng, 13: 239–248.
17. García-Cubero, M.T., González Benito, G., Indacoechea, I., Coca, M., and Bolado, S. 2009. Effect of ozonolysis pre-treatment on enzymatic digestibility of wheat and rye Straw. Bioresour. Technol, 100: 1608–1613.
18. García-Cubero, M.T., Palacín, L.G., González-Benito, G., Bolado, S., Lucas, S., and Coca, M. 2012. An analysis of lignin removal in a fixed bed reactor by reaction of cereal straws with ozone. Bioresour. Technol, 107: 229–234.
19. Glaze, W.L., Kang, J.W., and Chapin, D.H. 1987. The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation. Ozone Sci. Eng, 9: 335–352.
20. Gottschalk, C., Libra, J.A., and Saupe, A. 2010. Ozonation of Water and Wastewater: A Practical Guide to Understanding Ozone and Its Application, second ed., WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim.
21. Hendriks, A.T.W.M., and Zeeman, G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. Bioresour. Technol, 100: 10–18.
22. Karunanithy, C., Muthukumarappan, K., and Gibbons, W.R. 2014. Sequential extrusion-ozone pretreatment of switchgrass and big bluestem. Appl. Biochem. Biotechnol, 172: 3656–3669.
23. Kojima, Y., and Yoon, S.L. 2008. Improved enzymatic hydrolysis of waste paper by ozone pretreatment. J. Mater. Cycles Waste Manag, 10: 134–139.

24. Lasry, T., Laurent, J.L., Euphrosine-Moy, V., Bes, R.S., Molinier, J., and Mathieu, J. 1990. Identification and evolution of poplar sawdust ozonation products. Analysis, 18: 192–199.
25. Lee, J.M., Jameel, H., and Venditti, R.A. 2010. Effect of ozone and autohydrolysis pretreatments on enzymatic digestibility of coastal Bermuda grass. Bioresources, 5: 1084–1101.
26. Li, C., Wang, L., Chen, Z., Li, Y., Wang, R., Luo, X., Cai, G. Li, Y., Yu, Q., and Lu, J. 2015. Ozonolysis pretreatment of maize stover: the interactive effect of sample particle size and moisture on ozonolysis process. Bioresour. Technol, 183: 240–247.
27. Mamleeva, N.A., Autlov, S.A., Fionov, A.V., Bazarnova, N.G., and Lunin, V.V. 2009. The oxidative destruction of lignin in the ozonation of wood. Russ. J. Phys. Chem, 83: 745–751.
28. Marcq, O., Barbe, J.M., Trichet, A., and Guilard, R. 2009. Reaction pathways of glucose oxidation by ozone under acidic conditions. Carbohydr. Res, 344: 1303–1310.
29. Miron, J., and Ben-Ghedalia, D. 1982. Effect of hydrolysing and oxidizing agents on the composition and degradation of wheat straw monosaccharides. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol, 15: 83–87.
30. Miura, T., Lee, S.H., Inoue, S., and Endo, T. 2012. Combined pretreatment using ozonolysis and wet-disk milling to improve enzymatic saccharification of Japanese cedar. Bioresour. Technol, 126: 182–186.
31. Morrison, W.H., and Akin, D.E. 1990. Water-soluble reaction products from ozonolysis of grasses. J. Agric. Food Chem, 38: 678–681.
32. Neely, W.C. 1984. Factors affecting the pretreatment of biomass with gaseous ozone. Biotechnol. Bioeng, 26: 59–65.
33. Olivieri de Barros, R.D.R., de Sousa Paredes, R., Endo, T., da Silva Bon, E.P., 2013. Lee, S.H. Association of wet disk milling and ozonolysis as pretreatment for enzymatic saccharification of sugarcane bagasse and straw. Bioresour. Technol, 136: 288–294.
34. Palmqvist, E., and Hahn-Hagerdal, B. 2000. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. Bioresour. Technol, 74: 25–33.
35. Pandey, M.P., and Kim, C.S. 2011. Lignin depolymerization and conversion: a review of thermochemical methods, Chem. Eng. Technol. 34: 29–41.
36. Panneerselvam, A., Sharma-Shivappa, R.R., Clare, D.A., and Ranney, T. 2013. Hydrolysis of ozone pretreated energy grasses for optimal fermentable sugar production. Bioresour. Technol, 148: 97–104.
37. Quesada, J., Rubio, M., Gómez, D. 1999. Ozonation of lignin rich solid fractions from corn stalks. J. Wood Chem. Technol, 19: 115–137.
38. Roncero, M.B., Colom, J.F., and Vidal, T. 2003. Why oxalic acid protects cellulose during ozone treatments? Carbohydr. Polym, 52: 411–422.
39. Sannigrahi, P., Hu, F., Pu, Y., and Ragauskas, A.A. 2012. Novel oxidative pretreatment of loblolly pine, sweetgum, and miscanthus by ozone. J. Wood Chem. Technol, 32: 361–375.
40. Shi, F., Xiang, H., and Li, Y. 2015. Combined pretreatment using ozonolysis and ball milling to improve enzymatic saccharification of corn straw. Bioresour. Technol, 179: 444–451.
41. Silverstein, R.A., Chen, Y., Sharma-Shivappa, R.R., Boyette, M.D., Osborne, J. 2007. A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks. Bioresour. Technol, 98: 3000–3011.

42. Sousa, L.D., Chundawat, S.P.S., Balan, V., and Dale, B.E. 2009. Cradle-to-grave assessment of existing lignocellulose pretreatment technologies. Curr. Opin. Biotechnol. 20: 339–347.
43. Souza-Corrêa, J.A., Ridenti, M.A., Oliveira, C., Araujo, S.R., and Amorim, J. 2013. Decomposition of lignin from sugar cane bagasse during ozonation process monitored by optical and mass spectrometries. J. Phys. Chem, 117: 3110–3119.
44. Sugimoto, T., Magara, K., Hosoya, S., Oosawa, S., Shimoda, T., 2009. Nishibori, K. Ozone pretreatment of lignocellulosic materials for ethanol production: improvement of enzymatic susceptibility of softwood. International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood, Holzforschung, 63: 537–543.
45. Sun, Y., and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. Bioresour. Technol, 83: 1–11.
46. Taherzadeh, M.J., and Karimi, K. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a Review. Int. J. Mol. Sci, 9: 1621–1651.
47. Tao, L., Aden, A., Elander, R.T., Pallapolu, V.R., Lee, Y.Y., Garlock, R.J., et al. 2011. Process and technoeconomic analysis of leading pretreatment technologies for lignocellulosic ethanol production using switchgrass. Bioresour. Technol, 102: 11105–11114.
48. Travaini, R., Morales Otero, M.D., Coca, M., Da-Silva, R., and Bolado, S. 2013. Sugarcane bagasse ozonolysis pretreatment: effect on enzymatic digestibility and inhibitory compound formation. Bioresour. Technol, 133: 332–339.
49. Vidal, P.F., and Molinier, J. 1988. Ozonolysis of lignin-improvement of in vitro digestibility of poplar sawdust. Biomass, 16: 1–17.
50. Wu, J., Ein-Mozaffari, F., and Upreti, S. 2013. Effect of ozone pretreatment on hydrogen production from barley straw. Bioresour. Technol, 144: 344–349.
51. Yu, Z., Jameel, H., Chang, H.M., and Park, S. 2011. The effect of delignification of forest biomass on enzymatic hydrolysis. Bioresour. Technol, 102: 9083–9089.

Ozonolysis: a novel and effective oxidation technique for lignocellulosic biomass pretreatment

Marzieh Ghorbani [1*], Mohammad Hossein Kianmehr [2], Akbar Arabhosseini [3], Ehsan Sarlaki [4], Ali Asadi Alamouti [5], Reza Sadeghi [6]

1. Ph.D. Student, Department of Agrotechnology, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran (marzie.ghorbani@ut.ac.ir)
2. Professor, Department of Agrotechnology, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran (kianmehr@ut.ac.ir)
3. Associate Professor, Department of Agrotechnology, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran (ahosseini@ut.ac.ir)
4. Ph.D. Student, Department of Agrotechnology, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran (e.sarlaki685@ut.ac.ir)
5. Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Science, University of Tehran, Pakdasht, Iran (a.alamouti@ut.ac.ir)
6. Associate Professor, Department of Entomology and Plant Pathology, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran (rsadeghi@ut.ac.ir)

Abstract

Ozone is an excellent chemical oxidizing agent that can breakdown lignin without affecting cellulose. Ozonolysis as a method of biomass pretreatment is not yet an established industrial practice. Despite this, research findings suggest that this technology has a huge potential to be industrially utilized. The effectiveness of ozonolysis depends on factors that namely, reactor design and configuration and process conditions of the experiment, including the ozone flow rate/consumption, biomass moisture, reaction time, and biomass particle sizes. The detailed understanding of the effects of the parameters in biomass pretreatment using ozonation are summarized. These factors could enhance the reaction of ozone with carbohydrate and lignin, as well as degrading them into a fibrous form that is useful for downstream applications. The economics of ozone pretreatment may be improved by reducing the cost of ozone generation and by reducing ozone consumption through a more efficient use. This review article summarizes the latest research findings and provides a broad understanding on the various lignocellulosic biomass and the process parameters of their delignification via the ozone pretreatment process along with economic considerations.

Key words: Ozone, Lignocellulosic biomass, Pretreatment, Biofuels, Delignification

*Corresponding author
E-mail: marzie.ghorbani@ut.ac.ir