

Investigation of Biogas Production from Palm Tree Leaf Using Dilute Acid and Ozone Pretreatment

Maryam Keshaii Jahromi¹, Ehsan Houshyar^{2*}

1. M.Sc. Student, Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Jahrom University, P.O. Box 74135-111, Jahrom, Iran.

2. Department of Biosystems Engineering, Faculty of agriculture, Jahrom University, P.O. Box 74135-111, Jahrom, Iran. **(Corresponding Author)** Houshyar.e@gmail.com

Abstract

Background and Objective: Iran is one of the countries with abundant palm groves and we must look for appropriate solutions to use palm tree lignocellulosic waste. In this regard, the potential for biogas production from palm tree leaf waste is very important as an accessible and indigenous source in the country.

Materials and methods: The combined effects of sulfuric acid percentage was studied at four levels and the pretreatment time at two levels. Also, the combined effects of ozonation time was studied at three levels and the moisture content of palm tree leaves was studied at two levels. All experiments, on the amount of biogas and methane produced, were conducted based on a factorial design. The main and interaction effects of the factors were analyzed using SPSS 22 software and Duncan's test.

Results: The maximum daily biogas production reached 540 ml/L with 1% acid concentration and 440 ml/L with 4 hours of ozonation. Based on the cumulative methane produced and the amount of volatile solids (VS) reduced, the best acid pretreatment can yield approximately 374 ml/gr VS of biogas and 173 ml/gr VS of pure methane. In comparison, the best ozone pretreatment can produce around 175 ml/gr VS of biogas and 64 ml/gr VS of pure methane.

Conclusion: The lignocellulosic biomass of palm tree leaves can be effectively used for energy production with appropriate pretreatment. Further research is essential to evaluate other pretreatment methods to find the best approach for maximizing biogas yield from this affordable and readily available resource.

Keywords: Biogas, Methane, Anaerobic Digestion, Lignocellulosic Wastes, Renewable Energy, Palm Tree

Received: 2025/02/28

Accepted: 2025/06/01

Doi: 10.22038/jreh.2025.90016.1725

Open Access Policy: This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. To view a copy of this licence, visit <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ارزیابی تولید بیوگاز از برگ درخت نخل با استفاده از پیش‌فرآوری اسید رقیق و گاز ازن

مریم کشائی جهرمی^۱، احسان هوشیار^{۲*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد انرژی‌های تجدیدپذیر، گروه مهندسی مکانیک، دانشکده مهندسی، دانشگاه جهرم، جهرم،

ایران

۲. دانشیار گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران. (نویسنده مسئول)

Houshyar.e@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: ایران یکی از کشورهای دارای نخلستان‌های فراوان است و بایستی به دنبال راهکارهای مناسب در جهت استفاده از ضایعات لیگنوسلولزی درخت نخل باشیم. در این راستا پتانسیل تولید بیوگاز از ضایعات برگ درخت نخل به عنوان یک منبع در دسترس و بومی کشور بسیار ضروری است.

مواد و روش‌ها: اثر ترکیبی درصد اسید سولفوریک در چهار سطح و زمان پیش‌فرآوری در دو سطح مورد بررسی قرار گرفت. همچنین اثر ترکیبی زمان ازن‌دهی در سه سطح و میزان رطوبت برگ درخت نخل در دو سطح بررسی گردید. تمامی آزمایشات در میزان بیوگاز و متان تولیدی بر مبنای فاکتوریل انجام شد و اثرات ساده و ترکیبی عوامل با نرم‌افزار SPSS 22 و آزمون دانکن تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: حداکثر مقدار تولید روزانه بیوگاز با غلظت ۱٪ اسید ۵۴۰ ml/L و با ۴ ساعت ازن‌زنی ۴۴۰ ml/L بدست آمد. برطبق مقدار متان تجمعی تولید شده و مقدار VS کاهش یافته می‌توان گفت که با بهترین پیش‌فرآوری اسیدی می‌توان حدود ۳۷۴ و ۱۷۳ ml/gr VS بیوگاز و متان خالص تولید کرد. در مقایسه با بهترین پیش‌فرآوری ازن می‌توان حدود ۱۷۵ ml/gr VS و ۶۴ ml/gr VS بیوگاز و متان خالص دست یافت.

نتیجه‌گیری: از منابع لیگنوسلولزی برگ‌های درخت نخل بخوبی می‌توان با پیش‌فرآوری مناسب در جهت تولید انرژی اقدام نمود. تحقیقات بیشتری در جهت ارزیابی روش‌های دیگر پیش‌فرآوری نیز ضروری است تا بهترین روش با بالاترین بازده تولید بیوگاز از این منبع ارزان و در دسترس بدست آید.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

کلیدواژه‌ها: بیوگاز، متان، هضم بی‌هوازی، ضایعات لیگنوسلولزی، انرژی تجدیدپذیر، درخت نخل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۱

مقدمه

امروزه با افزایش چالش‌های زیست‌محیطی ناشی از مصرف سوخت‌های فسیلی و انتشار گازهای گلخانه‌ای، توجه به منابع انرژی تجدیدپذیر و پایدار بیش از پیش ضرورت یافته است. در این میان، تولید بیوگاز از بقایای کشاورزی به ویژه ضایعات درخت نخل، به عنوان یک راهکار اقتصادی و اکولوژیکی مطرح شده است (۱ و ۲). نخلستانهای گسترده در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان، سالانه مقادیر قابل توجهی بقایای لیگنوسلولزی مانند تنه، برگ، خوشه‌های میوه و الیاف نخل تولید می‌کنند که معمولاً به صورت مدیریت نشده سوزانده یا دفن می‌شوند. یک درخت بطور متوسط سالیانه بین ۲۵ تا ۴۰ کیلوگرم برگ خشک تولید می‌کند (۳). این امر نه تنها آلودگی منابع آب، هوا و خاک را به دنبال دارد، بلکه سبب از دست رفتن یک منبع بالقوه انرژی می‌شود.

در فرآیند هضم بی‌هوازی جهت تولید بیوگاز چهار مرحله اساسی بایستی طی شود که عبارتند از: هیدرولیز، اسیدزایی، استات‌زایی، و متان‌زایی. مرحله هیدرولیز یک مرحله محدود کننده است که سرعت فرآیند هضم بی‌هوازی را معین می‌کند و به خصوص در مواد نشاسته‌ای و لیگنوسلولزی اهمیت بیشتری دارد، زیرا ساختار این مواد دسترسی باکتری‌ها به پلیمرهای پیچیده را محدود کرده و سرعت هضم کاهش می‌یابد. روش‌های پیش‌فرآوری مختلف فیزیکی و شیمیایی توسعه داده شده تا این ساختار پیچیده را شکسته و سرعت هیدرولیز را بهبود بخشد (۴ و ۵). تحقیقات مختلفی در رابطه با کاربرد انواع روش‌ها بر روی مواد مختلف به طور پیوسته در حال انجام است تا بهترین حالت پیش‌فرآوری برای هر ماده خام لیگنوسلولزی به دست آید.

طاهرداناک و همکاران در استفاده از اسید سولفوریک رقیق برای بهبود تولید بیوگاز از گیاه گندم با پیش‌فرآوری در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد برای مدت زمان‌های مختلف ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه نشان دادند که حداکثر بازده متان $302/4 \text{ ml/gr VS}$ پس از پیش‌فرآوری ۱۲۰ دقیقه‌ای به دست آمد که تنها ۱۵/۵٪ بیشتر از تیمار بدون پیش‌فرآوری بود (۶). سیوای چوروزی و همکاران در سال ۲۰۱۹ در مطالعه‌ای نشان دادند که گرمایش مایکروویو همراه با پیش‌فرآوری اسید سولفوریک به طور قابل توجهی تولید بیوگاز از زیست توده ذرت سیلویی را افزایش می‌دهد (۷). حسن و همکاران در یک مطالعه نشان دادند که پیش‌فرآوری با گاز ازن به طور قابل توجهی تولید بیوگاز از جلبک سبز را افزایش می‌دهد، به طوری که بالاترین بازده بیوگاز با $498/75$ میلی‌لیتر بر گرم مواد فرار با استفاده از تلقیح کود گاوی در دوز ازن ۲۴۹ میلی‌گرم ازن بر بر گرم مواد فرار حاصل شد (۸). هدایی و همکاران به بررسی تأثیر پیش‌فرآوری ازن‌زنی بر تولید بیوگاز از لجن فعال غلیظ‌شده پرداختند و نتایج آنها نشان داد که دوز پایین‌تر ازن برای تولید بیوگاز عملکرد خوبی دارد، در حالی که دوز بالاتر باعث کاهش بازده بیوگاز و افزایش تقاضای انرژی می‌شود. به طور کلی، اثربخشی پیش‌تیمار ازن‌زنی با زمان‌های ماند طولانی‌تر کاهش یافت که نشان‌دهنده تأثیر پیچیده آن بر تولید بیوگاز است (۹).

فرآیند هضم بی‌هوازی منجر به کاهش حجم مواد شده و آلودگی‌ها و آفات احتمالی در ضایعات را از بین می‌برد. از دیدگاه اقتصادی، استفاده از این ضایعات به عنوان ماده اولیه تولید بیوگاز، هزینه‌های مدیریت پسماند را کاهش می‌دهد و در عین حال، انرژی تجدیدپذیری برای مصارف خانگی یا صنعتی را فراهم می‌کند (۱۰ و ۱۱). مواد به دست آمده از هاضم‌های بی‌هوازی نیز می‌توانند در مراحل بعدی به عنوان کود کشاورزی و یا کمپوست به صورت تکی یا ترکیبی با مواد دیگر به کار گرفته شوند. به این ترتیب احتمالاً بخشی از نیاز خاک کشاورزی به مواد آلی برطرف خواهد شد.

اما با توجه به اینکه درخت نخل و محصول خرما بومی برخی کشورهای خاص می‌باشد تحقیقات مرتبط با تولید انرژی از بقایای این درخت هنوز خیلی گسترده نمی‌باشد. شهرستان جهرم در جنوب استان فارس حدود ۲۵٪ خرما را در استان فارس را تولید می‌کند و یکی از قطب‌های مهم تولید خرما در استان فارس به شمار می‌رود. با توجه به میزان بقایای برگ درخت خرما و اهمیت تولید انرژی پاک تحقیقات مناسبی باید صورت پذیرد تا از این مواد در دسترس بهترین استفاده ممکن شود. بنابراین با توجه به تحقیقات گذشته که اثر اسید رقیق و ازن بر روی مواد لیگنوسلولزی مثبت ارزیابی کرده‌اند، هدف پژوهش حاضر بررسی اثر پیش‌فرآوری اسید رقیق و ازن بر روی چوب درخت خرما و مقدار تغییر در تولید بیوگاز از آن می‌باشد. با توجه با اطلاعات موجود در این پژوهش برای اولین بار اثر پیش‌فرآوری اسید رقیق و ازن بر روی مقدار بیوگاز از چوب درخت خرما بررسی می‌شود.

روش کار

آماده‌سازی مواد خام

حدود ۱۰۰ کیلوگرم نمونه چوب برگ درخت خرما از سطح ۳ باغ از باغات شهرستان جهرم بدست آمد و با آسیاب صنعتی به ذرات بزرگ تبدیل شد. سپس با آسیاب آزمایشگاهی ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه آسیاب شده و با الک ۰/۵ میلیمتر الک شد تا ذرات ریز و یکنواخت بدست آید (شکل ۱). قابل ذکر است که بالای ۹۰٪ خرماي شهرستان از نوع شاهانی می باشد و چوب جمع آوری شده نیز مربوط به همین نمونه خرما می باشد.



شکل ۱. برگ درخت خرما و ذرات آسیاب شده آن

پیش‌فرآوری اسید رقیق و ازن

در آزمایشات از پیش‌فرآوری اسید رقیق با استفاده از اسید سولفوریک ۹۹٪ (شرکت مرک) استفاده گردید. چندین پژوهش جهت پیش‌تیمار مواد مختلف لیگنوسلولزی با اسید سولفوریک رقیق در محدوده ۰/۵ تا ۲ درصد و زمان کمتر از ۱۲۰ دقیقه به نتایج خوبی رسیده‌اند (۶ و ۱۲). با در نظر گرفتن پژوهش‌های گذشته درصد اسید سولفوریک در چهار سطح (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد با نام‌های A1 تا A4) و زمان پیش‌فرآوری در دو سطح ۴۰ و ۸۰ دقیقه (با نام‌های B1 و B2) در دمای °C ۳۰-۲۷ با دو تکرار مورد بررسی قرار گرفت. بنابراین تعداد کل آزمایشات با بهره‌گیری از آزمایشات فاکتوریل ۱۶ عدد (۴×۲×۲) می باشد.

در پیش‌فرآوری با گاز ازن مقدار ازن زمان و رطوبت مواد در نظر گرفته می شود که محدوده مورد نظر با توجه به پیشینه پژوهش انتخاب گردید (۸). در آزمایشات پیش‌فرآوری با گاز ازن، زمان ازن دهی در سه سطح ۲، ۴ و ۱۰ ساعت (با نام‌های O1 تا O3) و میزان رطوبت برگ درخت نخل در دو سطح ۳۰٪ و ۵۰٪ (با نام‌های M1 و M2) در دمای °C ۲۷-۳۰ و با دو تکرار بررسی گردید. بنابراین تعداد کل آزمایشات با بهره‌گیری از آزمایشات فاکتوریل ۱۲ عدد (۳×۲×۲) می باشد. جهت اطمینان از رطوبت ۳۰ و ۵۰ درصد برگ درخت نخل، ابتدا مواد در آون در دمای به مدت ۲۴ ساعت خشک شد و سپس در ۷۰ و ۵۰ گرم چوب درخت، به ترتیب ۳۰ و ۵۰ سی سی آب اضافه شد تا رطوبت به مقدار ۳۰٪ و ۵۰٪ برسد. میزان غلظت ازن بصورتی تنظیم شد که در بطری حاوی مواد هر ۱۰ دقیقه به مدت یک دقیقه ۲۰ گرم گاز ازن تزریق می شود. تزریق گاز ازن با دستگاه ازن ساز ۲۰ گرمی (مدل DNC 20G ساخت چین) انجام گردید.

هاضم‌های آزمایشگاهی و اندازه‌گیری بیوگاز

پس از پیش‌فرآوری مواد آماده ورود به هاضم‌ها هستند. آزمایشات در ظروف ۱۰۰۰ میلی لیتر و در دمای حدود °C ۲۰ انجام گردید. بطری‌های آزمایش یک لیتری با آببندی و شیر مناسب جهت نمونه‌گیری از گاز و محلول آماده شد (شکل ۲). تمام بطری‌ها در مدت زمان آزمایش در محیط تاریک نگهداری می شدند. قابل ذکر است که قبل از شروع آزمایش‌ها شرایط بی‌هوازی برای تمام هاضم‌ها پس از آبیگری فراهم شد. جهت بی‌هوازی سازی بطری‌ها در ابتدا هوای موجود در بطری با فشردن آن خالی شده و سپس گاز نیتروژن به جای آن در بطری‌ها تزریق گردید.

مقدار pH جهت تولید بهینه متان در محدوده ۷ تنظیم شد و ۷۵۰ میلی‌لیتر از حجم بطری‌ها پر شد. با توجه به پیشینه پژوهش مقدار TS در حدود ۹٪ تنظیم شد و جهت تغییر نسبت کربن به نیتروژن مواد دیگری اضافه نشد تا نتیجه آزمایشات براساس عملکرد واقعی برگ درخت نخل با حداقل اختلالات انجام شود. آزمایشات در مدت زمان ۶۰ روز بود و هر سه روز داده‌برداری انجام می‌شد. آزمایشات دو بار تکرار شده و داده‌ها با طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی در SPSS 22 تحلیل شد. همچنین جهت آزمون تجزیه واریانس از آزمون دانکن استفاده شد.



شکل ۲. قسمتی از هاضم‌های آزمایش تولید بیوگاز

جهت سنجش درصد متان در بیوگاز از دستگاه گازسنج BW MAX XT II و جهت سنجش حجم بیوگاز تولید شده از دستگاه حجم‌سنج گاز مدل Testoo 1100 استفاده شد (شکل ۳). این دو دستگاه با لوله مناسب به بطری هاضم متصل شده و داده‌ها یادداشت گردید. همچنین جهت اندازه‌گیری تغییرات pH از pH سنج دستی مدل هانا (کشور ارمنستان) استفاده شد. آزمایشات مقدار مواد جامد کل (TS) و مواد جامد فرار (VS) بر طبق استاندارد آب و فاضلاب شماره 2540 B, E (۱۳) انجام شد.



شکل ۳. سامانه اندازه‌گیری حجم بیوگاز و درصد متان تولید شده

یافته‌ها

ویژگی‌های شیمیایی چوب درخت خرما در مقایسه با کود دامی

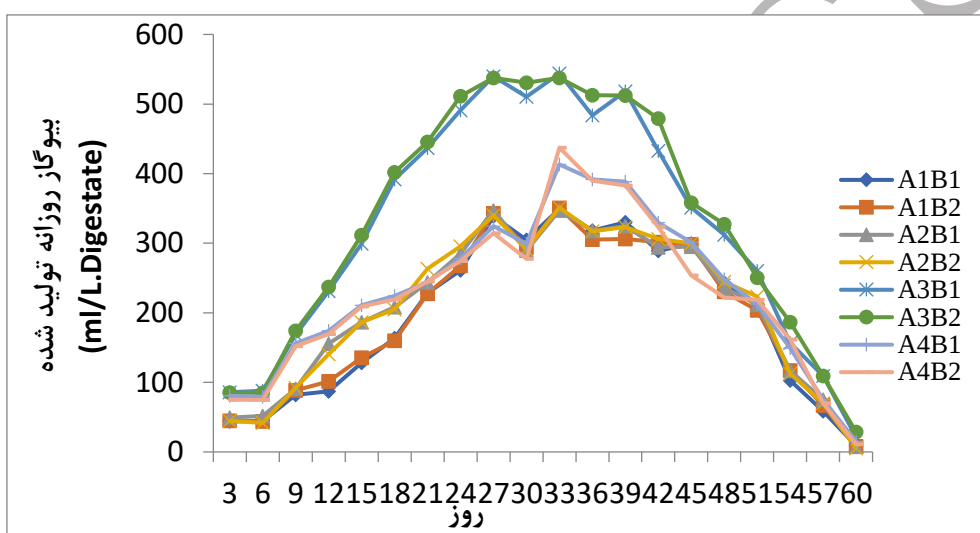
کود دامی نیتروژن بیشتری نسبت به مواد لیگنوسلولزی دارد و در بسیاری پژوهش‌ها برای افزایش نسبت کربن به نیتروژن همراه با مواد لیگنوسلولزی بکار می‌رود (۱۴). با توجه به داده‌های بدست آمده در جدول ۱ چوب درخت خرما در مقایسه با کود دامی کربن بالاتر و نیتروژن کمتری دارد. با توجه به اینکه منابع بسیاری نسبت مطلوب کربن به نیتروژن را ۲۰ تا ۳۰ به یک ذکر کرده‌اند (۱۵)، تصمیم گرفتیم که مقدار بیوگاز تولیدی از چوب درخت خرما را بدون افزودن کود دامی مورد آزمایش انجام دهیم. همچنین مشخص است که درصد TS چوب درخت خرما بیشتر از کود دامی و درصد VS پایین‌تر از آن می‌باشد.

جدول ۱. ویژگی های شیمیایی برگ درخت خرما و کود دامی

پارامتر	مواد جامد کل (%)	مواد جامد فرار (%)	رطوبت (%)	کربن (%)	نیتروژن (%)	نسبت کربن به نیتروژن
چوب درخت خرما	۸۶/۸	۷۵/۳	۱۳/۲	۵۴/۶	۲/۵	۲۱/۸:۱
کود دامی	۷۲/۳	۸۱/۵	۲۸/۸	۳۳/۲	۱/۲	۲۷/۷:۱

اثر روش پیش‌فرآوری اسید رقیق و ازن بر تولید بیوگاز و متان

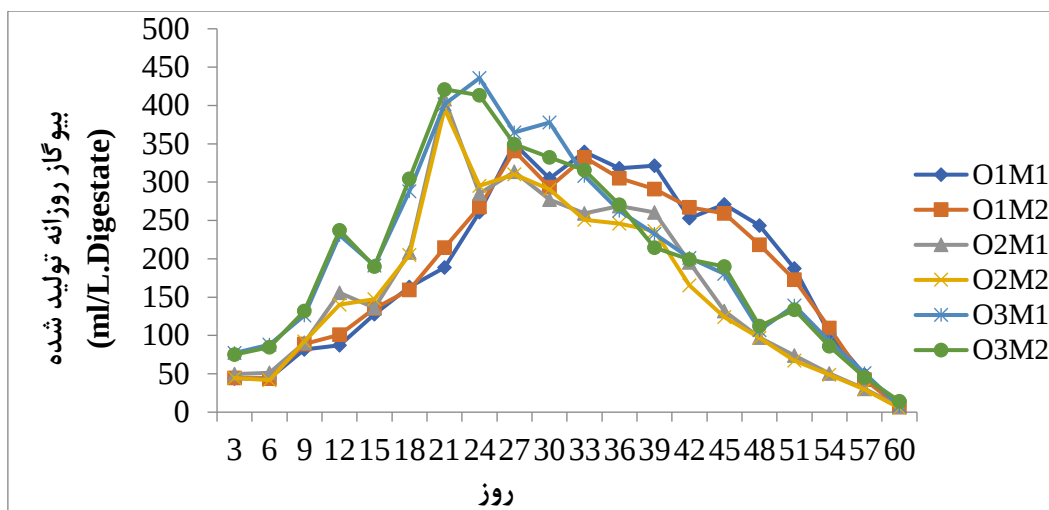
همانطور که از شکل ۴ مشاهده می‌شود در آزمایشات پیش‌فرآوری اسیدی در برخی تیمارها از روزهای اول تا روز ۲۵ روند تولید بیوگاز صعودی بوده است و تقریباً از روز ۲۵ تا ۴۵ روند ثابت در مقدار حداکثر در تولید طی شده است و پس از آن روند تولید بیوگاز حالت نزولی به خود گرفته است. حداکثر مقدار تولید روزانه بیوگاز در برخی تیمارها مانند A3B1 و A3B2 حدود ۵۴۰ ml/L رسیده است، در برخی مانند A4B1 و A4B2 به حداکثر ۴۳۰ ml/L و در بقیه تیمارها به ۳۵۰ ml/L رسیده است که حدود ۲۰۰ ml/L از حداکثر بیوگاز تولید شده کمتر می‌باشد.



شکل ۴. تولید روزانه بیوگاز از تیمارهای پیش‌فرآوری شده با اسید (A درصد اسید و B زمان پیش‌فرآوری)

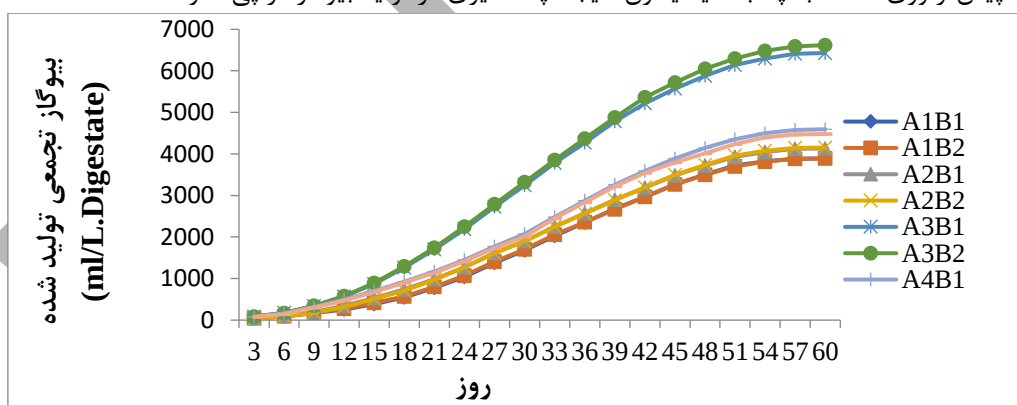
شکل ۵ نشان می‌دهد که حداکثر مقدار تولید بیوگاز روزانه در تیمارهای پیش‌فرآوری شده با گاز ازن به حداکثر مقدار ۴۴۰ ml/L رسیده است که از حداکثر مقادیر پیش‌فرآوری شده با اسید ۱۰۰ ml/L کمتر است. مقایسه تولید روزانه بیوگاز در دو روش پیش‌فرآوری به خوبی نشان می‌دهد که تیمارهای پیش‌فرآوری شده با ازن تقریباً در پانزده روز اول با شیب کمتری بیوگاز تولید کرده‌اند و در هفته‌های بعدی در برخی از تیمارها با همین شیب ملایم و در برخی از تیمارها مانند O3M1، O3M2، O2M1 و O2M2 تا روز ۲۴ با شیب زیادی به حداکثر تولید بیوگاز رسیده‌ایم.

نکته قابل توجه آن است که در پیش‌فرآوری با اسید در برخی از تیمارها از روز ۲۵ تا ۴۵ یعنی به مدت ۲۰ روز حداکثر مقدار بیوگاز در حدود ۵۵۰ ml/L تولید شده و بعد از آن روند نزولی آغاز گردیده است، اما در پیش‌فرآوری با ازن در طول تنها چند روز (روز ۲۱ تا ۲۴) مقدار تولید بیوگاز به حداکثر رسیده و سپس دوباره روند نزولی شروع شده است.

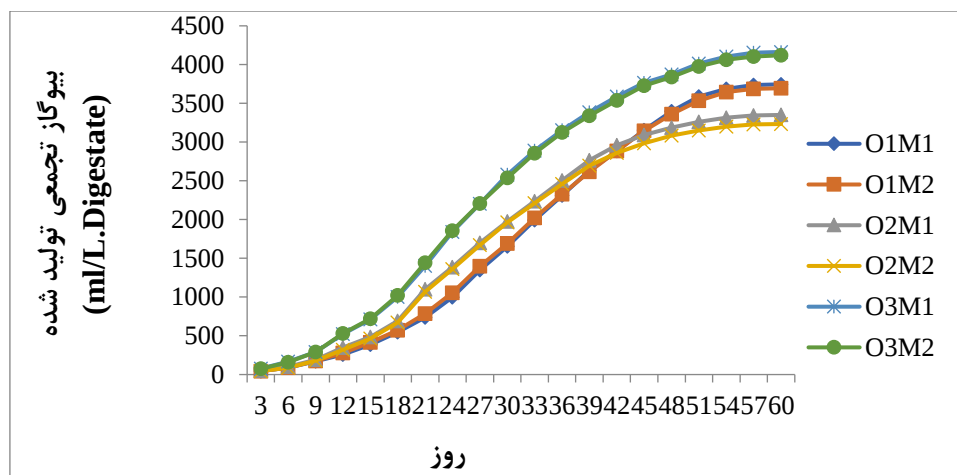


شکل ۵. تولید روزانه بیوگاز از تیمارهای پیش‌فرآوری شده با ازن (O زمان ازن زنی و M رطوبت مواد)

تولید تجمعی بیوگاز در پیش‌فرآوری اسیدی نشان می‌دهد (شکل ۶) که تقریباً در تمامی تیمارها در طول ۲۰ روز اول تولید بیوگاز با شیب کمتر و سپس از روز ۲۱ تا ۵۶ با شیب نسبتاً زیادی تولید ادامه داشته است. با پیش‌فرآوری ازن در دو تیمار O2M1 و O2M2 از روز ۴۰ به بعد هم در تولید روزانه و هم در تجمعی بیوگاز (شکل ۷) افت زیادی مشاهده شد که یکی از دلایل آن می‌تواند کاهش pH هاضم باشد که در جای خود بحث می‌شود. مقایسه نمودارهای تولید تجمعی بیوگاز نکات جالبی را مشخص می‌کند. تقریباً در هر دو نمودار شامل تمامی تیمارهای پیش‌فرآوری شده با اسید و ازن در بیست روز اول به حداکثر تولید تجمعی بیوگاز ۱۰۰۰ ml/L رسیده‌ایم با این حال از روز ۲۰ تا ۵۶ با پیش‌فرآوری ازن به حداکثر تولید تجمعی مقدار ۴۰۰۰ ml/L و با پیش‌فرآوری اسیدی به تولید مقدار ۶۰۰۰ ml/L بیوگاز رسیده‌ایم که ۵۰٪ بیشتر است. حداقل تولید تجمعی بیوگاز پس از شصت روز در پیش‌فرآوری اسیدی ۳۸۰۰ ml/L و در پیش‌فرآوری ازن ۲۵۰۰ ml/L می‌باشد که نشان می‌دهد پیش‌فرآوری نامناسب چه با اسید یا ازن نتیجه چشمگیری در تولید بیوگاز در پی نخواهد داشت.



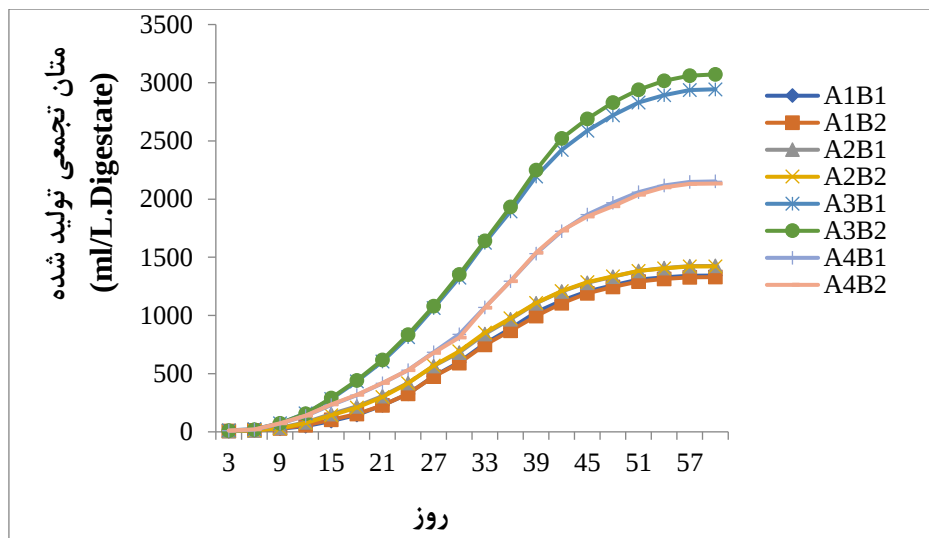
شکل ۶. تولید تجمعی بیوگاز از تیمارهای پیش‌فرآوری شده با اسید (A درصد اسید و B زمان پیش‌فرآوری)



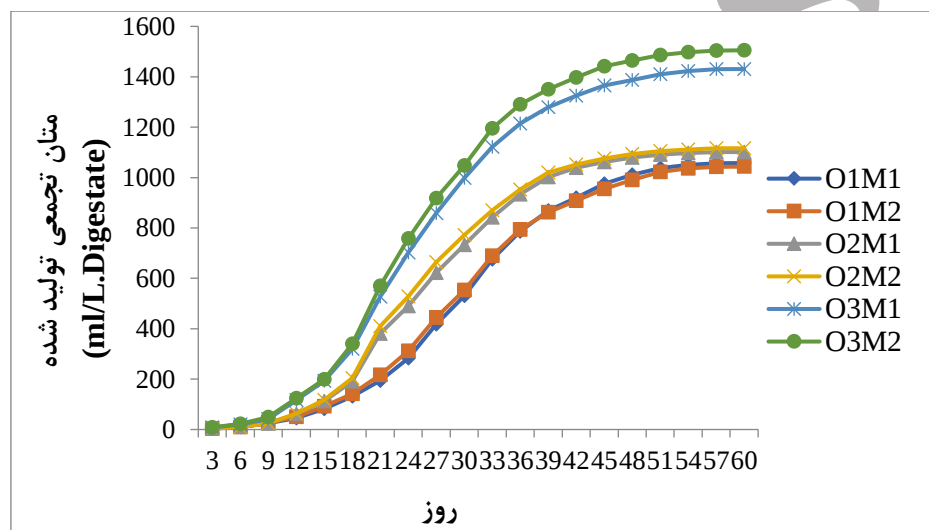
شکل ۷. تولید تجمعی بیوگاز از تیمارهای پیش‌فرآوری شده با ازن (O زمان ازن زنی و M رطوبت مواد)

در تیمارهای پیش‌فرآوری با ازن مقدار تولید متان از روز ۲۱ به بعد با شیب نسبتاً زیادی نزولی شد و در فاصله زمانی ده روز از مقدار ۲۳۰ ml/L به ۱۳۰ ml/L رسید. در صورتی که مشابه همین روند در تیمارهای با پیش‌فرآوری اسیدی از روز ۴۰ به بعد رخ داده است، به این معنی که هاضم‌های پیش‌فرآوری شده با اسید با فاصله زمانی دو برابر بیشتر به تولید بیوگاز و متان ادامه داده‌اند. در تیمارهای پیش‌فرآوری شده با اسید مقدار بیوگاز تجمعی تولید شده در تیمارهای A3B1 و A3B2 به ۶۶۰۰ ml/L و در تیمار شاهد (A1B1 و A1B2) به ۳۹۰۰ ml/L رسیده است که تفاوت حدود ۶۰ درصدی را نشان می‌دهد. اما مقدار متان تجمعی تولید شده در همین تیمارها ۳۰۷۰ ml/L در مقابل ۱۳۴۰ ml/L که حدود ۲/۳ برابر بوده (شکل ۸) و بسیار چشمگیر است و نشان می‌دهد که نمونه بدون پیش‌فرآوری ممکن است به تولید بیوگاز منجر شود اما احتمالاً حاوی متان زیادی نخواهد بود. در یک پژوهش اثر اسید سولفوریک در تولید بیوگاز از ساقه ذرت کاملاً برعکس بوده و با افزایش درصد اسید مقدار تولید بیوگاز کاهش یافت (۱۶). در این پژوهش نیز از غلظت ۱٪ به ۱/۵٪ اسید، مقدار بیوگاز کاهش یافت.

در نمونه‌های پیش‌فرآوری شده با ازن مقدار بیوگاز تجمعی تولید شده نسبت به نمونه شاهد افزایش چشمگیری نداشته است (حدود ۱۵٪). اما مقدار متان تجمعی بیشتر بوده و از ۱۰۴۳ ml/L در نمونه شاهد به ۱۵۰۰ ml/L (تیمار O3M2) رسیده که نشانگر تولید ۵۰۰ ml/L متان بیشتر و ۵۰٪ افزایش پس از پیش‌فرآوری با ازن می‌باشد (شکل ۹). برخی پژوهش‌های گذشته نشان از افزایش بیوگاز و متان تولید شده پس از پیش‌فرآوری با ازن می‌باشند. یک مطالعه نشان داد که پیش‌فرآوری لجن بی‌هوازی با ازن ۱۰۲ درصد تولید متان را افزایش داد (۱۷). پژوهش دیگری نشان داد که بازده تولید بیوگاز از ترکیبات آلی زیستی در مقایسه با حالت کنترل، در یک دوره هضم بی‌هوازی ۲۵ روزه، با پیش‌فرآوری مافوق صوت ۳/۳٪ و با ازن زنی ۵۲/۹٪ افزایش یافت که تقریباً مشابه اثر ازن در این پژوهش است (۱۸).



شکل ۸. تولید تجمعی متان از تیمارهای پیش‌فرآوری شده با اسید (A درصد اسید و B زمان پیش‌فرآوری)



شکل ۹. تولید تجمعی متان از تیمارهای پیش‌فرآوری شده با ازن (O زمان ازن زنی و M رطوبت مواد)

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد عامل زمان پیش‌فرآوری اسیدی (B) در تولید بیوگاز تجمعی اثر معنی‌داری در سطح ۹۹٪ داشته اما در مقدار متان تجمعی تولید شده اثر معنی‌داری نداشته است (جدول ۲). در اینجا نمودار سطوح اصلی این عامل به عنوان نمونه آورده می‌شود (شکل ۱۰). نمودار سطوح عامل زمان پیش‌فرآوری اسیدی در تولید متان تجمعی نشان می‌دهد وقتی از سمت ۴۰ به ۸۰ دقیقه می‌رسیم در تمامی سطوح درصد اسید تغییرات نمودار تقریباً خطی می‌باشد، اما در نمودار بیوگاز تجمعی مشخص است که مثلاً در سطح ۱/۵ درصد اسید نمودار در حالت برخورد با خط ۰/۵ درصد اسید می‌باشد و به همین سبب آزمون دانکن اثر آن را معنی‌دار نشان می‌دهد. همچنین تجزیه واریانس پیش‌فرآوری ازن نشان می‌دهد که عامل رطوبت مواد (M) در تولید بیوگاز تجمعی به تنهایی معنی‌دار نبوده اما در تولید متان تجمعی تولید شده اثر معنی‌داری در سطح ۱٪ دارد (جدول ۲).

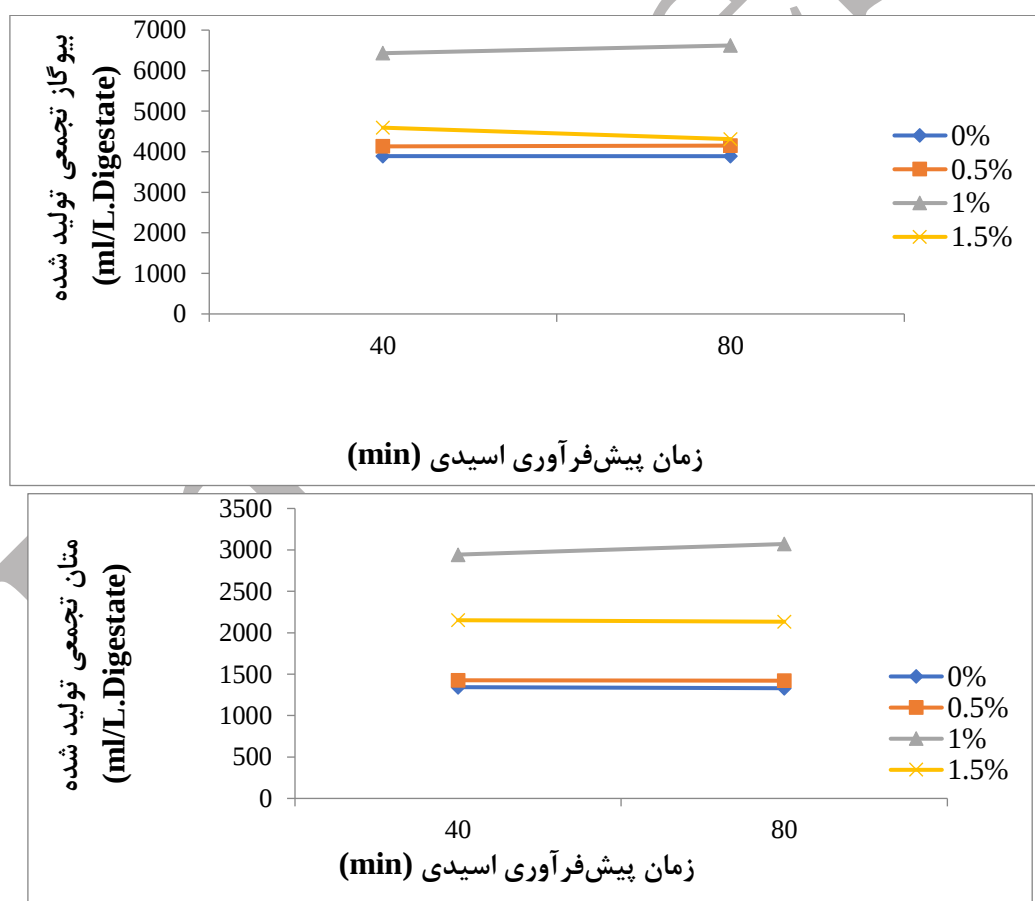
جدول ۲. نتایج آزمون دانکن در عوامل مورد آزمایش تولید بیوگاز از برگ درخت خرما

موارد آزمایش شده					منبع تغییر	پیش‌فرآوری
VS نهایی	TS نهایی	pH نهایی	متان تجمعی (ml/L)	بیوگاز تجمعی (ml/L)		

پیش‌فرآوری اسیدی	درصد اسید (A)	./... **	./... ns	./... **	./... **
	زمان (B)	./... **	./... ns	./... **	./... **
	A × B	./... **	./... **	./... **	./... **
پیش‌فرآوری ازن	زمان ازن زنی (O)	./... **	./... **	./... **	./... **
	رطوبت مواد (M)	./... **	./... ns	./... **	./... ns
	O × M	./... **	./... **	./... **	./... **

ns: تفاوت معنی‌دار نیست، * تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، ** تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱

نمودار سطوح عامل‌ها (شکل ۱۰) به خوبی نشان می‌دهد که در مقدار بیوگاز تجمعی تولید شده در غلظت ۱٪ اسید از بقیه غلظت‌ها با فاصله بیشتری به تولید بیوگاز ختم شده است. اما در رابطه با تولید متان تجمعی علاوه بر اینکه غلظت ۱٪ بالاتر از بقیه بوده، غلظت ۱/۵٪ نیز به متان تجمعی بیشتری نسبت به دو غلظت دیگر ختم شده است که نشان می‌دهد غلظت ۱/۵٪ اگرچه بیوگاز نسبتاً مساوی با غلظت‌های صفر و ۰/۵ درصد داشته (۲۰٪ تفاوت در بیوگاز) اما متان بیشتری تولید کرده است (۵۰٪ تفاوت در مقدار بیوگاز).



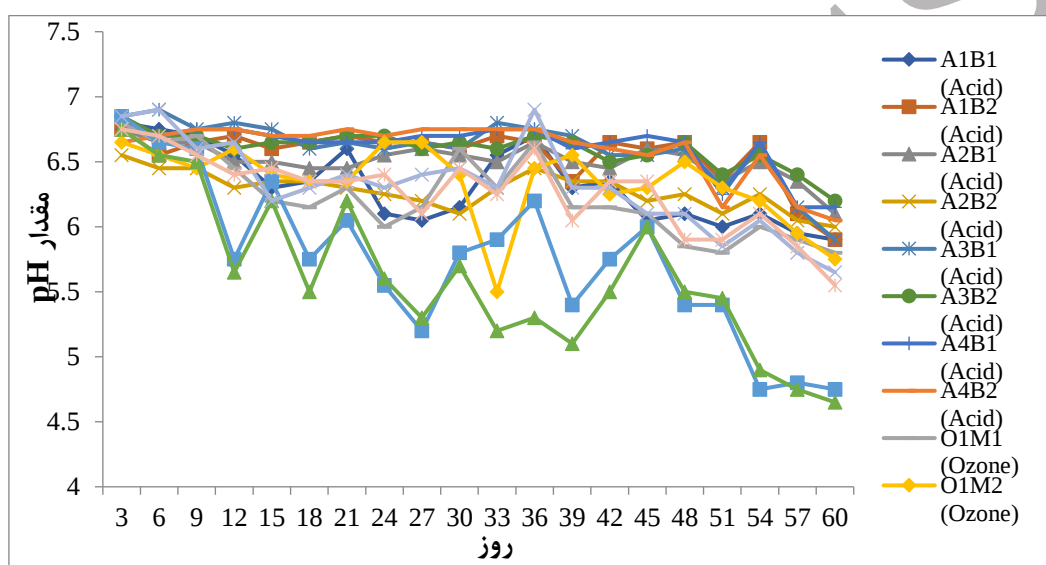
شکل ۱۰. اثر سطوح اصلی زمان پیش‌فرآوری اسیدی (۴۰ و ۸۰ دقیقه) در بیوگاز (بالا) و متان (پایین) تجمعی تولید شده

اثر pH بر مقدار تولید بیوگاز و متان

تطابق مقادیر pH با مقادیر بیوگاز و متان تولید شده در همان زمان در تیمارهای پیش‌فرآوری شده با اسید نشان داد محدوده pH تقریباً تا روزهای آخر آزمایش مناسب تولید بیوگاز بوده است. به صورتی که pH نهایی در همه تیمارهای پیش‌فرآوری شده با اسید

از ۶ پایین‌تر نیامده است. با اینحال در تیمارهای پیش‌فرآوری شده با ازن مقدار pH نهایی در برخی تیمارها مانند O2M1 و O2M2 از روز ۴۰ به بعد کاهش بیشتری داشته و تا پایان آزمایش به حدود ۴/۵ رسیده است (شکل ۱۱) و همین عامل سبب شده مقدار بیوگاز و متان تولید شده نیز در این تیمارها از روز ۴۰ تا روز ۶۰ با شیب نسبتاً زیادی نزولی شده است. در فاصله روزهای ۲۰ تا ۴۰ در تیمارهای پیش‌فرآوری شده با اسید تغییرات pH در محدوده ۶ و در تیمارهای پیش‌فرآوری با ازن در محدوده ۵/۱ می‌باشد که به نظر می‌رسد به همین دلیل مهم به عنوان یکی از پارامترهای مؤثر، روند تولید بیوگاز در فاصله روزهای ۲۰ تا ۴۰ در پیش‌فرآوری اسیدی در مقادیر حداکثر باقی مانده و در نهایت سبب تولید بیوگاز تجمعی بالایی شده است.

در بسیاری از پژوهشها رابطه مستقیمی بین مقدار pH و تولید بیوگاز تولید شده گزارش شده است. مثلاً گزارش کرده‌اند کاهش pH از ۶/۵ به ۵/۵ مقدار بیوگاز را تا ۵۰٪ کاهش داده است (۱۳) (۱۹). در این مطالعه نیز اتفاق مشابهی رخ داده است. مثلاً تیمارهای O2M1 و O2M2 در مقایسه با تیمارهای O3M1 و O3M2 تا روز ۳۰ از pH حدود ۷ به ۵/۷ رسیده و مقدار بیوگاز آن از ۲۳۰ ml/L به ۱۳۵ ml/L رسید که نشان می‌دهد حدود ۴۵٪ کاهش یافته است.



شکل ۱۱. مقادیر pH روزانه مربوط به تیمارهای پیش‌فرآوری شده با اسید (A درصد اسید و B زمان پیش‌فرآوری) و ازن (O زمان ازن‌زنی و M رطوبت مواد)

مقدار کاهش TS و VS در انتهای آزمایش تولید بیوگاز

مقدار TS و VS نهایی پس از اتمام دوره ۶۰ روزه تولید بیوگاز آزمایش شد تا برآورد شود که این دو پارامتر مهم چقدر کاهش یافته است. شکل ۱۲ نشان می‌دهد که در تیمارهای پیش‌فرآوری شده با اسید مقدار کاهش TS حداقل ۳۸٪ و حداکثر ۵۲٪ بوده و مقدار کاهش VS حداقل ۲۳٪ و حداکثر ۳۱٪ بوده است.

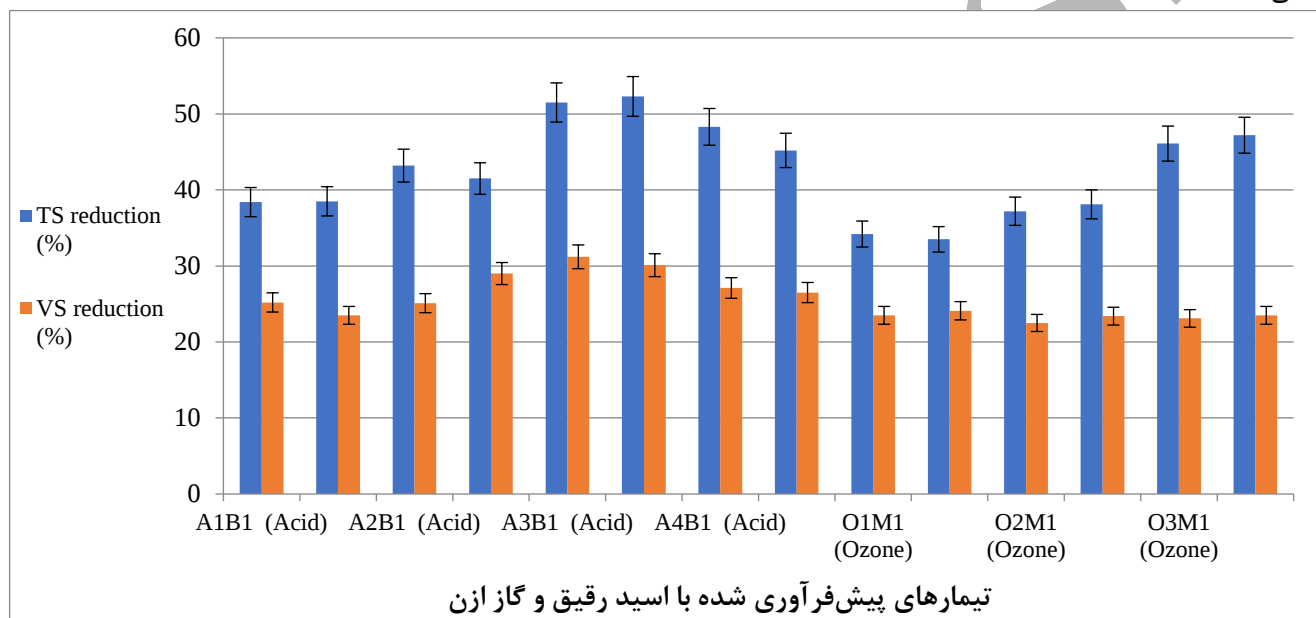
داده‌ها نشان داد که در دو تیمار A3B1 و A3B2 که حداکثر تولید تجمعی بیوگاز و متان را داشتیم نیز حداکثر تولید بیوگاز و متان بر طبق مقدار TS و VS مصرف شده به دست آمده است. با اینحال برخی از تیمارها مانند A2B2 که در آن نسبت به تیمارهای A1B1 و A2B1 مقدار VS بیشتری کاهش یافته اما مقدار بیوگاز و متان به دست آمده بر هر میلی لیتر مواد جامد فرار کمتر می‌باشد که نشان می‌دهد در این تیمار VS مصرف شده منجر به تولید بیوگاز و متان نشده و به جای آن محصولات جانبی دیگر تولید شده است. این تیمار جزء تیمارهایی با حداقل pH نهایی ۵/۹ بوده که نشان می‌دهد در روزهای آخر نیز مقداری اسید در هاضم وجود داشته است.

به طور کلی هر چه مقدار TS و VS کاهش یابد بهتر است و نشان می‌دهد از حجم مواد موجود کم شده و به تناسب آن از آلودگی‌های زیست‌محیطی آن نیز کاسته شده است (۱۴) (۲۰). مثلاً در رابطه با تولید بیوگاز از انواع پساب‌ها هر چه مقدار TS و VS کاهش یابد بهتر می‌باشد و سبب کاهش انواع آلودگی‌های زیست‌محیطی نیز می‌شود.

در تیمارهای پیش‌فرآوری شده با ازن مقدار TS کاهش یافته متفاوت و مقدار VS کاهش یافته بسیار شبیه به یکدیگر بودند و به همین سبب در مقدار متان به دست آمده بر حسب ml/gr VS نیز بیشتر مشابه یکدیگر هستند. جالب توجه است که عامل زمان ازن‌زنی (O) در کاهش TS نیز به تنهایی اثر معنی‌داری نداشته است اگرچه در بقیه موارد مانند بیوگاز و متان تجمعی تولید شده اثر معنی‌داری در سطح ۹۹٪ داشته است (جدول ۲). با اینحال حداقل و حداکثر متان به دست آمده به ترتیب از تیمارهای O1M2 و O3M3 با مقادیر ۴۳ ml/gr VS و ۶۴ ml/gr VS می‌باشد که تفاوت ۵۰ درصدی را نشان می‌دهد. با توجه به جدول ۱ که برخی مشخصات شیمیایی برگ درخت خرما را نشان می‌دهد، ۷۵/۳ درصد از برگ درخت خرما مواد جامد فرار می‌باشد. به عبارت دیگر در هر تن برگ درخت خرما ۷۵۳ کیلوگرم مواد جامد فرار وجود دارد. بنابراین با پیش‌فرآوری اسیدی مناسب می‌توان از هر تن برگ درخت خرما حدود ۱۳۱ m³ متان خالص تولید نمود:

$$(174 \text{ ml CH}_4/\text{gr VS} \times 753000 \text{ gr VS/ton raw material}) = 131022000 \text{ ml CH}_4/\text{ton raw material} = 131022 \text{ L CH}_4/\text{ton raw material} = 131 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{ton raw material}$$

با محاسبات مشابه مشخص می‌شود که از هر تن برگ درخت خرما حدود ۴۸/۲ m³ متان خالص از بهترین تیمار با پیش‌فرآوری ازن به دست می‌آید.



شکل ۱۲. درصد TS و VS کاهش یافته مربوط به تیمارهای پیش‌فرآوری شده با اسید رقیق (A درصد اسید و B زمان پیش‌فرآوری) و گاز ازن (O زمان ازن‌زنی و M رطوبت مواد)

بحث

با توجه به اینکه شرایط دما و میزان pH و TS اولیه در تمامی تیمارها یکسان بوده، میزان تخریب‌پذیری مواد و سرعت هیدرولیز آنها مشخص کننده سرعت فعالیت باکتری‌های مختلف می‌باشد. به طور کلی بیوگاز و متان تولید شده در برخی تیمارهای پیش‌فرآوری اسیدی مانند A3B1 و A3B2 نشان می‌دهد که مواد در دسترس باکتری‌ها بیشتر بوده است. همچنین روند ثابت در تولید بیوگاز برای مدت زمان نسبتاً طولانی در پیش‌فرآوری اسیدی نشان می‌دهد که باکتری‌های متان‌ساز با مواد آلی در دسترس آنها سازگاری خوبی پیدا کرده و به تناسب آن مدت زمان ثابت شدن تولید روزانه بیوگاز بیشتر شده و تا ۲۰ روز ادامه یافته است. در مرحله متان‌سازی، باکتری‌های متانوژن که مسئول تولید متان هستند، فعالیت می‌کنند و pH بهینه برای این گروه از میکروارگانیسم‌ها معمولاً بین ۶/۵ تا ۷/۵ است (۱۵) و اگر pH محیط خارج از این محدوده قرار گیرد، می‌تواند به فعالیت میکروارگانیسم‌ها آسیب برساند و تولید بیوگاز را کاهش دهد. با در دسترس بودن مواد کافی و تناسب بین آنها از مرحله هیدرولیز فعالیت باکتری‌های متان‌ساز به سادگی مختل نشده و در تعادل با باکتری‌های اسیدساز و استات‌ساز به کار خود ادامه می‌دهند.

افت و خیزها در مقدار pH نشان می‌دهد (شکل ۱۱) که در برخی از روزها رشد باکتری‌های متان‌زا افزایش یافته و با مصرف اسیدهای موجود در هاضم pH دوباره افزایش یافته و پس از آن با هیدرولیز و اسیدزایی دوباره اسید در محیط اضافه شده و بر باکتری‌های متان‌زا غلبه کرده است. زمانی که pH در حد متعادل افت و خیز دارد و عملکرد هاضم مختل نشود به این معنی است که تولید و مصرف اسید در شرایط بهینه پیش می‌رود. زمانی که در روزهای پایانی با pH پایین روند تولید بیوگاز متوقف می‌شود می‌تواند به دلیل تجمع مقدار اسید و عدم رشد باکتری‌های متان‌ساز باشد. عدم رشد مناسب باکتری‌های متان‌ساز به نوبه خود نشانگر موارد مختلفی می‌تواند باشد. احتمالاً اتمام مواد غذایی در دسترس یا عدم تعادل در مواد غذایی موجود مانند درصد کربن و نیتروژن یکی از دلایل این امر می‌تواند باشد. مثلاً اتمام کربن و وجود نیتروژن در محیط می‌تواند به تجمع نیتروژن آمونیاکی منجر شود که در غلظت بالا ایجاد سمیت کرده و عملکرد هاضم را مختل می‌کند. همان‌طور که قبلاً بحث شد نسبت کربن به نیتروژن چوب درخت خرما ۲۱/۸:۱ بود و مواد اضافی جهت افزایش درصد کربن به کار برده نشد. این مورد نیاز به تحقیقات بیشتری در آینده دارد که مشخص شود آیا با افزایش درصد کربن تولید بیوگاز و متان ارتقا می‌یابد یا خیر. بیشترین کاهش در TS و VS غالباً در تیمارهایی مشاهده شد که تولید بیوگاز بیشتری داشته‌اند و در واقع حاوی مواد با تخریب‌پذیری زیستی بالاتری بوده‌اند. در برخی از تیمارها که TS و VS تا حدودی کاهش داشته اما در خروجی بیوگاز مشاهده نشده، به دلیل تولید محصولات جانبی مانند اسیدهای چرب فرار می‌باشد که در هاضم بی‌هوازی فرصت تبدیل به بیوگاز و متان را نیافته است.

برطبق مقدار متان تجمعی تولید شده و مقدار VS کاهش یافته می‌توان گفت که با بهترین پیش‌فرآوری اسیدی (A3B2) می‌توان حدود ۳۷۴ ml/gr VS و ۱۷۳ ml/gr VS بیوگاز و متان خالص و با بهترین پیش‌فرآوری ازن (O3M2) می‌توان حدود ۱۷۵ VS و ۶۴ ml/gr VS بیوگاز و متان خالص تولید کرد. قابل ذکر است که برخی پژوهش‌ها اثر اسید اگزالیک و اسید استیک را در پیش‌فرآوری مواد لیگنوسلولزی بهتر از اسید سولفوریک نشان داده (۲۱) و برخی اثر پیش‌فرآوری قلیایی را نیز مثبت ارزیابی کرده‌اند (۲۲) که می‌توان در تحقیقات تکمیلی از این موارد نیز بهره برد.

در یک پژوهش مقدار بیوگاز تولید شده از بقایای درخت نخل با استفاده از پیش‌فرآوری قلیایی بررسی شد. اندازه ذرات ۲ تا ۵ میلی‌متر، نسبت کربن به نیتروژن ۳۰:۱، درجه حرارت هاضمها ۴۰ °C و pH برابر ۷ در نظر گرفته شد. این پژوهش نشان داد که تولید بیوگاز از هفته اول شروع شده و تقریباً تا یازده هفته ادامه داشته است. بیشترین مقدار بیوگاز تولید شده در حدود ۳۴۲ ml/gr VS به دست آمد که مشابه حداکثر تولید بیوگاز در پژوهش حاضر می‌باشد. در این مطالعه نیز تیمار شاهد که بدون پیش‌فرآوری بوده به تولید بیوگاز چندانی منجر نشد. پس از اتمام آزمایشات مشخص شد که در حدود ۵۸٪ از مقدار مواد آلی کاسته شده است و در واقع تبدیل به بیوگاز شده است (۲۳).

در یک مطالعه هضم بی‌هوازی برگ‌های خشک‌شده‌ی نخل خرما‌ی الجزایری برای تولید بیوگاز بدون پیش‌فرآوری بررسی شد (۱). بازده نظری متان بین ۴۹۹-۵۳۸ ml/gr VS و بازده واقعی تولید بیوگاز به ۱۹۷ ml/gr VS و تولید متان به ۱۳۰ ml/gr VS رسید. تجزیه‌پذیری زیستی ۲۹٪ و حذف اکسیژن خواهی شیمیایی تا ۷۷٪ حاصل شد که نشان‌دهنده پتانسیل برگ‌های نخل خرما به عنوان یک بستر مناسب برای تولید بیوگاز است. در تیمارهای بدون پیش‌فرآوری در پژوهش حاضر به بیوگاز بیشتر (۲۶۲ ml/gr VS) و متان کمتری (۹۰ ml/gr VS) دست یافته‌ایم. رفیق و همکاران با پیش‌فرآوری حرارتی-شیمیایی کود دامی و لجن فاضلاب حدود ۴۰-۵۰ ml/gr VS بیوگاز بدست آوردند و رابطه معنی‌داری بین مقدار مواد جامد فرار مصرف شده و تولید متان گزارش کردند (۲۴). شو و همکاران با پیش‌فرآوری حرارتی-قلیایی لجن فاضلاب نیز به حدود ۴۴ ml/gr VS بیوگاز رسیدند، اما رابطه معنی‌داری بین مصرف مواد جامد فرار و مقدار بیوگاز بدست نیامد (۲۵). با اینحال تمامی پژوهش‌ها در این مورد که با مصرف درست مواد جامد فرار تولید بیوگاز و متان بیشتری حاصل می‌شود توافق دارند.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثر پیش‌فرآوری برگ درخت خرما با گاز ازن و اسید سولفوریک رقیق در تولید بیوگاز و متان بررسی شد. داده‌ها نشان داد با غلظت ۱٪ اسید و زمان‌های ۴۰ دقیقه یا ۸۰ دقیقه پیش‌فرآوری می‌توان به بیشترین مقدار تولید بیوگاز تجمعی تا ۶۶۰۰ ml/L رسید که ۶۰٪ بیشتر از تیمار بدون پیش‌فرآوری می‌باشد. نکته قابل توجه این است که با همین پیش‌فرآوری می‌توان به حدود ۳۰۰۰ ml/L متان خالص دست یافت که ۲/۳ برابر تیمار بدون پیش‌فرآوری بوده و اهمیت فرآیند پیش‌فرآوری را نمایان می‌سازد.

بنابراین پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده اثر دیگر اسیدها و قلیاها نیز در پیش‌فرآوری چوب درخت خرما بررسی شود. همچنین می‌توان نسبت کربن به نیتروژن را در مقایسه با پژوهش حاضر بیشتر نمود و در دماهای گوناگون آزمایشات را تکرار کرد تا تغییرات ارزیابی شود.

یکی از موارد مهم که در جریان آزمایشات مشخص شد مقدار شوری چوب درخت خرما می‌باشد که علت آن آبیاری درخت با آب کمی شور بوده است و این عامل باعث شد هاضم بی‌هوازی تحت شرایط شوری کار کند. در این پژوهش مشخص شد که مقدار نمک به حدود $1/7 \text{ gr/L}$ رسیده است. با توجه به اهمیت موضوع اثر این عامل در پژوهش جداگانه‌ای بررسی شده است و جهت انتشار آن اقدام خواهد شد.

تشکر و قدردانی: بدین وسیله از تمامی کسانی که در انجام این پروژه ما را یاری رسانده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع: پژوهش حاضر دارای تعارض منافع نمی‌باشد.

حمایت مالی: بودجه این پژوهش از محل هزینه شخصی به همراه گرنت مربوط به تز دانشجوی کارشناسی ارشد تأمین گردید.

ملاحظات اخلاقی: تأکید می‌شود تمامی نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی و عدم داده‌سازی یا تحریف داده‌ها در این مقاله رعایت شده است. همچنین هرگونه تضاد منافع مؤثر بر مقاله رد می‌شود.

References

1. Djaafri M, Kalloum S, Soulimani AE, Khelafi M. Bioconversion of Dried Leaves from Algerian Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) to Biogas by Anaerobic Digestion. *International Journal of Engineering Research in Africa* 2019; 41: 131-144. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/JERA.41.131>
2. Pasciucco, F., Francini, G., Pecorini, I., Baccioli, A., Lombardi, L., Ferrari, L. Valorization of biogas from the anaerobic co-treatment of sewage sludge and organic waste: Life cycle assessment and life cycle costing of different recovery strategies. *Journal of Cleaner Production*. 2023; 401, 136762. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136762>
3. Chao CCT, Krueger RR. The date palm (*Phoenix dactylifera* L.): Overview of biology, uses, and cultivation. *HortScience* 2007; 42: 1077-1082. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.5.1077>
4. Grobelak, A., Bień, B., Sławczyk, D., & Bień, J. Conditioning Biomass for Biogas Plants: Innovative Pre-Treatment and Digestate Valorization Techniques to Enhance Soil Health and Fertility. *Sustainability*, 2025; 17(8), 3289. <https://doi.org/10.3390/su17083289>
5. Zin El-Abedin, T., Rezk, H. A., Kassem, A. S., Hemeda, S. G., & Omara, A. I. Effect of ultrasonic pretreatment of cow manure on biogas production using an up-flow anaerobic sludge blanket reactor. *Misr Journal of Agricultural Engineering*, 2024; 42(1), 113-128.
6. Taherdanak M, Zilouei H, Karimi K. The influence of dilute sulfuric acid pretreatment on biogas production from wheat plant. *International Journal of Green Energy* 2016; 13(11): 1129-1134. <https://doi.org/10.1080/15435075.2016.1175356>
7. Syaichurrozi I, Villta PK, Nabilah N, Rusdi R. Effect of sulfuric acid pretreatment on biogas production from *Salvinia molesta*. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2019; 7(1): 102857. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.102857>
8. Hassaan MA, El Nemr A, Elkatory MR, Eleryan A, Ragab S, El Sikaily A, Pantaleo A. Enhancement of Biogas Production from Macroalgae *Ulva latuca* via Ozonation Pretreatment. *Energies* 2021; 14(6): 1703. <https://doi.org/10.3390/en14061703>
9. Hodaei M, Ghasemi S, Khosravi A, Vossoughi M. Effect of the ozonation pretreatment on biogas production from waste activated sludge of Tehran wastewater treatment plant. *Biomass & Bioenergy* 2021; 152: 106198. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106198>
10. Silva Jose D, Tawai A, Divakaran D, Sriariyanun M, Phakeenuya V, Cheng YS, Tantayotai P. Influence of Acetic Acid Pretreatment and its Residue on Bioethanol and Biogas Production from Water Hyacinth. *Applied Science and Engineering Progress* 2024; 17(3):1-13.

11. Mahmoodi-Eshkaftaki M, Houshyar E. Biogas recirculation technology: Effect on biogas purification, slurry characteristics, microbial activity and energy consumption. *Environmental Technology & Innovation* 2020; 19: 100867. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100867>
12. Shitophyta, L. M., Cahyaningtyas, Z. L., Syifa, N. A., & Chusna, F. M. A. Various Types of Acids on Pretreatment of Corn Stover for Enhancing Biogas Yield. *JTERA (Jurnal Teknologi Rekayasa)*, 2022; 7(2), 275. <https://doi.org/10.31544/jtera.v7.i2.2022.275-280>
13. APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater, 23rd ed. American Public Health Association. 2017; Washington DC
14. Chinwendu D, Sunkanmi F, Joshua O, Blessing O. Investigating the Synergistic Effect of Temperature and pH Dynamics on Biogas Yield from Lignocellulosic Biomass Codigested with Cow dung. *Journal of Advances in Microbiology* 2024; 24(12): 139-162. <https://doi.org/10.9734/jamb/2024/v24i12879>
15. Nugraha WD, Keumala CF, Matin HHA. The Effect of Acid Pre-Treatment using Acetic Acid and Nitric Acid in The Production of Biogas from Rice Husk during Solid State Anaerobic Digestion (SS-AD) 2018; 31: 01006. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20183101006>
16. Tian Y, Zhang H, Mi X, Wang L, Zhang L, Ai Y. Research on anaerobic digestion of corn stover enhanced by dilute acid pretreatment: Mechanism study and potential utilization in practical application. *Journal of Renewable and Sustainable Energy* 2016; 8(2): 023103. <https://doi.org/10.1063/1.4945570>
17. Liu Y, Wang X, Chang C, Li X, Zhang D. Reuse of Digestate from Anaerobic Digestion of Organic Waste: Enhancement of Biogas Production Using Ozonation. *Environmental Engineering Science* 2024; 41(3): 120-129. <https://doi.org/10.1089/ees.2023.0238>
18. Le TM, Vo P T, Do TA, Tran LT, Truong HT, Le TTX, Chen YH, Chang CC, Chang CY, Tran QT, Thanh T, Do MV. Effect of Assisted Ultrasonication and Ozone Pretreatments on Sludge Characteristics and Yield of Biogas Production 2019; 7(10): 743. <https://doi.org/10.3390/pr7100743>
19. Ali HA, Faraj JJ, Hussien FM. Effect of pH on biogas production during anaerobic digestion. *Journal of the University of Shanghai for Science and Technology* 2021; 23(08): 224-231. <https://doi.org/10.51201/JUSST/21/08369>
20. Ahmadi Pirlou M, Mesri Gundoshmian T. Evaluating the Effect of Alkaline Pretreatment on Improvement of Biomethane Production from Anaerobic Digestion of Mixed Municipal Waste and Sewage Sludge. *Iranian Journal of Research in Environmental Health*. 2021; 7(1): 53-66.
21. Jankovičová B, Hutňan M, Nagy Czölderová M, Hencelová K, Imreová Z. Comparison of acid and alkaline pre-treatment of lignocellulosic materials for biogas production. *CAAS Agricultural Journals*. 2022; 68(4): 195-204. <https://doi.org/10.17221/421/2021-PSE>
22. Wicaksono A, Rahmawan A, Abdul Matin HH, Wardani LGK, Kusworo TD, Sumardiono S. The effect of pretreatment using sodium hydroxide and acetic acid to biogas production from rice straw waste 2017; 101: 02011. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201710102011>
23. Al-Juhaimi FY, Hamad SH, Al-Ahaideb IS, Al-Otaibi MM, Ghafoor K, Abbasi T, Abbasi SA. Biogas Production through the Anaerobic Digestion of Date Palm Tree Wastes - Process Optimization. *Bioresources* 2014; 9(2): 3323-3333. <https://doi.org/10.15376/biores.9.2.3323-3333>
24. Rafique R, Poulsen TG, Nizami AS, Asam ZZ, Murphy JD, Kiely G. Effect of thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatments to enhance methane production. *Energy* 2010; 35: 4556-61. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2010.07.011>
25. Xu J, Yuan H, Lin J. Evaluation of thermal, thermal-alkaline, alkaline and electrochemical pretreatments on sludge to enhance anaerobic biogas production. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2014; 45(5): 2531-36 <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2014.05.029>

In Press