

بررسی اثر پیش تیمار شیمیایی کاه برنج با آمونیاک، اوره، و سود بر تولید بیوگاز

سودابه سعیدی^۱، سیدجعفر هاشمی^{۲*} و سید یحیی کاظمی^۳
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳، ۲. استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۴ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۲/۳۱)

چکیده

بقایای محصولات کشاورزی با وجود پتانسیل بالا در تولید بیوگاز، به دلیل داشتن مواد لیگنوسلولزی، برای کاهش زمان تجزیه بیولوژیکی به پیش تیمار نیاز دارند. پیش تیمار شیمیایی سرعت تجزیه پذیری و راندمان بیوگاز را افزایش می دهد. در این پژوهش تأثیر اوره ۴ درصد، آمونیاک ۵ درصد، و سود ۸ درصد بر تجزیه پذیری کاه برنج و تولید بیوگاز با کود گوسفندی در هاضم بی هوازی با سه نسبت کربن به نیتروژن ۱۵، ۲۰ و ۲۹ و دمای $40 \pm 2^\circ\text{C}$ بررسی شد. این تحقیق به صورت آزمایشی فاکتوریل با دو متغیر (پیش تیمار شیمیایی و نسبت کربن به نیتروژن) در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که بیشترین تولید بیوگاز و متان به ترتیب $594 \text{ (ml/VS}_{\text{add}})$ و $133/33$ درصد بیشتر از شاهد) و $70/33$ درصد در تیمار کود گوسفندی در ترکیب با کاه پیش تیمار شده با سود ۸ درصد و در نسبت کربن به نیتروژن ۲۹ به دست آمد. در مجموع نتایج پژوهش نشان دهنده عملکرد مثبت هضم ترکیبی کاه برنج با کود گوسفندی و همچنین پیش تیمار کاه با سود برای تولید بیوگاز است.

کلیدواژگان

بیوگاز، پیش تیمار، تجزیه بیولوژیکی، ضایعات کشاورزی، کود گوسفندی، نسبت کربن به نیتروژن.

مقدمه

۵۰ تا ۷۰ درصد متان (Hills & Roberts., 1981) که ارزش حرارتی کمتری در مقایسه با گاز طبیعی دارد و با تصفیه می توان کیفیت حرارتی آن را بالا برد. برای تولید بیوگاز از مواد زائد آلی گوناگون استفاده می شود. کاه برنج یکی از بقایای انبوه کشاورزی در ایران است و در صورت تجزیه پذیری مناسب، به منبعی مهم برای تولید بیوگاز تبدیل می شود. کاه غلات دارای لیگنین (۷-۹ درصد)، سلولز (۳۰-۳۸ درصد)، و همی سلولز (۲۵-۳۰ درصد) است که این مواد به طور میانگین ۶۹ درصد از کل ماده خشک در انواع کاه و کلش را دربر گرفته و منبع کربن برای تغذیه میکروارگانیسم های بی هوازی است (Taniguchi et al., 2005). به دلیل ساختار خاص لیگنین، سلولز، و همی سلولز و پیوندهای بین مولکولی سخت، تجزیه این مواد دشوار است و برای تولید بهینه بیوگاز باید به تجزیه آنها کمک

از پیامدهای رشد جمعیت، افزایش تقاضا برای مواد غذایی و تولید روزافزون زائدات کشاورزی و دامی است. انباشتگی این مواد به معضل زیست محیطی تبدیل شده است. از کاه و کلش غلات می توان برای تغذیه دام، تولید کاغذ و نئوپان، و دیگر فراورده های کاربردی استفاده کرد (Singh et al., 2010; Saeidi et al., 2011). از جمله راهکارهای مفید برای رفع معضل زائدات کشاورزی و دامی، تولید بیوگاز است که گازی سازگار با محیط زیست به شمار می آید. (Raininko et al., 1981; Hilkiyah Igoni et al., 2007). بیوگاز گازی است حاوی

Email: szhash@yahoo.com

* نویسنده مسئول

تلفن: ۰۹۱۲۳۳۳۷۰۹۳

NDF^۲ می‌شود و این امر تولید بیوگاز را به شدت افزایش می‌دهد (Banchorndhivakol, 2002)، هرچند که در مطالعه وی، تولید بیوگاز بررسی نشد.

با توجه به کافی نبودن تحقیقات در ایران بر پیش تیمار شیمیایی کاه برنج، هضم ترکیبی زائدات، و تولید بیوگاز، این پژوهش به بررسی اثر پیش تیمار شیمیایی بر تجزیه پذیری کاه برنج و ترکیب کاه پیش تیمار شده با کود گوسفندی برای تولید بیوگاز و تعیین بهترین نسبت کربن به نیتروژن (C/N) پرداخته است.

▪ مواد و روش‌ها

تهیه و آنالیز مواد و پیش تیمار شیمیایی

ابتدا ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مواد اولیه مانند میزان کربن، نیتروژن، و نسبت کربن به نیتروژن تعیین شد. این ویژگی‌ها ما را قادر می‌سازد تا مخلوطی مناسب از مواد اولیه را برای استفاده در مخزن هضم بیابیم. تمامی پارامترهای فوق بر اساس استاندارد (APHA, 1998) اندازه‌گیری شده است. مواد اولیه برای تولید بیوگاز، مخلوط کود گوسفندی (منبع نیتروژن) با کاه برنج (منبع کربن) است.

پیش تیمار شیمیایی کاه برنج

به منظور افزایش تجزیه کاه برنج، پیش تیمار شیمیایی با هیدروکسید سدیم (سود) ۸ درصد، آمونیاک ۵ درصد، و اوره ۴ درصد انجام شد که این درصدها بر اساس پژوهش‌های انجام شده روی مواد گوناگون انتخاب گردید (Banchorndhivakol, 2002; Taniguchi et al., 2005). Zhong et al., 2011 برای تهیه اوره ۴ درصد، مقدار ۲۰ گرم اوره، برای ساختن آمونیاک ۵ درصد، مقدار ۵۴/۹ ml آمونیاک و برای تهیه سود ۸ درصد، مقدار ۴۰ گرم سود را در بالن ژوژه ۵۰۰ میلی‌لیتر ریخته‌ایم و پس از حل کردن با آب مقطر آن را به حجم رسانده‌ایم. برای هر پیش تیمار ۱۵۰ گرم کاه برنج با خردکن به قطعات ریزتر (۱۰-۵) خرد شد و با آسیاب، به ذراتی با اندازه ۳-۵ mm تبدیل شد. سپس

کرد. پژوهشگران برای کاهش زمان تجزیه مواد لیگنوسلولزی روش‌هایی را معرفی و پیشنهاد کردند، که یکی از آن‌ها انجام پیش تیمارهای گوناگون بر مواد اولیه است. روش‌های پیش تیمار شامل روش مکانیکی و فیزیکی مانند آسیاب کردن و خرد کردن برای افزایش سطح تماس مواد آلی و کاهش حجم مخزن هضم است. Zhang & Zhang., 1999; Moorhead & Nordstedt., 1993، روش شیمیایی مانند استفاده از مواد شیمیایی نظیر آمونیاک سود (Zhong et al., 2011) پروکسیدهای قلیایی (Xin & Kumakura., 1993) و اوره است. Banchorndhivakol., 2002 عملیات حرارتی مانند استفاده از دما و فشار بالا (Nizami et al., 2009) و روش بیولوژیکی نظیر کشت میکروبی و کشت قارچ و قراردادن مواد اولیه در محیط کشت و در معرض فعالیت میکروبی (Shi et al., 2009; Singh et al., 2010; Zhong et al., 2011) از دو یا چند روش مانند شیمیایی و حرارتی Rafique et al., 2010) است. تولید بیوگاز تحت تأثیر فاکتورهای مانند در دسترس بودن مواد مغذی و قابلیت تجزیه پذیری سلولز و همی سلولز و پیوستگی لیگنین با (He et al., 2008; Taherzadeh et al., 2008). پیش تیمارهای به کار گرفته شده نتایج متفاوتی ارائه می‌کنند. با مقایسه روش‌های شیمیایی و بیولوژیکی مشاهده شد که در مجموع، عملکرد روش بیولوژیکی در دماهای گوناگون مناسب‌تر است. به جز در دامنه دمایی ۳۵ تا ۴۰°C که روش شیمیایی منجر به نتیجه بهتری از نظر مقدار و زمان مورد نیاز برای تولید بیوگاز می‌گردد (Taniguchi et al., 2005) در مقایسه سه روش حرارتی، شیمیایی، و ترموشیمیایی، روش ترکیبی (ترموشیمیایی) در محدوده دمایی ۲۵ تا ۱۰۰°C تأثیر بیشتری بر تولید متان دارد که در دمای ۷۰°C افزایش ۷۸ درصدی در مقدار بیوگاز و ۶۰ درصدی در متان ایجاد می‌شود، اما دمای بالاتر از ۴۰°C فعالیت میکروارگانیسم‌های متان‌زا و تولید بیوگاز را کاهش می‌دهد (Rafique et al., 2010). همچنین استفاده از اوره و ترکیب اوره و پرتوی گاما بر کاه برنج و ساقه ذرت باعث تجزیه سلولز و کاهش ADL، ADF و

تنظیم نسبت C/N و آماده‌سازی مواد برای تولید بیوگاز

از آن‌جا که نسبت بهینه کربن به نیتروژن برای میکروارگانیسم‌های متان‌زا بین ۱۵ تا ۳۰ برحسب نوع ماده اولیه، متغیر است (Yadvika *et al.*, 2004)، در این پژوهش سه نسبت C/N: ۱۵، ۲۰ و ۲۹ به کار رفت تا اثر نسبت‌های گوناگون بررسی گردد. برای به دست آوردن این نسبت‌ها ابتدا به مقدار کربن و نیتروژن را تعیین کردیم. تعیین مقدار کربن مطابق استاندارد APHA با روش سوزاندن کاه در کوره 550°C به مدت ۳ ساعت و به دست آوردن مواد آلی^۲ (OM) و سپس مقدار کربن با فرمول $\%C = \%OM/1.8$ محاسبه شد. میزان نیتروژن موجود در کاه و کود با روش کلدال (Kjeldahl) انجام شد. برای این کار از دستگاه اتوماتیک تعیین نیتروژن کلدال استفاده شد که این فرایند در سه مرحله انجام می‌گردد: هضم، تقطیر، و تیتراسیون. برای تعیین درصد نیتروژن، ۰/۵ گرم نمونه خشک درون لوله آزمایش مخصوص هضم ریخته می‌شود، در ادامه به هر نمونه ۵ گرم کاتالیزور هضم پروتئین (NaOH) اضافه می‌گردد، و ۲۰ تا ۳۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد نیز به لوله آزمایش دارای نمونه افزوده و حمام هضم دستگاه قبلاً روشن می‌شود و پس از قراردادن لوله‌ها در دستگاه مورد نظر دمای کوره به تدریج به ۴۰۰ درجه سلسیوس می‌رسد تا هضم کامل نمونه‌ها انجام گیرد. پس از هضم و سرد شدن نمونه‌ها مقدار ۱۰۰ ml آب مقطر، ۲۰ ml اسید بوریک ۲ درصد و ۵۰ ml سود ۵۰ درصد به هر لوله دارای ماده هضم‌شده اضافه می‌شود. ۳ تا ۴ قطره معرف متیلن رد که رنگ قرمز یاقوتی است درون ارلن‌مایر ریخته و در قسمت تقطیر دستگاه کلدال تمام خودکار قرار داده می‌شود. با شروع تقطیر ماده هضم‌شده، رنگ قرمز متیلن رد به تدریج به زرد مبدل می‌گردد. نمونه تقطیر شده در ارلن‌مایر با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتراسیون می‌شود. تغییر رنگ محتویات ارلن‌مایر از زرد به قرمز نشان‌گر پایان واکنش است. با شروع تغییر رنگ ماده به قرمز یاقوتی، مقدار اسید مصرف‌شده خوانده می‌شود. درصد نیتروژن کل^۳ نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر و با توجه به مقدار اسید سولفوریک مصرفی برای تغییر رنگ ماده زرد رنگ درون ارلن محاسبه می‌شود:

کاه آسیاب‌شده در دمای ۲۰ درجه سلسیوس در ظروف شیشه‌ای با ۳۵۰ ml از هر محلول شیمیایی ترکیب گردید. روی هر ظرف با سلفون پوشانده شد و در ظرف برای جلوگیری از نفوذ هوا آب‌بندی شد. زمان پیش تیمار ۲۰ روز بود.

تعیین میزان NDF کاه پیش تیمار شده

موادی که در کاه و کلش غلات وجود دارد شده از لیگنین، سلولز، و همی‌سلولز ساخته شده است که به دلیل پیوندهای بین مولکولی قوی به آسانی شکسته نمی‌شوند. یکی از فاکتورهای تجزیه‌پذیری کاه مقدار NDF^۱ آن است که نشان‌دهنده مقدار لیگنوسلولز و فیبرهای کاه است. هدف از انجام پیش تیمارهای مختلف بر مواد لیگنوسلولزی، کاهش مقدار NDF و در نتیجه شکستن پیوندهای بین‌ساختاری مواد آلی است. این پارامتر پس از گذشت زمان لازم برای پیش تیمار شیمیایی، به روش زیر تعیین شد (APHA, 1998).

محلول تعیین NDF از ۶۰ گرم سدیم لوریل سولفات، ۳۷/۲۲ گرم EDTA، ۹/۱۲ گرم دی‌سدیم هیدروژن سولفات دهیدراته و ۲۰ ml تری اتیلن گلیکول به صورت محلول در ۲ لیتر آب مقطر ساخته شد. ۰/۵ گرم کاه خشک‌شده در آن 100°C ، با مقدار ۵۰ ml محلول تعیین NDF به مدت ۱ ساعت جوشانده شد. سپس مراحل زیر انجام شد:

۱. شستن کاه جوشیده با محلول آب مقطر روی کاغذ صافی با وزن معین؛
۲. تخلیه محلول و جداسازی کاه از آب و محلول تعیین NDF؛
۳. شستن کاه روی کاغذ صافی با استون.

سه مرحله مذکور تکرار شد و در پایان پس از قراردادن کاغذ صافی دارای باقی‌مانده کاه در آن 100°C و وزن کردن آن و کم کردن وزن کاغذ، میزان NDF به دست آمد (ماده باقی‌مانده از کاه پس از انجام مراحل بالا همان مقدار NDF کاه است). هرچه میزان فاکتور NDF کمتر شود کاه تجزیه‌پذیرتر می‌گردد (Banchorndhivakol, 2002). نتایج در بخش بعد ارائه شده است.

2. Organic Matter
3. Total Nitrogen (TN)

1. Neutral Detergent Fiber

سیستم آزمایشی شامل مخزن تفلونی آب‌بندی‌شده ۲ لیتری در نقش مخزن هضم بی‌هوازی که برای هم‌زدن مواد، روی یک شیکر قرار داشت، یک بطری شیشه‌ای آزمایشگاهی ۱/۵ لیتری دارای ۱ لیتر آب، در نقش جمع‌کننده بیوگاز، و لوله آزمایشگاهی مدرج باریک جمع‌کننده آب خروجی از مخزن تجمع‌گاز بود. اندازه‌گیری مقدار بیوگاز تولیدشده بر اساس روش پیشنهادی (Zhong *et al.*, 2011) با جابه‌جایی آب صورت گرفت، به این ترتیب که لوله‌ای لاستیکی بیوگاز تولیدشده را به بطری آب منتقل کرد و آب درون بطری (معادل بیوگاز تولیدشده) در اثر فشار حاصل از گاز، از بطری خارج و به لوله جمع‌آوری آب وارد گردید. این تحقیق به صورت یک آزمایش فاکتوریل با دو متغیر در سطح ۵ درصد (پیش‌تیمار شیمیایی و نسبت C/N) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. داده‌های حاصل از نمونه‌برداری‌ها در نرم‌افزار اکسل (۲۰۰۳) ثبت و با استفاده از نرم‌افزار (SPSS 16.0) تجزیه آماری شد. تیمارها عبارت‌اند از: ۱. ترکیب کاه پیش‌تیمار شده با سود ۸ درصد؛ ۲. ترکیب کاه پیش‌تیمار شده با آمونیاک ۵ درصد؛ و ۳. ترکیب کاه پیش‌تیمار شده با اوره ۴ درصد.

نتایج و بحث

در جدول ۱ نتایج تعیین پارامترهای گوناگون مواد اولیه آورده شده است.

جدول ۱. مقادیر پارامترهای فیزیکی و شیمیایی مواد اولیه آزمایش‌ها *

| پارامتر | ماده | |
|----------------------------|--------------|--------------|
| | کود گوسفندی | کاه برنج |
| نیتروژن کل‌دال کل (TKN) | ۲/۹۱ ± ۰/۱۶ | ۰/۷۳۷ ± ۰/۰۸ |
| مقدار کربن (C) | ۳۹/۱۸ ± ۰/۹۸ | ۴۴/۶۶ ± ۲/۰۷ |
| نسبت کربن به نیتروژن (C/N) | ۱۳/۵ ± ۱/۰۲ | ۶۱/۲۹ ± ۹/۵ |

* تمامی پارامترها به صورت میانگین سه تکرار و با انحراف معیار هستند.

همان گونه که در جدول ۱ آمده است کود گوسفندی دارای نیتروژن بیشتر و کربن کمتری در

$$\%TN = \frac{(N * V * 14 * 100)}{m * 1000}$$

که N نرمالیت اسید سولفوریک برابر با ۰/۱، V حجم اسید مصرفی برای تغییر رنگ محلول از زرد به قرمز و m مقدار اولیه نمونه خشک است که در این جا وزن کود و کاه برابر ۰/۵ gr است.

پس از تعیین کربن و نیتروژن، کاه و کود با نسبت‌های وزنی مناسب ترکیب شدند (کود به کاه به ترتیب با نسبت‌های وزنی ۱۲۵:۲۵، ۱۳۰:۲۰، و ۱۳۵:۱۵ برای ایجاد نسبت‌های C/N برابر با ۲۹، ۲۰، و ۱۵). برای تولید بیوگاز در هر آزمایش ۱۵۰ gr ترکیب کود گوسفندی و کاه پیش‌تیمار شده، همراه با ۳۰۰ ml آب مقطر و ۲۰ gr محلول غنی از باکتری‌های متان‌زا (ماده‌ای در شکمبه گوسفند که دارای باکتری‌های فعال متانوژن است) در مخزن هضم با دمای ۴۰±۲°C به مدت ۲۵ روز قرار گرفت. برای تعیین درصد متان روزانه نیز از سنسور متان با دقت ۵۰-۵۰۰۰ ppm استفاده شد. این سنسور در قسمت فوقانی مخزن هضم نصب و به نمایشگر دیجیتال وصل شد. نمای کلی سیستم آزمایشگاهی تولید بیوگاز در شکل ۱ آورده شده است. توجه شود که این سیستم در اتاقکی با دمای ۴۰°C قرار داشت و مخزن هضم روی شیکر قرار داشت و برای اختلاط بیشتر مواد اولیه، روزی ۳ بار کار می‌کرد. سنسورهای متان و دما نیز به آن متصل بود.



شکل ۱. نمای از سیستم آزمایشگاهی تولید بیوگاز (به ترتیب از چپ: جمع‌کننده بیوگاز، مخزن هضم بی‌هوازی، جمع‌کننده آب خروجی معادل مقدار بیوگاز تولیدشده)

۱۵، ۲۰، و ۲۹ انتخاب شد. وو و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه‌شان روی کود خوک (با نسبت C/N بین ۶ تا ۸ برحسب مرحله رشد دام) مشاهده کردند که بهترین نسبت C/N برای تولید بیوگاز از این ماده بین ۱۵/۵ تا ۱۹ است. هرچند که در بسیاری از پژوهش‌ها مشاهده شده که مصرف کربن (به‌منزله ماده غذایی میکروارگانیسم‌های متان‌زا) ۲۵ تا ۳۵ برابر سریع‌تر از مصرف نیتروژن (ماده مورد نیاز برای ساخت و ساز سلولی) است (Yadvika et al., 2001).

اثر پیش تیمار شیمیایی بر تجزیه کاه برنج

مقدار NDF کاه پس از عمل پیش تیمار با مواد گوناگون در جدول ۲ ارائه شده است.

مقایسه با کاه است. اگر مقدار کربن در مخزن هضم ناکافی باشد، میکروارگانیسم‌ها قادر به فراهم کردن مواد غذایی مورد نیازشان نیستند. در صورتی که مقدار نیتروژن کم باشد جمعیت میکروبی در حد پایینی باقی می‌ماند که مدت زمان تجزیه مواد آلی را بسیار طولانی می‌کند. نیتروژن بیش از حد لزوم نیز به صورت گاز آمونیاک از سیستم خارج می‌شود. بنابراین، برای دسترسی به میزان مناسب مواد غذایی و مواد لازم برای ساخت و ساز سلولی باید این دو ماده با نسبت‌های مناسب با هم ترکیب شوند. مقدار کربن به نیتروژن مناسب برای هضم به وسیله باکتری‌های بی‌هوازی، بسته به نوع مواد اولیه بایستی در محدوده ۱۵ تا ۳۰ باشد. در این پژوهش برای مشاهده تأثیر نسبت C/N بر تولید بیوگاز، نسبت‌های

جدول ۲. مقادیر NDF قبل و بعد از پیش تیمار شیمیایی *

| نوع ماده | درصد NDF | درصد کاهش NDF نسبت به شاهد |
|---------------------------------|-------------|----------------------------|
| کاه پیش تیمار نشده | ۶۶/۷ ± ۰/۵۸ | - |
| کاه پیش تیمار شده با سود ۸٪ | ۲۰ ± ۱ | ۶۷ |
| کاه پیش تیمار شده با آمونیاک ۵٪ | ۶۳ ± ۱/۲۶ | ۵/۵۵ |
| کاه پیش تیمار شده با اوره ۴٪ | ۶۱/۸ ± ۲/۶۴ | ۷/۳۵ |

* تمامی پارامترها به صورت میانگین سه تکرار و با انحراف معیار هستند.

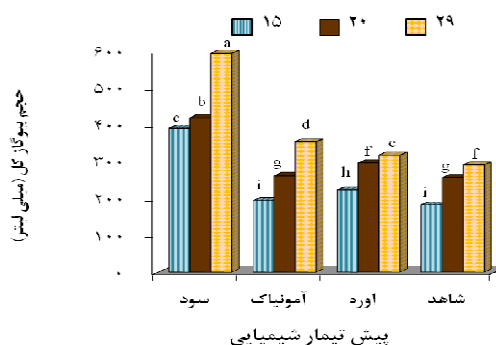
اکسیژن قرار می‌گیرد و به این ترتیب پلیمرهای لیگنینی تجزیه و به ساختارهای ساده‌تر تبدیل می‌شوند (Zhong et al., 2011).

عملکرد مثبت مواد شیمیایی به کاررفته در پیش تیمار کاه برنج بر تجزیه پذیری آن با نتایج (Zhong et al., 2011) سازگار است. آن‌ها با استفاده از سود ۸ درصد، آمونیاک ۵ درصد، و اوره ۴ درصد برای پیش تیمار شیمیایی ساقه و کلش ذرت، تأثیر مثبت این مواد بر تجزیه کلش‌های ذرت را آزمودند و مشاهده کردند که بیشترین کاهش در مقدار NDF را در پیش تیمار با سود رخ می‌دهد. بررسی‌های Sundstol et al. (1978)، Raininko et al. (1981)، نشان می‌دهد که پیش تیمار با سود، آمونیاک، و اوره به تجزیه مؤثر مواد لیگنوسولولزی مانند کاه و کلش برنج، گندم و ذرت می‌انجامد.

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، پیش تیمار شیمیایی بر کاه برنج در نقش ماده‌ای دیرتجزیه‌پذیر باعث کاهش درصد NDF شد. مقایسه‌ای ساده بین نتایج NDF کاه تیمار نشده و تیمار شده نشان می‌دهد که مقدار NDF در پیش تیمار با سود به ۲۰ درصد رسیده که در مقایسه با کاه بدون پیش تیمار NDF آن حدود ۶۷ درصد کاهش یافته است و عملکرد بهتر سود را در مقایسه با آمونیاک و اوره بر افزایش تجزیه‌پذیری کاه نشان می‌دهد. بیشترین کاهش NDF در پیش تیمار با سود مشاهده شد که دلیل آن شدت عمل سود بود که ماده‌ای قوی در شکستن ساختار کاه برنج است. در نتیجه تأثیر سود بر ساختار لیگنینی کاه، یون -OH پیوند بین مولکولی لیگنین را می‌شکند و جایگزین یون اکسیژن در ترکیب آن می‌شود. یون + Na نیز در کنار یون

با تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش تولید بیوگاز برای کاه برنج پیش‌تیمارشده در ترکیب با کود، مشاهده شد که تأثیر پیش‌تیمار شیمیایی و نسبت C/N و اثر متقابل آن‌ها بر حجم کل بیوگاز در سطح ۱ درصد معنی‌دار است. در پیش‌تیمار با سود ۸ درصد در نسبت کربن به نیتروژن ۲۹ و پس از آن در نسبت ۲۰ و ۱۵ بالاترین عملکرد بیوگاز به دست آمد. همچنین در تیمارهای شاهد و پیش‌تیمار با آمونیاک در نسبت C/N برابر با ۱۵ کمترین عملکرد بیوگاز مشاهده شد. در جدول ۳ درصد افزایش بیوگاز در پیش‌تیمارهای گوناگون در مقایسه با شاهد نمایش داده می‌شود.

اثر پیش‌تیمار شیمیایی بر تولید بیوگاز و درصد متان حجم جمعی^۱ یا حجم کل بیوگاز و درصد متان برای کاه پیش‌تیمارشده در ترکیب با کود گوسفندی در نسبت‌های مختلف C/N اندازه‌گیری شد (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲. حجم کل بیوگاز حاصل از کاه برنج با کود دامی در سه نسبت C/N (۱۵، ۲۰ و ۲۹)

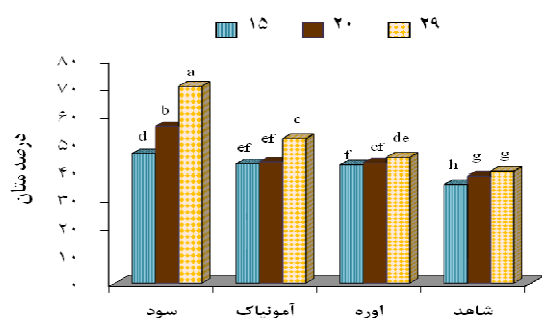
جدول ۳. درصد افزایش مقدار بیوگاز در پیش‌تیمارهای گوناگون در مقایسه با شاهد

| افزایش بیوگاز نسبت به شاهد (%) | نسبت C/N | | |
|--------------------------------|----------|-------|--------|
| | ۲۹ | ۲۰ | ۱۵ |
| پیش‌تیمار با سود | ۱۰۴ | ۶۲/۹۵ | ۱۱۴/۴۴ |
| پیش‌تیمار با آمونیاک | ۲۱/۶۲ | ۱/۸ | ۶/۷۶ |
| پیش‌تیمار با اوره | ۹/۱۵ | ۱۵/۳ | ۲۱/۹۴ |

می‌شوند و باکتری‌ها با کمبود مواد غذایی برای ادامه فعالیت خود مواجه خواهند شد. اما در پیش‌تیمار با آمونیاک روندی معکوس مشاهده می‌شود که دلیل آن تجزیه بسیار کمتر کاه به وسیله این ماده در مقایسه با دو ماده شیمیایی دیگر و در نتیجه کمبود مواد مغذی استفاده‌شده برای باکتری‌های متانوژن به‌ویژه در نسبت‌های کمتر C/N است. در این حالت، افزایش C/N می‌تواند بر تجزیه کم کاه به وسیله آمونیاک غلبه کند و مواد مغذی بیشتری را در دسترس باکتری‌های متان‌زا قرار دهد (Shanmugam & Horan., 2009). بنابراین، در مجموع اوره در مقایسه با آمونیاک اثر بیشتری بر تجزیه کاه برنج داشت، به جز در نسبت C/N ۲۹ که آمونیاک توانست بیوگاز بیشتری را تولید کند؛ زیرا بر اساس نتایج (Shanmugam & Horan., 2009) در این نسبت کربن به نیتروژن، میکروارگانیسم‌ها می‌توانند فعال‌تر باشند، میزان اسیدیته مخزن هضم تعدیل

در^۱ پیش‌تیمار با سود و اوره در نسبت C/N ۱۵ ملاحظه می‌شود که درصد افزایش بیوگاز در مقایسه با نسبت ۲۰ و ۲۹، بیشتر است که علت آن رقابت بیشتر باکتری‌های متان‌زا برای مصرف مواد مغذی است. بر اساس نتایج (Yadvika et al., 2004) باکتری‌های متانوژن در شرایط کمبود مواد غذایی، رقابت زیادی برای کسب مواد مورد نیاز خود دارند. گاهی برای وادار کردن این باکتری‌ها برای تولید سریع‌تر بیوگاز ابتدا مواد اولیه را با نسبت C/N کمتر به مخزن هضم وارد و پس از شروع واکنش، مواد اولیه را با نسبت C/N مورد نظر به مخزن تغذیه می‌کنند. از آنجا که نسبت مناسب C/N برای تجزیه بیشتر مواد آلی بین ۲۵ تا ۳۵ است نمی‌توان به‌طور دائم در مخزن از نسبت پایین C/N استفاده کرد، چرا که مواد مغذی به‌زودی مصرف

1. Cumulative volume



شکل ۳. درصد متان حاصل از کاه برنج و کود دامی در سه نسبت C/N (۱۵، ۲۰، ۲۹)

با تجزیه واریانس داده‌های مربوط به درصد متان موجود در بیوگاز برای کاه پیش تیمار شده در ترکیب با کود دامی مشاهده شد که تأثیر پیش تیمار شیمیایی و نسبت C/N و همچنین اثر متقابل این دو عامل بر درصد متان در سطح ۱ درصد معنی دار است. اثر متقابل نسبت C/N و پیش تیمار شیمیایی بر تولید متان در تیمار سود در سطح ۱ درصد معنی دار است. اما در تیمار آمونیاک فقط در نسبت ۲۹ در سطح ۱ درصد معنی دار است و در سایر نسبت‌ها چنین نیست. پیش تیمار با آمونیاک به جز در نسبت C/N مناسب تأثیر زیادی بر افزایش درصد متان موجود در بیوگاز ندارد. بنابراین، با افزایش تقریبی حجم بیوگاز در پیش تیمار با آمونیاک، درصد متان افزایش زیادی نداشته بلکه سایر گازهای موجود در بیوگاز از قبیل CO₂ و H₂S افزایش یافته است (Zhong *et al.*, 2011). پیش تیمار با اوره نیز در هیچ کدام از نسبت‌های C/N معنی دار نیست. درصد متان در تیمار سود در نسبت کربن به نیتروژن ۲۹ و ۲۰ به ترتیب برابر با ۷۰/۳۳ درصد و ۵۶ درصد بوده که تولید متان در نسبت ۲۹، ۲۰/۳۷ درصد بیشتر از نسبت ۲۰ است. همچنین تولید متان در تیمار با سود در C/N برابر با ۲۹، ۴۳/۱۲ درصد بیشتر از تیمار شاهد (با ۴۰ درصد متان در بالاترین نسبت C/N) است که این اختلاف زیاد نشان‌دهنده اثر مثبت پیش تیمار شیمیایی در نسبت C/N مناسب بر تولید متان است. در تیمارهای اوره و آمونیاک تولید متان در هیچ‌کدام از نسبت‌های C/N چندان شاخص نیست، به جز برای تیمار با آمونیاک در C/N برابر با ۲۹ که ۵۱ درصد متان به دست آمد. علت تولید پایین متان در تیمارهای مذکور، تولید کم بیوگاز در این تیمارهاست؛ چرا که تیمار اوره و آمونیاک در

می‌شود، و اثر سمی آمونیاک بر میکروارگانیسم‌های متان‌زا کمتر است.

برای بیان دلیل اختلاف زیاد بین مقادیر بیوگاز تولید شده از کاه پیش تیمار شده با سود در نسبت کربن به نیتروژن ۲۹ در مقایسه با سایر تیمارها، دو عامل مهم را می‌توان در نظر گرفت: ۱. با توجه به مقادیر NDF به دست آمده از کاه پیش تیمار شده به روش شیمیایی و کاه پیش تیمار نشده می‌توان نتیجه گرفت که تجزیه پذیری کاه تیمار شده با سود شدیدتر است و به در دسترس قرار گرفتن مواد مغذی مورد نیاز میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی و تولید بیوگاز بیشتر می‌انجامد، به طوری که در دامنه در نظر گرفته شده برای نسبت C/N، تولید بیوگاز در هر سه نسبت بالاتر از سایر پیش تیمارهاست (Bruni *et al.*, 2010). گزارش کردند که NaOH می‌تواند بخشی از لیگنین را که در کاه برنج وجود دارد تجزیه کند تا در مرحله بعدی ارگانیسم‌های اکسیدکننده آن را به اسیداستیک تبدیل کنند. اسیداستیک می‌تواند مستقیماً به وسیله متانوژن‌های استیکلاستیک به متان تبدیل شود. ۲. نسبت C/N بین ۲۵ تا ۳۵ مقدار بهینه در تولید بیوگاز است. در این بررسی، نسبت ۲۹ مقدار بهینه و کم بودن بازده در تیمار شاهد به دلیل تجزیه ناپذیر بودن کاه و کلش برنج است. پیش تیمار با آمونیاک با وجود تجزیه پذیری نسبتاً متوسط، به دلیل اثر سمی آمونیاک برای میکروارگانیسم‌های متان‌زا، تولید کم بیوگاز را در پی داشت (Shanmugam & Horan., 2009). نشان دادند که ضایعات حاصل از صنایع چرم که ماده‌ای آهکی (قلیایی) از پوست گوسفند است، نسبت C/N کم (۳/۲) و pH قلیایی بالایی (حدود ۱۱/۴) دارد که همان pH بالا سبب تولید آمونیاک و کاهش تولید بیوگاز می‌شود. نتایج آن‌ها نشان داد که وجود آمونیاک در مقادیر نسبتاً زیاد به ایجاد شرایط نامناسب برای ارگانیسم‌های متان‌زا و سبب اختلال در فعالیت آن‌ها می‌انجامد. آن‌ها برای افزایش نسبت C/N و کاهش pH ضایعات چرم را با زباله مخلوط و نسبت C/N برابر با ۱۵ و pH ۶/۵ را بهترین شرایط برای احتراز از تولید آمونیاک بیش از حد و پیشگیری از ایجاد مسمومیت میکروارگانیسم‌ها معرفی کردند.

پژوهش سود و سپس اوره بود. سود به دلیل اثر بیشتر بر شکستن ساختار لیگنوسلولزی کاه برنج و کمک به تولید اسیداستیک که در مرحله بعد مستقیماً به متان تبدیل می‌شود، و اوره نیز به دلیل اثر مثبت بر شکستن ساختمان کاه و کمک به در دسترس بودن نیتروژن استفاده‌شده برای باکتری‌های متان‌زا بهترین نتایج را ارائه کردند. اما آمونیاک با وجود شکستن ساختار لیگنینی کاه و دارا بودن نیتروژن برای کمک به تغذیه و ساخت‌وساز سلولی میکروارگانیسم‌ها، به دلیل داشتن اثر سمی بر عملکرد باکتری‌های متان‌زا تولید چندانی نداشت. تیمار شاهد به دلیل دیرتجزیه‌پذیری کاه برنج به منزله ماده لیگنوسلولزی تولید رضایت‌بخشی نداشت و این نتیجه به دست آمد که استفاده از کاه و کلش بدون پیش‌تیمار نیازمند زمان بسیار طولانی برای تجزیه و تبدیل به بیوگاز است.

مقایسه با سود در تجزیه کاه برنج چندان مؤثر نبوده، آمونیاک نیز اثر منفی بر عملکرد میکروارگانیسم‌ها داشته است و نسبت‌های C/N کمتر از ۲۵ نیز نمی‌تواند مواد مغذی مورد نیاز میکروارگانیسم‌های متانوزن را در تجزیه کاه برنج و کود گوسفندی به خوبی تأمین کند. بنابراین، عملکرد بیوگاز و به تبع آن درصد متان در این تیمارها کم بوده است.

■ نتیجه‌گیری

در این پژوهش به بررسی اثر پیش‌تیمار شیمیایی با اوره ۴ درصد، آمونیاک ۵ درصد، و سود ۸ درصد در سه نسبت کربن به نیتروژن ۱۵، ۲۰ و ۲۹ بر تولید بیوگاز کل و درصد متان از کاه برنج با کود گوسفندی پرداخته شد. مؤثرترین ماده برای پیش‌تیمار شیمیایی در این

REFERENCES

1. American Public Health Association (APHA). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed.; APHA: Washington, D.C., 1998.
2. Ballet, N., J. M. Besle., & C. Demarquilly., (1997). Effect of ammonia and urea treatments on digestibility and nitrogen of dehydrated lucerne. *Anim. Feed Sci. Technol.* 67, 69.
3. Banchorndhivakol, S. (2002). Effect of urea and urea-gamma treatments on cellulose degradation of Thai rice straw and corn stalk. *Radiation Physics & Chemistry.* 64, 417-422.
4. Bruni, E., Anders Peter. Jensen., and I. Angelidaki. 2010. Comparative study of mechanical, hydrothermal, chemical and enzymatic treatments of digested biofibers to improve biogas production. *Bioresource Technology.* 101. 8713-8717.
5. He, Y., P. Yunzhi., L. Yanping., L. Xiujin., and W. Kuisheng. 2008. Physicochemical characterization of rice straw pretreated with sodium hydroxide in the solid state for enhancing biogas production. *Energy & Fuels.* 22: 2775-2781.
6. Hilkiyah Igoni, A., M. J. Ayotamuno., C. L. Eze., S. O. T. Ogaji., and S. D. Probert. 2008. Designs of anaerobic digesters for producing biogas from municipal solid-waste. *Applied Energy.* 85: 430-438.
7. Hills, D. J., Roberts. D. W. 1981. Anaerobic digestion of dairy manure and field crop residues. *Agricultural Wastes* 1981;3(3):179-89.
8. Liu, J., Y. Wu., and N. Xu. 1995. Effects of ammonia bicarbonate treatment on kinetics of fiber digestion, nutrient digestibility and nitrogen utilization of rice straw by sheep. *Animal Feed Science and Technology.* 52 (1-2): 131-9.
9. Moller, H. B., S. G. Sommer., and B. K. Ahring. 2004. Methane productivity of manure, straw and solid fractions of manure. *Biomass and Bioenergy.* 26: 485- 495.
10. Moorhead, K. K., and R. A. Nordstedt. 1993. Batch anaerobic digestion of water hyacinth: effects of particle size, plant nitrogen content and inoculum volume. *Bioresource Technol.* 44 (1), 71-76.
11. Nizami, A. S., N. E. Korres., and J. D. Murphy. 2009. A review of the integrated process for the production of grass biomethane. *Environmental Science and Technology.* 43 (22): 8496-508.
12. Raininko, K., T. Heikkilae., M. Lampila., and V. Kossila. 1981. Effect of chemical and physical treatment on the composition and digestibility of barley straw. *Agric. Environ.* 6: 261.
13. Saeidi, S., S. J. Hashemi. And S. Y. Kazemi. 2011. Investigation on biogas production

- efficiency by application of agricultural residues. CIGR Conference. Japan. Sep 2011.
14. Shanmugam, P., and N. J. Horan. 2009. Optimising the biogas production from leather fleshing waste by co-digestion with MSW. *Bioresource technology*. 100: 4117-4120.
 15. Shi, J., R. R. S. Shivappa., and M. S. Chinn. 2009. Microbial pretreatment of cotton stalks by submerged cultivation of *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioresource Thechnology*. 100: 4388- 4395.
 16. Singh. A., N. Singh., and N. R. Bishnoi. 2010. Enzymatic hydrolysis of chemically pretreated rice straw by two indigenous fungal strains: a comparative study. *Journal of scientific and Industrial Research*. 69: 232-237.
 17. Sundstol, F., E. Coxworth., D.N. Mowat., 1978. Improving the nutritive quality of straw and other low-quality roughages by treatment with ammonia. *World Anim. Rev.* 26, 13.
 18. Taherzadeh. M. J. and K. Karimi. 2008. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 9: 1621-1651.
 19. Vivekanandan, S., and G. Kamaraj. 2011. Investigation on cow dung as co-substrate with pretreated sodium hydroxide on rice chaff for efficient biogas production. *International Journal of Science and Advanced Technology*. Volume 1. No 4.
 20. Xin, L. Z., and M. Kumakura. 1993. Effect of radiation pretreatment on enzymatic hydrolysis of rice straw with low concentrations of alkali solution. *Bioresource Technology*. 43 (1):13-7.
 21. Yadvika., Santosh., T. R. Sreekrishnan., S. Kohli., and V. Rana. 2004. Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques-a review. *Bioresource Technology*. 95 : 1 –10.
 22. Zhang, R., and Z. Zhang. 1999. Biogasification of rice straw with an anaerobic phased solids digester system. *Bioresource Technology*. 68:235-245.
 23. Zhong, W., Zh. Zhang., W. Qiao., P. Fu., and M. Liu. 2011. Comparison of chemical and biological pretreatment of corn straw for biogas production by anaerobic digestion. *Renewable Energy*. 36: 1875-1879.