



ارزیابی مورفولوژی ساختاری پسماندهای لیگنوسلولزی فراوری شده به کمک میکروسکوپ الکترونی (SEM)

عباس رجائی راد^{۱*}، محمد جواد ضمیری^۲

۱- دانشجوی دانشگاه رامین اهواز (*نویسنده مسئول: Abas.raja6720@gmail.com)

۲- استاد دانشگاه شیراز

چکیده

فراوری پسماندهای کشاورزی، گامی مهم برای افزایش گوارش پذیری آنها در نشخوارکنندگان که ناشی از تغییراتی در بافت و سطح پسماند است، مانند ایجاد حفره و کاهش لیگنین است. هدف این پژوهش بررسی امکان استفاده از عکس‌های میکروسکوپ الکترونی (SEM) برای پیشگویی افزایش گوارش پذیری پسماند برگ خرما است. به این منظور، ۶۰ گرم برگ خشک خرما با ۱۸ گرم آهک، ۶۰۰ میلی‌لیتر آب، دمای ثابت ۱۰۰ درجه، فشار اکسیژن ۷ بار و ۳ زمان ۸۰، ۱۶۰ و ۲۴۰ دقیقه در یک راکتور فراوری کننده، فراوری شد. سپس برای ارزیابی گوارش پذیری تفاله به جامانده و برگ خام (تیمار ۴) از تکنیک تولید گاز استفاده شد و سپس از هر ۴ تیمار عکس‌های SEM تهیه شد. افزایش زمان فراوری موجب افزایش معنی‌داری در گوارش پذیری و کاهش معنی‌داری در غلظت لیگنین شد. افزایش گوارش پذیری، با افزایش تعداد و اندازه حفره‌ها در بافت نمونه همراه بود. به طوری که برگ خام سطحی صاف و بدون حفره داشت ولی برگ خرماي فراوری شده برای ۲۴۰ دقیقه، سطحی پر از حفره با اندازه‌های درشت داشت. یافته‌ها نشان داد که میکروسکوپ الکترون می‌تواند ابزار ارزشمندی برای پیشگویی افزایش گوارش پذیری پسماندهای کشاورزی فراوری شده، باشد.

واژه های کلیدی: برگ خشک خرما، آهک، گوارش پذیری، میکروسکوپ الکترونی

مقدمه

در بسیاری موارد، افزایش گوارش پذیری پسماندهای کشاورزی، نیاز به نوعی فراوری دارد که باید بتواند بیشترین مقدار لیگنین را حذف کند و از سویی، سبب افزایش خلل و فرج در بافت سلولزی پسمانده شود که از این راه، جایگاه مناسب پیوند برا میکروارگانسیم‌ها افزایش یابد که سبب افزایش تجزیه این پسماندها شود (هندریسک و زیمان، ۲۰۰۹). تغییرات سه بعدی و بافت درونی نمونه را می‌توان با روش SEM بررسی کرد که در آن، تصاویری از سطح نمونه به دست می‌آید که دارای قدرت جداسازی ۲۰۰ آنگستروم است. میکروسکوپ الکترونی از مهم‌ترین روش‌های آنالیز ساختمانی نمونه‌های جامد است (کیم و لی، ۲۰۰۵). در این نوع میکروسکوپ الکترونی، الکترون‌های ثانویه انتشار یافته از سطح نمونه تصویر ۳ بعدی ایجاد می‌کنند و بدین ترتیب می‌توان تغییر در ساختار سطح را مشخص کرد. هدف این پژوهش بررسی همبستگی بین افزایش خلل و فرج ساختار برگ خشک خرماي فراوری شده با افزایش گوارش پذیری بود.



مواد و روش ها

نزدیک به ۶۰ گرم برگ خشک خرما با ۶۰۰ میلی لیتر آب و ۳۰ گرم آهک در ۴ تیمار با شرایط زیر به راکتور دو جداره فرآوری کننده با شماره ثبت ۷۴۴۳۲ انتقال داده شد. تیمار ۱: دمای ۱۰۰ درجه، فشار اکسیژن ۷ بار و زمان ۸۰ دقیقه ۲: دمای ۱۰۰ درجه، فشار اکسیژن ۷ بار و زمان ۱۶۰ دقیقه ۳: دمای ۱۰۰ درجه، فشار اکسیژن ۷ بار و زمان ۲۴۰ دقیقه ۴: برگ خام بدون فرآوری. پس از اتمام فرآوری pH با دمیدن CO₂ و رسوب کلسیم به ۷ رسانده شد، نمونه ها صاف شدند و تفرقه روی ظرف فویلی و در آون ۴۵ درجه سانتی گراد خشک شد. برای ارزیابی گوارش پذیری، روش تولید گاز استفاده شد (منک و استاین گاس، ۱۹۸۸). برای تصویر برداری ۳ بعدی از ساختار نمونه، میکروسکوپ الکترونی به کار برده شد، که برای این منظور ابتدا نمونه ها را با گاز آرگون و در دستگاه کوتینگ پوشش دهی طلا کردیم در مرحله بعد در دستگاه باریکه ای از الکترون به نمونه ها تابیده و عکس های SEM از نمونه فرآوری نشده (کنترل) و فرآوری شده با بزرگنمایی ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر، فاصله پروب دوربین تا نمونه بین ۸ تا ۱۲ میلی - متر، ولتاژ شتابی ۲۰ کیلو ولت و با تکنیک الکترون ثانویه (آشکارکننده الکترون ثانویه) گرفته شدند.

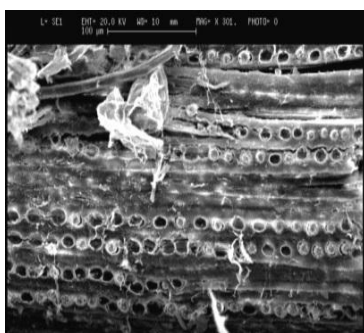
نتایج و بحث

جدول ۱، با افزایش زمان فرآوری، افزایش معنی داری در گوارش پذیری برگ خشک خرما و حجم گاز تولیدی و همزمان کاهش معنی داری در درصد لیگنین ایجاد شد ($P < 0/05$) که این خود یکی از عوامل افزایش گوارش پذیری است. افزایش گوارش پذیری پسماندهای لیگنوسلولزی وابستگی زیادی به کاهش لیگنین، کاهش شاخص کریستالینیتی و کاهش گروهای استیل همی سلولز دارد (بایوند و همکاران، ۲۰۱۰)، علت آن ایجاد حفره در بافت و شکستگی سلولز است که سبب آگیری و کلنی سازی میکروبی آنها در شکمبه می شود (بالسا و همکاران، ۲۰۱۰). عکس های میکروسکوپ الکترونی همبستگی بالایی بین افزایش اندازه و شمار حفره های ایجاد شده و افزایش گوارش پذیری نشان داد. برگ خرما بدون فرآوری (نگاره ۴) سطح صاف و بدون حفره داشت اما با افزایش زمان فرآوری شمار و اندازه حفره ها افزایش یافت به طوری که پس از ۲۴۰ دقیقه (نگاره ۳) بیشترین تعداد و اندازه در حفره ها دیده شد. در مجموع می توان نتیجه گرفت که استفاده از میکروسکوپ الکترونی، ابزاری ارزشمند جهت برآورد غیر مستقیم افزایش گوارش پذیری پسماندهای لیگنوسلولزی فرآوری شده، است.

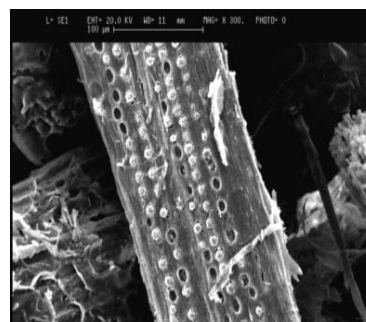
فرآسنجه های گاز			
تیمار	B	IVOMD ₂₄	لیگنین (%)
		(%)	(%)
۱	۶۸/۲۰ ^c	۴۸/۶۰ ^c	۱۰/۹ ^b
۲	۹۶/۷ ^b	۵۹/۲۰ ^b	۴/۸ ^c
۳	۱۳۲/۳۹ ^a	۶۹/۲ ^a	۳/۷ ^d
۴	۲۷/۵۶ ^d	۲۳/۲۰ ^d	۱۴/۱۳ ^a
SEM	۲/۳۳	۱/۸۴	۰/۲۳

جدول ۱: اثر فرآوری بر فرآسنجه های گاز و درصد لیگنین (بر حسب یک گرم ماده خشک).

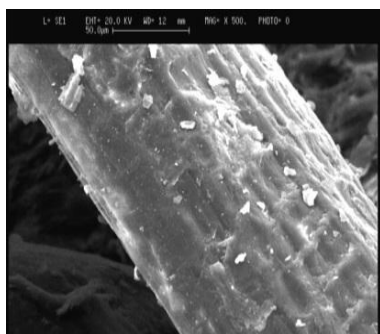
b: حجم تولید گاز از بخش نامحلول؛ IVOMD₂₄: گوارش پذیری آزمایشگاهی ماده آلی پس از ۲۴ ساعت در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی داری دارند ($P < 0.05$).



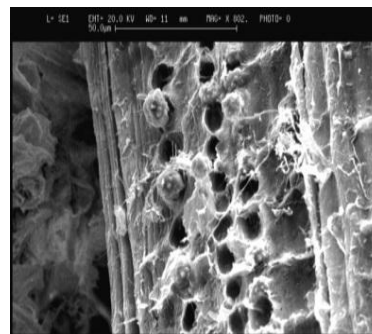
(۲)



(۱)



(۴)



(۳)

عکس‌های میکروسکوپ الکترونی نگاره : (۱) برگ فرآوری شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸۰ دقیقه، (۳) برگ فرآوری شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶۰ دقیقه، (۳) برگ فرآوری شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴۰ دقیقه (۴) برگ خام فرآوری نشده

منابع

- Balsa B, Murnena H, Allenb M. 2010. Ammonia fiber expansion (AFEX) treatment of eleven different forages: Improvements to fiber digestibility in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 155: 147–155.
- Binod P, Sindhu R, Singhania RR, Vikram S, Devi L, Nagalakshmi S, Kurien, N, Sukumaran, RK, Pandey A. 2010. Bioethanol production from rice straw: An overview, *Bioresource Technology*, 101: 4767-477.
- Hendriks A, Zeeman G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass, *Bioresource Technology*. 100, 10-18. Kim T H, Lee Y. 2005. Pretreatment and



fractionation of corn stover by ammonia recycle percolation process. *Bioresource Technology*, 2005: 2007–2013.

Menke KH, Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 23: 103–116.