JARC

علمی-پژوهشی

بررسی تأثیر آفت‌کش به‌دست‌آمده از کاه با فرایند تَف‌کافت بر ریزاندامگان‌های سودوموناز آئروژینوزا و پکتوباکتریوم کاروتووروم و قارچ ماکروفومینا فازئولینا

فاطمه خجسته‌راد[۱]، مرتضی قلی‌زاده[۱و*] و رضا خاکور[۳]

۱. دانشجوی دکترا مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۲. دانشیار مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۳. دانشیار گیاه‌پزشکی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

دریافت: آذر ۱۴۰۱ بازنگری: اسفند ۱۴۰۱ پذیرش: اسفند ۱۴۰۱

10.30495/JACR.2023.1972549.2065 20.1001.1.27835324.2023.17.1.4.2

چکیده

در این پژوهش امکان تولید آفت‌کش از کاه با فرایند تَف‌کافت در دمای ۵۰۰ °C بررسی شد. در فراورده تف‌کافت ترکیب‌هایی مانند فنل و کربوکسیلیک اسید و نیز اسیدهای چرب بسیار قطبی مثل هگزادکانوئید و اکتادکانوئید با سوانگاری گازی-طیف‌سنجی جرمی شناسایی شدند. جداسازی این ترکیب‌ها در زمان تولید روغن‌زیستی می‌تواند منبعی از ترکیب‌های آفت‌کش مؤثر را فراهم کند. ازاین‌رو، فازهای قابل‌انحلال در آب روغن‌زیستی به‌دست آمده از تف‌کافت، جدا شدند. پس از بهینه‌سازی استخراج آفت‌کش درون آب، فعالیت آفت‌کشی آن بر میکروارگانیسم‌های *سودوموناز آئروژینوزا* و *پکتوباکتریوم کاروتووروم* و قارچ *ماکروفومینا فازئولینا* با روش دیسک مستقیم آگار بررسی شد. بر *پکتوباکتریوم کاروتووروم* شعاع هاله‌های بزرگتری با آفت‌کش ۰/۵۷ درصد وزنی به‌وجود آمد که نشان‌دهنده ویژگی مهارکنندگی بیشتر این درصد وزنی از آفت‌کش تولیدشده بود. با سوانگاری مایع با کارایی بالا مشخص شد که بخش‌های آبی حاوی بسیاری از ترکیب‌ها فنلی هستند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت عصاره آبی مستخرج از روغن‌زیستی کاه می‌تواند به‌عنوان یک آفت‌کش جایگزین آفت‌کش‌های مصنوعی و سنتزی شود.

واژه‌های کلیدی: آفت‌کش، تَف‌کافت، ترکیب‌های فنلی، روغن‌زیستی.

* عهده‌دار مکاتبات: m.gholizadeh@tabrizu.ac.i

مقدمه

انسان‌ها در زندگی خود پیوسته در برابر مواد شیمیایی طبیعی و مصنوعی هستند. بسیاری از این مواد مفید و تعدادی نیز می‌تواند تهدیدکننده زندگی انسان باشد. یکی از این عوامل تهدیدکننده، سم‌ها و آفت‌ها شیمیایی هستند. سم‌هادر چربی بدن ماهی و حیوانات ذخیره و بیش از آنچه که در طبیعت موجود است تغلیظ و به زنجیره غذایی وارد می‌شوند. صنعتی‌شدن و ایجاد مراکز شهری بزرگ منجر به آلودگی هوا، آلودگی آب و خاک شده است. علل اصلی آلودگی مربوط به تولید و مصرف انرژی، مواد شیمیایی و صنعتی و افزایش فعالیت کشاورزی است که انسان را در برابر این مواد شیمیایی قرار می‌دهد. سم‌های کشاورزی متداول که به فراوانی برای مبارزه با آفت‌ها تجویز و استفاده می‌شوند، ترکیب‌های آلی کلره و فسفره هستند. بیشتر این سم‌ها از مقدار سمی‌بودن بالایی برای همه موجودات زنده برخوردار هستند. نگهداری و مصرف این سم‌ها و آزادشدن تدریجی آنان در محیط زندگی ما، در درازمدت خطر ابتلا به انواع بیماری‌ها را به‌شدت افزایش می‌دهد. با این دیدگاه با سم‌های ساده‌تر و تا حد امکان طبیعی می‌توان تا حدودی از آلودگی بیشتر محیط‌زیست و زنجیره غذایی جلوگیری کرد. آفت‌کش‌ها ترکیب‌هایی هستند که یک موجود نامطلوب را از بین می‌برند و یا با مداخله در فرایند تکثیر آن‌ها، جمعیتشان را مهار می‌کنند. از آفت‌کش‌ها به‌طور گسترده در مهار آفت‌های کشاورزی مانند علف‌های هرز و همچنین، حشرات استفاده می‌شود. آفت‌کش‌های سنتزی از همان اوایل مصرف به علت تأثیری که در سلامت انسان در اثر مصرف مواد غذایی آغشته به این مواد شیمیایی داشتند، موجب نگرانی بوده‌اند [۱]. آفت‌کش‌ها از نظر ویژگی فیزیکی و شیمیایی از یکدیگر متفاوت هستند. متداول‌ترین و مفیدترین روش طبقه‌بندی سم‌ها دفع آفت‌ها برپایه ترکیب شیمیایی آن‌ها و ماهیت مواد فعال است. این نوع طبقه‌بندی است که در مورد اثربخشی، ویژگی فیزیکی و شیمیایی آفت‌کش‌های مربوط اطلاعاتی می‌دهد. اطلاعات مربوط به ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی سم‌های دفع آفت‌ها در تعیین چگونگی کاربرد، اقدامات احتیاطی که باید در حین کاربرد دقت شوند و مشخص‌کردن مقدار استفاده از آن‌ها، بسیار مفید است. برپایه ترکیب شیمیایی، آفت‌کش‌ها به چهار گروه اصلی ارگانوکلرین، ارگانوفسفر، کاربامات و پایرترین و پایرتروئیدها طبقه‌بندی می‌شوند [۲]. با وجود گستردگی و تعدد آفت‌کش‌های گیاهی، به نظر می‌رسد عوامل بسیاری تجاری‌سازی آفت‌کش‌های گیاهی را محدود می‌کند. برای مثال، می‌توان به مشکلات تولید در مقیاس بزرگ، عدم دسترسی به واکنشگرها، ماندگاری ضعیف، کاهش سمی‌بودن باقی‌مانده در شرایط مزرعه، محدودیت‌های استانداردسازی و پالایش فراورده نهایی اشاره کرد.

به‌طور خلاصه، سم‌های دفع آفت‌های گیاهی قابلیت خود را به‌عنوان یک جایگزین عالی برای آفت‌کش‌های شیمیایی نشان داده‌اند. به این دلیل که ارزان، هدفمند، کم‌خطرتر برای سلامتی انسان، زیست‌تخریب‌پذیر و سازگار با محیط‌زیست هستند. حشره‌کش‌های گیاهی تهیه‌شده، برگرفته از انواع مواد مؤثره گیاهی هستند که با شیوه‌های متفاوت می‌توانند از قسمت‌های متفاوت یک گیاه استخراج شوند، یکی از راه‌های به‌دست‌آوردن مواد مؤثره گیاهی با ویژگی آفت‌کشی، به‌کارگیری روش تف‌کافت است. تف‌کافت یک فرایند تجزیه گرمایی است که در غیاب اکسیژن به‌طورمعمول در دمای ۳۰۰ تا ۶۵۰ °C رخ می‌دهد [۳]. تف‌کافت مواد آلی منجر به تولید چار (پسماند جامد)، گاز و فراورده‌های مایع (تار) می‌شود که ارزش گرمایی بالایی دارند [۴]. در این پژوهش، از روغن زیستی کاه برای تهیه آفت‌کش با روش تف‌کافت استفاده شد، زیرا کاه به‌عنوان ماده گیاهی غیرچوبی حاوی سلولز به‌تقریب مشابه با چوب، مقدار کمتری لیگنین و مقدار بیشتری خاکستر و حلال استخراج‌کننده دارد و یکی از بقایای کشاورزی ارزان قیمت و در دسترس است. ازاین‌رو، امکان استفاده از عصاره آبی روغن‌زیستی به‌دست‌آمده از تف‌کافت کاه، به‌عنوان واکنشگر

برای تولید آفت‌کش غیرسنتزی، بررسی شد. همچنین، مقدار آب در روغن‌زیستی به‌طورمعمول بین ۲۰ تا ۳۰ درصد وزنی است. مقادیر بالایی از ترکیب‌های فنلی در روغن زیستی به‌دست‌آمده از کاه وجود دارد. آفت‌کش به‌دست‌آمده از روغن زیستی کاه بر ریزاندامگان‌های *سودوموناز آئروژینوزا*[1] و *پکتوباکتریوم کاروتووروم*[2] و قارچ *ماکروفومینا فازئولینا*[3] با روش انتشار دیسک مستقیم آگار آزمایش شد و نتیجه‌ها نشان داد که فراورده به‌دست‌آمده دارای ویژگی مهارکنندگی در برابر ریزاندامگان‌های به‌کارگرفته شده است.

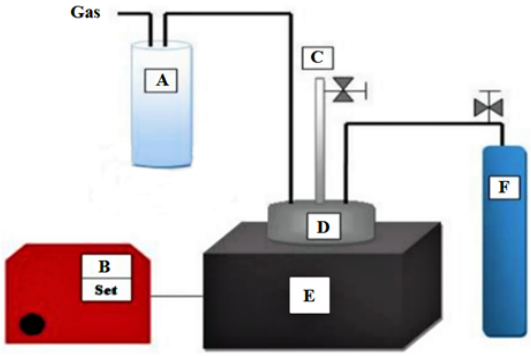
بخش تجربی

مواد شیمیایی

کاه گندم از مزارع روستاهای اطراف بخش خداآفرین آذربایجان شرقی در سال ۱۴۰۰ جمع‌آوری شد. کاه خشک‌شده در مزرعه به اندازه‌های۳ تا ۵ میلی‌متر خرد شد. باکتری‌های *سودوموناز آئروژینوزا*، *پکتوباکتریوم کاروتووروم* و قارچ *ماکروفومینا فازئولینا* به‌عنوان ریزاندامگان‌های مدل از دانشکده کشاورزی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز تهیه شد. مواد شیمیایی و بخش مورداستفاده در طول پژوهش در جدول ۱ ذکر شده است.

سامانه به‌کارگرفته‌شده در فرایند تف‌کافت

طرحواره فرایند تف‌کافت همان‌طورکه در شکل ۱ نشان داده شده است، شامل استوانه نیتروژن به‌عنوان گاز حامل عاری‌کننده محیط از اکسیژن و واکنشگاه با حجم تقریبی ۱ لیتر است. در ابتدا دمای واکنشگاه با گرم‌کن به دمای موردنظر رسانده و سپس خوراک به داخل واکنشگاه منتقل شد. در حین این عمل جریان نیتروژن برقرار بود. پیش از ورود خوراک نیز، گاز نیتروژن به مدت ۱۰ دقیقه به داخل واکنشگاه تزریق شد تا از عدم حضور اکسیژن اطمینان حاصل شود. زمان ماند خوراک در داخل واکنشگاه ۲۰ دقیقه است. بخارهای به‌دست‌آمده از راه اتصال‌ها به داخل چگالنده حاوی مخلوط کلروفرم و متانول وارد و در داخل چگالنده متراکم شدند.



A:چگالنده B:تنظیم‌کننده دما C:خوراک

D:واکنشگاه E:گرم‌کن F:نیروژن (گاز حامل)

شکل ۱ طرحواره سامانه استفاده‌شده در فرایند تف‌کافت

گازهای تراکم‌پذیر به‌صورت فراورده مایع (تار) تولیدی و گازهای سبک‌تر و غیرقابل تراکم به‌صورت فراورده گاز از چگالنده خارج شدند. در این فرایند دبی گاز نیتروژن و سرعت گرمادهی ثابت درنظرگرفته شد. از مخلوط کلروفرم و متانول با نسبت ۴ به ۱ برای شستن اتصال‌ها و به‌عنوان حلال آلی در داخل چگالنده استفاده شد. پس از پایان فرایند تف‌کافت، فراورده مایع تولیدی از کاغذ صافی با قطر ۱۱ سانتی‌متر (واتمن، انگلستان) عبور داده شد و ۳۶ ساعت در داخل آون در دمای ۴۵ °C قرارداده‌شد تا حلال‌های آلی و مواد سبک این مایع تبخیر شود. مایع غلیظ‌تر به‌دست‌آمده تار نامیده می‌شود. وزن مایع برای محاسبه بازده تولیدی اندازه‌گیری شد. تار جمع‌آوری‌شده از چگالنده، حاوی ترکیب‌های قطبی و غیرقطبی بود. همچنین، این فراورده‌ها برای تجزیه جمع‌آوری شدند. ماده جامدی که پس عمل تف‌کافت در واکنشگاه باقی ماند چار نامیده می‌شود.

1. Pseudomonas aeruginosa
2. Pectobacterium carotovorum
3. Macrophomina phaseolina

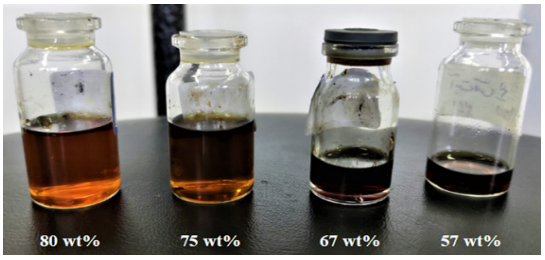
در این پژوهش تف‌کافت با یک دستگاه نیم‌پیوسته بستر سیال به قطر ۱۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۹ سانتی‌متر انجام شد. واکنشگاه شامل ۲ عدد شیر سوزنی فولاد ضدزنگ ۳۱۶ و یک عدد شیر ورودی (توپی) ۳۱۶ بود. برای ورودی گاز لوله ۰٫۲۵ اینچی و برای خروجی آن لوله‌های ۰٫۵ و ۰٫۲۵ اینچ تعبیه شده بود. همچنین، واکنشگاه مجهز به یک فشارسنج (تا بازه۱۰ بار) بود.

جدول ۱ مواد شیمیایی مورداستفاده در طول پژوهش

نام ماده شیمیایی	فرمول شیمیایی	بخش مورد استفاده	محل تهیه شده
کلروفرم	$CHCl_3$	حلال آلی	دانشکده شیمی دانشگاه تبریز
متانول	CH_3OH	حلال آلی	دانشکده شیمی دانشگاه تبریز
آب مقطر	H_2O	حلال آبی و تهیه محیط کشت	دانشکده شیمی دانشگاه تبریز
پودر آگار	$C_{12}H_{18}O_9$	تهیه محیط کشت	شهر تبریز
نوترینت براث (**NB**)	-	تهیه محیط کشت	دانشکده کشاورزی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز
پودر قند	$C_6H_{12}O_6$	تهیه محیط کشت	شهر تبریز
سیب زمینی	-	تهیه محیط کشت	شهر تبریز

استخراج عصاره آبی از روغن‌زیستی به‌دست‌آمده از تف‌کافت کاه

هدف اصلی این پژوهش تولید عصاره آبی مستخرج از روغن‌زیستی به‌دست‌آمده از تف‌کافت کاه است. به این منظور فراورده‌های جامد و مایع به‌دست آمده از تف‌کافت در مرحله پیش به‌طورکامل از هم جداشد و کار بر بخش مایع ادامه یافت. در ۴ ظرف نمونه، به‌طورجداگانه حدود ۳ گرم از روغن‌زیستی به‌دست آمده ریخته و به‌ترتیب ۱۲، ۹، ۶ و ۴ گرم آب افزوده شد (برپایه تجربه افزودن آب مقطر کم‌تر از ۴ گرم موجب استخراج مواد محلول در آب روغن زیستی نمی‌شد.). مخلوط درون این چهار ظرف به‌مدت ۵ دقیقه هم‌زده شد تا مواد محلول در آب آن استخراج شود. سپس مخلوط آب و روغن دوباره از صافی رد شد و به این ترتیب آفت‌کش‌هایی با چهار درصد وزنی متفاوت به‌دست آمد (شکل ۲) و عصاره آبی برای آزمون آفت‌کشی و بررسی فعالیت زیستی با روش انتشار دیسک مستقیم و به‌کارگیری روش سوانگاری مایع با کارایی بالا (HPLC[1]) بررسی شد. درصدهای وزنی در شکل ۲، بیانگر مقدار آب موجود در هر ظرف نمونه است.



شکل ۲ آفت‌کش‌های تولیدشده با روش تف‌کافت در چهار درصد وزنی متفاوت

آماده‌سازی محیط کشت و میکرو ارگانیسم‌ها

محیط کشت نوترینت آگار[2]

برای به‌دست‌آوردن غلظت مناسب از تعلیقه باکتری‌ها از این محیط کشت استفاده شد. برای تهیه این محیط ۲ گرم از

1. High performance liquid chromatography
2. Nutrient Broth Agar (NA)

پودر نوترینت براث و ۴ گرم از پودر آگار در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و به مدت ۲۰ دقیقه در دم‌فشار با دمای C° ۱۲۱ و فشار یک اتمسفر، قرارداده شد.

محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار[1]

برای تهیه این محیط کشت، ۵۰ گرم سیب زمینی پوست‌کنده داخل بشر ریخته شد. سپس، مقداری آب مقطر به آن افزوده و پس از گرم‌شدن (حدود C° ۴۰) از صافی عبور داده شد تا عصاره سیب زمینی استخراج شود. پس از آن، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای C° ۱۲۱ و فشار یک اتمسفر در دم‌فشار قرارداده شد. عصاره به‌دست‌آمده به همراه ۵ گرم پودر قند به‌عنوان دکستروز و ۵ گرم پودر آگار در داخل ارلن مایر ریخته و با آب مقطر به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس، دوباره به مدت ۲۰ دقیقه در دمای C° ۱۲۱ و فشار یک اتمسفر در دم-فشار قرارداده شد.

روش انتشار دیسک مستقیم برای بررسی اثر آفت‌کش

محیط کشت نوترینت آگار در پلیت‌های پلاستیکی ۸ سانتی‌متری زیر هود زیستی در شرایط سترون ریخته شد. پس از ۵ دقیقه و خروج بخارهای محیط کشت، باکتری‌های *سودوموناز آئروژینوزا* و *پکتوباکتریوم کاروتووروم* ایزوله‌شده با نمونه‌بردار به اندازه ۷۰ میکرولیتر روی محیط کشت‌ها ریخته شد. سپس، با یک پیپت شیشه‌ای سترون‌شده با چراغ الکلی روی محیط کشت کشیده شدند. ۱۰ میکرولیتر از آفت‌کش‌های تهیه‌شده با یک نمونه‌بردار دیگر بر روی دیسک‌های بلانک ریخته شد و سپس، در هر پلیت سه عدد دیسک بلانک زیر هود زیستی با فاصله ۲۰ میلی‌متر از لبه پلیت و ۲۵ میلی‌متر از یکدیگر در سطح پلیت قرار داده شدند. در نمونه‌های شاهد دیسک‌های بلانک به آفت‌کش آغشته نشده بودند. برای هر چهار درصد وزنی از آفت‌کش‌ها (۰/۵۷، ۰/۶۷، ۰/۷۵ و ۰/۸ درصد وزنی) سه تکرار و سه نمونه شاهد درنظرگرفته شد (۱۵ آزمون). در پلیت‌ها بسته و در گرم‌خانه C° ۳۰ قرارداده شدند. پس از ۲۴ ساعت، پلیت‌ها از گرم‌خانه خارج و شعاع هاله‌های ایجادشده بدون بازکردن در پلیت‌ها، با خط‌کش اندازه‌گیری شد. شعاع هاله‌های به‌دست‌آمده برای هرسه دیسک بلانک در هر سه پلیت در ۱۲ آزمون، با خط‌کش اندازه‌گیری و میانگین گرفته شد. برای کشت قارچ هم ابتدا محیط PDA در پلیت ۸ سانتی‌متری زیر هود زیستی ریخته شد و پس از ۵ دقیقه و خروج بخارهای محیط کشت، یک قرص ۵ میلی‌متری از پرگنه تازه قارچ در فاصله یک سانتی‌متری از لبه پلیت‌ها کشت داده شد و به فاصله ۴/۵ سانتی‌متری از آن، دیسک بلانک آغشته‌شده به آفت‌کش در روبه‌روی پرگنه قارچ قرار داده شد. البته در نمونه‌های شاهد دیسک‌های بلانک به آفت‌کش آغشته نشدند. در این قسمت نیز برای هر چهار درصد وزنی آفت‌کش سه تکرار انجام شد. پلیت‌های حاوی قارچ کشت‌داده‌شده و دیسک بلانک در گرم‌خانه C° ۳۰ قرار داده شدند و پس از چهار روز، درصد مهار به‌دست آمد.

روش‌های شناسایی نمونه‌ها

طیف‌های FTIR نمونه‌ها با دستگاه Nicolet iS50 به‌دست آمدند. در ابتدا، نمونه‌ها در دمای C° ۳۵ و در یک آون خلأ به مدت ۴ ساعت گرمادهی شدند. گستره روبش در بازه ۴۰۰ تا $4000cm^{-1}$ قرار داشت. تجزیه فراورده مایع با دستگاه Shimadzu GC-MS، با یک ستون مویین (DB-Wax) و با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میلی‌متر، انجام گرفت. ۰/۵ میکرولیتر از نمونه با نسبت انشعاب ۵۰ به ۱، به درگاه تزریق شد. در ابتدا دمای ستون برای ۳ دقیقه در دمای C° ۳۵ حفظ شد و سپس دما با سرعت ۱۰°C/min از ۳۵ تا C° ۲۵۰ افزایش پیدا کرد. ستون برای ۵ دقیقه در دمای C° ۲۵۰ نگه داشته شد. هلیم با دبی ml/min ۴ به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. شناسایی قله‌ها در طیف‌سنجی جرمی (MS^2) برپایه مقایسه با طیف استاندارد ترکیب‌های موجود در مرکز داده GC-MS یا با توجه به نسبت

1. Potato Dextrose Agar (PDA)

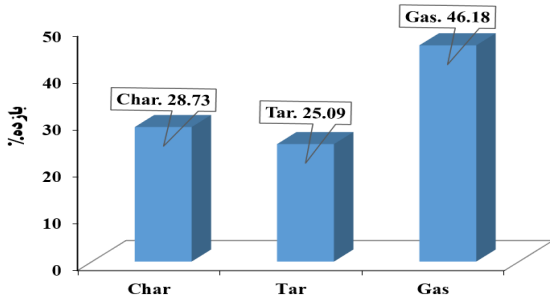
2. Mass spectrometry

طیف/ زمان ماند برای گونه‌های مشخص تزریق‌شده، انجام شد [۵ و ۶]. تجزیه وزن‌سنجی گرمایی (TGA)[1] برای اندازه‌گیری مقدار فراریت ترکیب‌های موجود در نمونه‌ها استفاده شد. نمودارهای مربوط به کاهش وزن و تجزیه گرمایی تفاضلی (DTG)[2] با دستگاه TGA Henven, HCT-1 به‌دست آمد. برای این بررسی در ابتدا نمونه‌ها از دمای اتاق تا ۱۰۵ °C گرمادهی شدند و این دما برای حذف رطوبت فیزیکی نمونه به مدت ۲۰ دقیقه حفظ شد. سپس نمونه‌ها برای رسیدن به دمای ۸۵۰ °C، با نرخ گرمایی ۲۰ °C/min و در حضور جریان نیتروژن، گرمادهی شدند. برای تشخیص عنصرهای C، N، S و H در نمونه‌های روغن‌زیستی و خوراک اولیه، دستگاه Elemental Analysis EuroEA3000-Single به‌کارگرفته شد. نمونه‌ها در لوله احتراق و دمای ۹۵۰ °C سوزانده شدند. هلیم به‌عنوان گاز حامل به لوله‌های متفاوت جذب دمیده شد. درصد عناصر مربوط به ترکیب‌ها با آشکارساز (TCD[3]) تعیین شد. برای تجزیه عصاره آبی مستخرج از روغن‌زیستی دستگاه سوانگاری مایع با کارایی بالا (HPLC, Varian,Prostar) مجهز به پمپ چهارتایی، آشکارساز UV و متصل به سامانه تزریق Rheodyne با به‌کارگیری ستون فولاد پادزنگ Lichrospher C-18 (۲۵۰ میلی‌متر × ۴ میلی‌متر) به‌کارگرفته شد. این کار با استفاده استونیتریل٪ ۰/۱، فسفریک اسید آبی (۷۰:۳۰) به‌عنوان یک فاز متحرک با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و در طول موج‌های ۲۲۲ نانومتر و ۲۷۰ نانومتر انجام شد.

نتیجه‌ها و بحث

بازده فراورده

شکل ۳ درصد بازده فراورده‌های تار، چار وگاز تولیدی را در طی فرایند تف‌کافت نشان می‌دهد. مایع به‌دست آمده از تف‌کافت جمع‌آوری و برای تبخیر فاز سبک آن به مدت ۳۶ ساعت در آون قرار داده شد و سپس، بازده تار تولیدی به‌دست آمده که ۲۵/۰۹٪ بود. می‌توان گفت که به‌دلیل بالابودن محتوای آب و کم‌بودن مقدار لیگین کاه، بازده تار تولیدی پایین بود. بازده فراورده جامد باقی‌مانده در داخل واکنشگاه که چار نامیده می‌شود ۲۸/۷۳٪ و بازده گاز به‌دست‌آمده از تف‌کافت کاه نیز ۴۶/۱۸٪ بود.



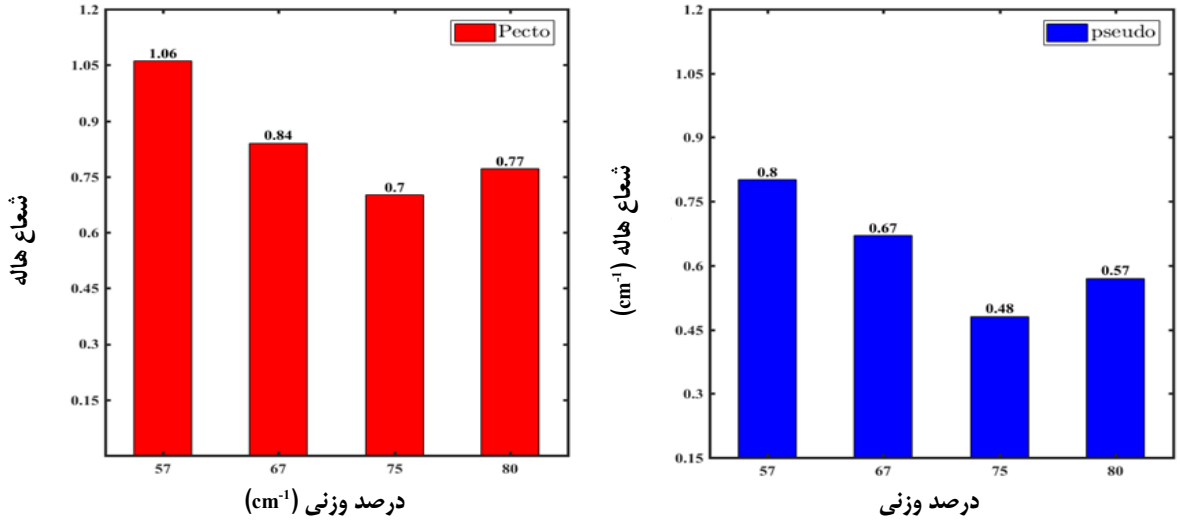
شکل ۳ مقدار فراورده‌های گاز، چار و تار تولیدشده

بررسی اثر آفت‌کش‌های تولیدشده بر دو سویه باکتری

شکل ۴ مقدار تأثیر چهار درصد وزنی آفت‌کش (۰/۵۷، ۰/۶۷، ۰/۷۵ و ۰/۸) را نشان می‌دهد. آفت‌کش با ۰/۵۷ درصد وزنی، بیشترین اثر بازدارندگی بر دو سویه باکتری را نشان داده است که شعاع هاله ایجاد شده برای *پکتوباکتریوم کاروتووروم* برابر ۱/۰۶ سانتی‌متر و برای *سودوموناز آئروژینوزا* برابر ۰/۸ سانتی‌متر است. شعاع هاله‌های ایجاد شده در اثر آفت‌کش ۰/۶۷ درصد وزنی برای *پکتوباکتریوم کاروتووروم* برابر ۰/۸۴ سانتی‌متر و برای *سودوموناز آئروژینوزا* برابر ۰/۶۷ سانتی‌متر است. هاله‌های ایجادشده در *پکتوباکتریوم کاروتووروم* و *سودوموناز آئروژینوزا* در اثر آفت‌کش ۰/۷۵ درصد وزنی به‌ترتیب برابر ۰/۷ و ۰/۴۸ سانتی‌متر و در اثر آفت‌کش ۰/۸ درصد وزنی نیز به‌ترتیب برابر ۰/۷۷ و ۰/۵۷ سانتی‌متر است. نتیجه‌های به‌دست‌آمده از این داده‌ها نشان می‌دهد که بیشترین تأثیر مربوط به آفت‌کش ۰/۵۷ درصد وزنی برای باکتری *پکتوباکتریوم کاروتووروم* است که دلیل

1. Thermogravimetric analysis (TGA)
2. Differential thermal analysis (DTA)
3. Thermal conductivity detector (TCD)

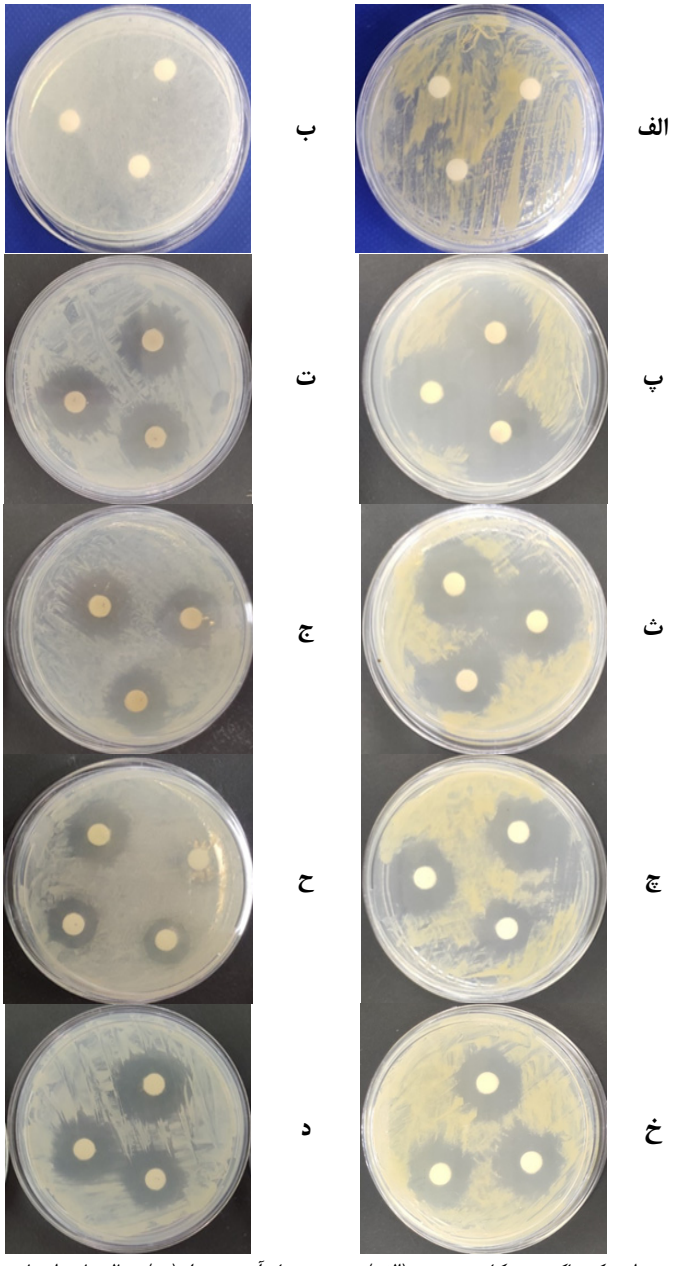
آن وجود ترکیب‌ها با ویژگی آفت‌کشی بیشتر در این درصد وزنی است و با نتیجه‌های به‌دست‌آمده از HPLC همخوانی دارد. یعنی هر چه درصد وزنی آب موجود در نمونه‌ها کم‌تر باشد، فنل موجود بیشتر و شعاع هاله‌های ایجادشده بزرگ‌تر و ویژگی بازدارندگی بیشتر است. تصویر هاله‌های ایجاد شده در شکل ۵ ارائه شده است.



شکل ۴ مقدار تأثیر چهار درصد وزنی متفاوت آفت‌کش‌های تولیدشده

احمد و همکارانش [۷] به بررسی اثر آفت‌کش‌های منتخب (متریوبوزین[۱]، گلیفوسیت[۲]، ایمیداکلوپرید[۳]، تیامتوکسام[۴]، هگزاکونازول[۵]، متالاکسیل[۶] و کیتازین[۷]) بر *سودوموناز آئروژینوزا* پرداخته‌اند و مشاهده کردند که رشد سویه در ابتدا کند بود و سپس با افزایش فواصل گرمادهی به‌صورت خطی افزایش یافت و پس از آن به‌شدت کاهش یافت. به طور کلی، بالاترین دوز آزمایش شده از هر آفت‌کش، اثر مضر بیشتری بر رشد باکتری نسبت به مقدار توصیه شده داشت. عمر و همکارانش [۸] فعالیت پادباکتریایی عصاره متانولی به‌دست آمده از برگ هفت بند شرقی[۸] بر روی شش باکتری بیماری‌زا گیاهی در غلظت‌های متفاوت را بررسی کردند و مشاهده کردند که در کمترین غلظت (۲۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) قطر هاله ایجادشده برای *پکتوباکتریوم کاروتووروم* برابر ۱۱ میلی‌متر و در غلظت ۵۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر برابر ۱۴ میلی‌متر بود. در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر، کمترین میانگین قطر پهنه‌های بازدارندگی برای *پکتوباکتریوم کاروتووروم* ۱۵ میلی‌متر به‌دست آمد.

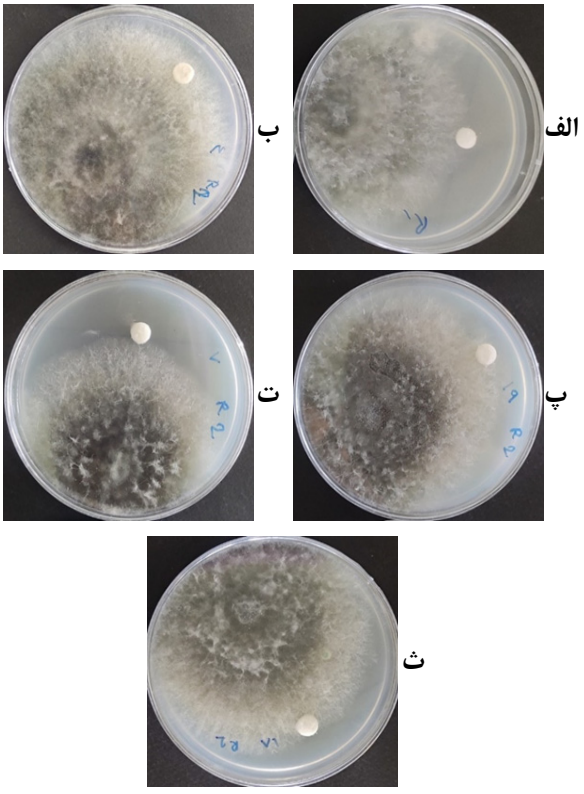
1. Metribuzin
2. Gglyphosate
3. Imidacloprid
4. Thiamethoxam
5. Hexaconazole
6. Metalaxyl
7. Kitazin
8. Polygonum orientale



شکل ۵ تصویر نمونه شاهد برای *پکتوباکتریوم کاروتووروم* (الف) و *سودوموناز آئروژینوزا* (ب)؛ هاله‌های ایجادشده با آفت‌کش ۵۷ درصد وزنی برای *پکتوباکتریوم کاروتووروم* (پ) و *سودوموناز آئروژینوزا* (ت) هاله‌های ایجادشده با آفت‌کش ۶۷ درصد وزنی برای *پکتوباکتریوم کاروتووروم* (ث) و *سودوموناز آئروژینوزا* (ج)؛ هاله‌های ایجادشده با آفت‌کش ۷۵ درصد وزنی برای *پکتوباکتریوم کاروتووروم* (چ) و *سودوموناز آئروژینوزا* (ح) و هاله‌های ایجادشده با آفت‌کش ۸۰ درصد وزنی برای *پکتوباکتریوم کاروتووروم* (خ) و *سودوموناز آئروژینوزا* (د)

بررسی اثر آفت‌کش‌های تولیدشده بر قارچ ماکروفومینا فازئولینا

همانند شکل ۶ هر چهار درصد وزنی از آفت‌کش‌های تولیدی اثر بازدارندگی بر این نوع از قارچ خود نشان ندادند. دلیل این امر مقاومت این نوع قارچ به آفت‌کش‌های تولیدی و ترکیب‌های موجود در داخل آن‌ها است. باتوجه به اینکه زمان لازم برای رشد این نوع قارچ ۴ روز است، می‌توان گفت که آفت‌کش‌های تولیدی دارای ماندگاری ضعیفی هستند که در طول ۴ روز از خاصیت بازدارندگی آفت‌کش‌های تولیدی کم شده و در برابر رشد قارچ مؤثر واقع نشده‌اند. که این امر نشان می‌دهد که شاید بتوان با انجام یک سری اصلاحات در فرایند آزمایش یا با افزودن یک سری مواد آلی، مقدار اثرگذاری و ماندگاری آفت‌کش‌های تولیدی را بیشتر کرد.



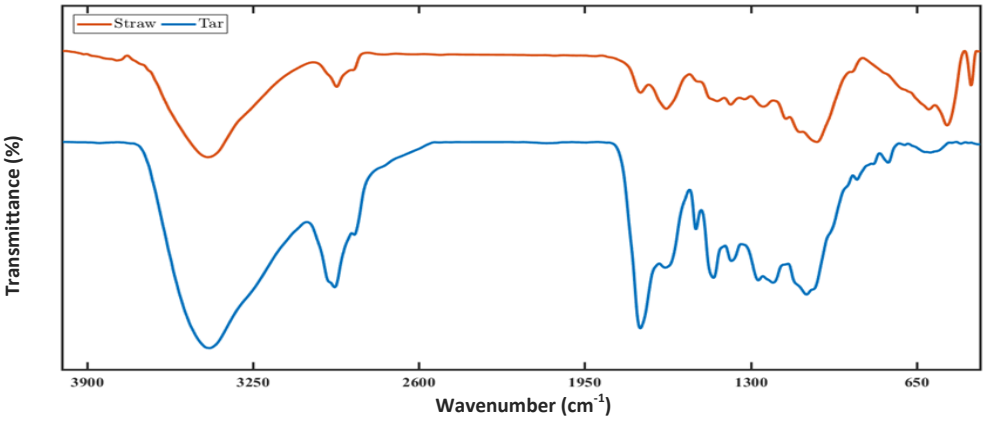
شکل ۶ تصویر نمونه شاهد قارچ کشت داده‌شده (الف) و استفاده از آفت‌کش‌های تولیدشده در چهار درصد وزنی متفاوت شامل ۵۷ (ب)، ۶۷ (پ)، ۷۵ (ت) و ۸۰ درصد وزنی (ث)

بررسی خوراک اولیه و فراورده‌های به‌دست‌آمده از تف‌کافت گرمایی

طیف FTIR خوراک اولیه و تار

شکل ۷ طیف‌های FTIR مربوط به کاه و تار را نشان می‌دهد. طیف هر دو نمونه، گروه‌های عاملی مشابهی را نشان می‌دهد. در گستره ۳۱۰۰ تا $3650\ cm^{-1}$ نوار گسترده، مربوط به گروه عاملی O-H است. درواقع نوار مشاهده‌شده به الکل‌ها

(O-H) و فنل‌ها اختصاص دارد [۹]. باتوجه به طیف مربوط به تار که شدت نوار زیادتری در این طول موج است پس تار تولیدی ترکیب‌های فنلی بیشتری دارد. گروه عاملی C-H آروماتیک و حالت متقارن و نامتقارن کشش آلیفاتیک به‌طورعمده در گستره ۲۷۵۰ تا cm^{-1} ۳۱۰۰ دیده می‌شود که پس از انجام فرایند تف‌کافت مقدار آن در تار به مقدار کمی افزایش یافته است.



شکل ۷ طیف‌های FTIR مربوط به کاه و تار

نوار پدیدارشده در عدد موج $1630cm^{-1}$ ~ نشان‌دهنده گروه عاملی C=C است [۱۰]. نوار $1730cm^{-1}$ که به ارتعاش‌های C=O در گروه‌های کربونیل نسبت داده می‌شود، حضور گروه‌های مشتق استیل، گروه‌های آلدهیدی و غیره را نشان می‌دهد [۱۱]. وجود نواری در ۱۴۳۰ تا cm^{-1} ۱۴۴۰ نشان‌دهنده حضور متیل یا متیل آلیفاتیک و یا آروماتیک است که می‌توان گفت فرایند تف‌کافت موجب افزایش این عوامل شده است. وجود نوار در عدد موج $1370cm^{-1}$ را می‌توان قابل انتساب به ارتعاش‌های خمشی برای گروه CH_3 دانست [۱۲]. وقتی که نوار خمش متقارن CH_3 مربوط به کربونیل یا آروماتیک باشد، شدت آن قوی‌تر و یا رو به متوسط است [۱۳]. نوار مشاهده‌شده در گستره ۱۲۴۰ تا cm^{-1} ۱۲۷۰ مربوط به گروه عاملی C-O است [۱۴]. این گروه عاملی شامل اترها و استرها است. وجود نوارهای ضعیف در گستره ۱۰۰۰ تا cm^{-1} ۱۲۵۰ مربوط به کشش پیوند C-N است [۱۳]. نوار گستره ۱۰۰۰ تا cm^{-1} ۱۲۰۰ مربوط به گروه عاملی هیدروکسیل فنلی است که مقدار آن در تار بیشتر از خوراک اولیه است و دلیل آن افزایش تبدیل ترکیب‌های خطی به آروماتیک‌ها است [۱۵]. نوار ناحیه cm^{-1} ۶۰۰ در طیف مربوط به کاه به دلیل وجود اترها است. کشیدگی C-C به‌طورعمده در عدد موج حدود $800cm^{-1}$ رخ می‌دهد. نوار پدیدارشده در cm^{-1} ۷۶۰ نیز مربوط به گروه عاملی C-C-C است [۱۳]. نوارهای مشاهده‌شده در بازه ۵۰۰ تا cm^{-1} ۷۵۰ نیز نشان‌دهنده فنل‌ها و ترکیب‌های آروماتیک با حلقه کمتر از ده اتم کربن است [۱۶]. برپایه شدت این نوارها مقدار ترکیب‌های آروماتیک در خوراک اولیه زیادتر است که می‌توان گفت دمای تف‌کافت موجب کاهش آن‌ها شده است.

حضور C-C-C به دلیل نوار موجود در cm^{-1} ۴۳۴ است [۱۳]. در کل تفاوت زیادی بین گروه‌های عاملی نبوده و فقط در شدت نوارهای ایجادشده یک مقدار جزئی تفاوت وجود دارد که فرایند تف‌کافت موجب افزایش گروه عاملی الکل‌ها، فنل‌ها و کربونیل شده است.

تجزیه عنصری کاه و تار

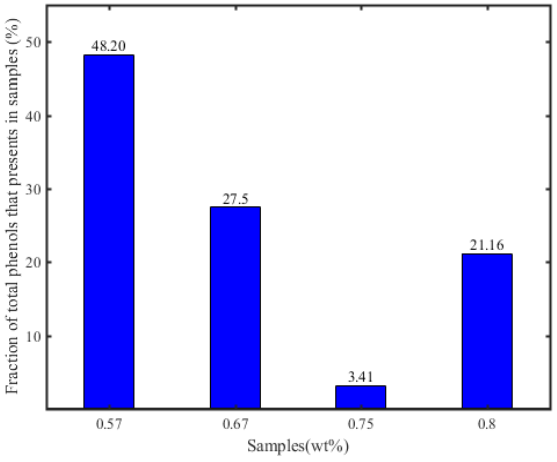
جدول ۲ داده‌های مربوط به تجزیه عنصری کاه و تار را نشان می‌دهد. برپایه نتیجه‌های به‌دست‌آمده درصد وزنی کربن در تار بیشتر از کاه و درصد وزنی اکسیژن در کاه بیشتر است که دلیل این امر اکسیژن‌زدایی و تبدیل این عنصر به CO_2 و CO است. درصد وزنی هیدروژن پس از فرایند تف‌کافت به دلیل واکنش با O و تبدیل به آب کاهش یافته است. دلیل دیگر کاهش اکسیژن و هیدوژن واکنش‌های کربوکسیل‌زدایی است. کاهش اکسیژن پس از فرایند تف‌کافت ممکن است موجب افزایش ارزش گرمایی، کاهش اسیدها و بهبود کیفیت روغن زیستی در طی فرایند تف‌کافت شود. تغییرهای ویژه‌ای در درصد وزنی نیتروژن و گوگرد پس از فرایند تف‌کافت رخ نداده است.

جدول ۲ درصد وزنی تجزیه عنصری کاه و تار

نمونه	اکسیژن	گوگرد	نیتروژن	هیدروژن	کربن
کاه	۵۸٫۷۰۸	۰٫۴۰۵	۰٫۳۶۵	۳٫۹۴۲	۳۶٫۵۸
تار	۵٫۵۲۲	۰٫۶۸۸	۰٫۱۶۸	۰٫۲۰۸	۹۳٫۴۱

تجزیه HPLC آفت‌کش‌های تولیدشده

برای مشخص‌شدن ترکیب‌های موجود در هر کدام از آفت‌کش‌های تولیدشده، از HPLC در دو طول موج ۲۲۲ و ۲۷۰ نانومتر استفاده شد. تفاوت میان این دو طول موج فقط در مقدار مشخص‌بودن قله‌های هر نمونه است. بر همین پایه، آفت‌کش با درصدهای وزنی ۰٫۶۷ و ۰٫۸ در طول موج ۲۲۲ نانومتر و آفت‌کش با درصدهای وزنی ۰٫۵۷ و ۰٫۷۵ در طول موج ۲۷۰ نانومتر که دارای قله‌های مشخص‌تری بودند، انتخاب شدند. باتوجه به سوانگاشت‌های[1] استاندارد برای گروه‌های فنلی [۱۷ و ۱۸] و مقایسه آن‌ها با نتیجه‌های به‌دست‌آمده می‌توان نتیجه گرفت که وجود فنل در آفت‌کش‌ها موجب ایجاد ویژگی بازدارندگی در برابر دو سویه باکتری آزمایش شده است. در حالت کلی، قله‌هایی که در طول زمان در یک سوانگاشت وجود دارد، مربوط به یک یا چند ماده متفاوت است و با محاسبه مساحت سطح زیرین آن‌ها، در هر فاصله زمانی مشخص، غلظت آن ماده محاسبه شد. به این ترتیب مجموع غلظت‌های ترکیب‌های فنلی به‌دست آمد. شکل ۸ نشان‌دهنده درصدی از کل ترکیب‌های فنلی هست که در هر نمونه وجود دارد.



شکل ۸ درصدی از کل ترکیب‌های فنلی موجود در هر نمونه

برپایه اطلاعات موجود در شکل، می‌توان نتیجه گرفت که آفت‌کش با ۰٫۵۷ درصد وزنی بیشترین مقدار فنل از کل فنل‌های موجود را دارد. درنتیجه این آفت‌کش باید بازدارندگی بیشتری در برابر دوسویه باکتری آزمایش شده داشته باشد. باتوجه به شکل ۴ که در آن شعاع هاله‌های ایجاد شده با این درصد وزنی از آفت‌کش، بزرگ‌تر از بقیه درصدهای وزنی است، تأیید می‌شود. از طرفی، درصد فنل موجود برای آفت‌کش با درصد وزنی ۰٫۷۵، از بقیه آفت‌کش‌ها کم‌تر است که با توجه به شکل ۴ مشخص است که شعاع هاله‌های ایجادشده با این نوع آفت‌کش کوچک‌تر و در نتیجه از ویژگی بازدارندگی کمتری نیز برخوردار است.

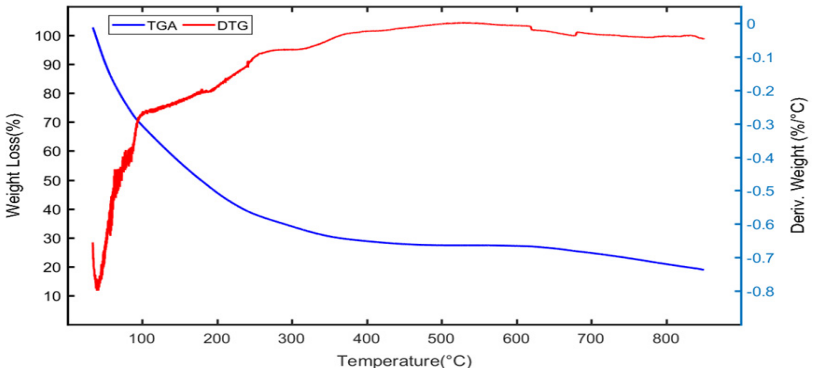
1. Chromatogram

تجزیه تار با TGA-DTG

شکل ۹ نمودارهای به‌دست‌آمده از تجزیه گرمایی تار را نشان می‌دهد. برپایه این شکل، در بازه دمایی ۱۰۵ تا ۳۰۰ °C نمودار شیب زیادتری از سایر بازه‌های دمایی دارد. یعنی با افزایش دمای کم، کاهش وزن زیادی را شاهد هستیم که به‌طورعمده به‌دلیل وجود آب و ترکیب‌های سبک است. همچنین، مشاهده می‌شود که در بازه دمایی ۳۵۰ تا ۶۵۰ °C شیب نمودار، کمتر از حالت پیشین است. یعنی با افزایش دما، کاهش وزن زیادی را مشاهده نمی‌کنیم، به دلیل اینکه ترکیب‌های سنگین یا مواد با نقطه جوش بالا در نمونه وجود دارد. همان‌طور که مشخص است بقایای تجزیه نمونه در ۸۰۰ °C به مقدار ۱۸ تا ۲۰ درصد باقی مانده است. نمودار TGA را می‌توان به سه بخش تقسیم‌بندی کرد. بخش اول از دمای اتاق تا حدود ۲۰۰ °C مربوط به تبخیر رطوبت و مواد آلی سبک است.

مرحله دوم تجزیه سلولز، همی سلولز و لیگین از حدود ۲۰۰ تا ۴۸۰ °C است. مرحله سوم از ۴۸۰ تا ۷۰۰ °C فرایند کربن‌شدن است و در این مرحله کاهش وزن به آرامی تا دمای نهایی، کاهش می‌یابد [۱۹].

با توجه به نمودار DTG می‌توان به وجود مواد متفاوت در ساختار تار پی برد. قله موجود در حدود دمای ۱۰۰ °C مربوط به ترکیب‌های سبک و آب است که شدت قله متناسب با شیب تغییرهای وزنی در نمودار TGA است. در دماهای بالاتر تغییرها به‌تقریب یکسان و مربوط به ترکیب‌های سنگین هستند.



شکل ۹ نمودارهای TGA- DTG تار

تجزیه تار با GC-MS

GC-MS برای پی‌بردن به نوع ترکیب‌های آلی موجود در تار به‌دست‌آمده از فرایند تف‌کافت کاه انجام شد که برخی از ترکیب‌های موجود با درصد وزنی مربوط در جدول ۳ آورده شده است. فراورده مایع به‌دست‌آمده از فرایند تف‌کافت مخلوط پیچیده‌ای از ترکیب‌های آلی متفاوت بود که به‌طورعمده از ترکیب‌های فنلی هم‌رده تشکیل شده است. روغن زیستی مخلوطی از هیدروکربن‌های پیچیده با مقادیر زیادی اکسیژن و آب است. روغن زیستی به‌طورمعمول حاوی قطعه‌های مولکولی سلولز، همی‌سلولز و بسپارهای لیگنین است که از محیط تف‌کافت خارج شده‌اند. ترکیب‌های موجود در روغن زیستی به پنج گروه کلی هیدروکسی آلدئیدها، هیدروکسی کتن‌ها، قندها و قندهای بی‌آب، کربوکسیلیک اسیدها و ترکیب‌های فنلی تقسیم می‌شوند [۲۰]. اجزای اصلی فراورده مایع تف‌کافت شامل اسیدها، فنل‌ها، کتن‌ها، آلدئیدها، اترها و برخی از گونه‌های آروماتیک هستند که وجود این ترکیب‌های معطر و اکسیژن‌دار

به بافت‌های بسپارزیستی کاه مانند سلولز و همی‌سلولز و لیگنین نسبت داده می‌شود. ترکیب‌های فنلی موجود در روغن‌های پیرولیتیک یک فراورده معمولی از زیست‌توده لیگنوسلولزی هستند که به‌طورعمده از تجزیه لیگنین تولید می‌شوند [۲۱]. اسیدها و الکل‌ها به‌طورعمده از ترکیب‌های کراکینگ سلولز و همی‌سلولز در ساختار کاه و همچنین، کراکینگ زنجیره‌های گروه عامل‌دار تولید شدند. با توجه به نتیجه‌های به‌دست‌آمده از این تجزیه مشخص است که مقدار ترکیب‌های استری، کربوکسیک اسیدی و ترکیبات اکسیژن‌دار دیگر مانند هگزادکانوئیک اسید، هگزادسیل استر و اولئیک اسید، ایکوزیل استر و هگزادکانوئیک اسید، اوکتادسیل استر در تار به‌دست‌آمده از فرایند تف‌کافت زیاد است. در نتیجه موقع استخراج بخش محلول در آب روغن‌زیستی این ترکیب‌ها به فاز آبی منتقل و موجب ایجاد ویژگی آفت‌کشی فراورده‌های تولیدی می‌شود. مقایسه ترکیب‌های خطی و آروماتیکی نشان می‌دهد که مقدار ترکیب‌های آروماتیکی (هگزادکانوئیک اسید، هگزادسیل استر) در تار بیشتر است.

جدول ۳ درصد وزنی برخی از ترکیب‌های موجود در نمونه تار برپایه تجزیه GC-MS

ترکیب‌ها	درصد وزنی
هگزان، ۳- متیل	۰/۸۱
هگزانال دی‌متیل استال	۰/۶۷
سیلانول، تری‌متیل	۰/۵۷
فوران، تتراهیدرو-۵،۲- دی‌متوکسی	۰/۷۰
فورانون، دی‌هیدرو-۴،۴-دی‌متیل $(H_2)_2$	۰/۴۷
متانامینیم، ۱-کربوکسی-N،N، -N تری‌متیل-، هیدروکسید، نمک داخلی	۱/۷۴
بوتاندیوئیک اسید، دی‌متیل استر	۰/۸۵
فنل، ۲ متوکسی	۰/۶۷
فنل، ۴- اتیل-۲- متوکسی	۰/۴۵
۳،۱- دیوکسولان، ۴- متیل-۲- پنتادسیل	۰/۹۹
اتیل ایزوآلوکولات	۲/۴۱
هگزادکانوئیک اسید، متیل استر	۱/۶۸
اسید اولئیک، ایکوزیل استر	۱۴/۹۸
هگزادکانوئیک اسید، اوکتادسیل استر	۱۵/۲۴
هگزادکانوئیک اسید، هگزادسیل استر	۳۸/۵۷
۲،۱- بنزن‌دی‌کربوکسیلیک اسید، دی‌ایزواکتیل استر	۴/۳۹
۱۷- پنتاتریاکونتن	۱۰/۲۳
۹- (۲،'۲'-دی‌متیل‌پروپانوئیل هیدرازونو)- ۶،۳- دی‌کلرو-۷،۲- به یس-[۲- (دی‌اتیلامین)- اتوکسی] فلورن	۲/۵۵
استیک اسید، ۳-هیدروکسی-۵،۵- دی‌متوکسی-۳-متیل پنتیل استر	۰/۴۸

نتیجه‌گیری

نتیجه‌های آزمون‌های سوانگاری مایع با کارایی بالا نشان داد که عصاره آبی مستخرج از روغن‌زیستی شامل گروهی از فنل‌ها است که ویژگی آفت‌کشی دارند. نتیجه‌های به‌دست آمده از بررسی طیف‌های FTIR نشان داد که خوراک اولیه و تار به‌دست‌آمده از آن گروه‌های عاملی مشابهی دارند و فقط در شدت نوارهای مشخصه، تفاوت دارند. همچنین، تجزیه TGA نشان داد که به‌دلیل وجود آب و ترکیب‌های سبک در داخل تار، تا دمای ۳۰۰ °C کاهش وزن بیشتری نسبت به بقیه دماها دارد. نتیجه‌ها نشان داد که عصاره آبی مستخرج از روغن‌زیستی با ۰/۵۷ درصد وزنی نسبت به *پکتوباکتریوم کاروتووروم* اثر بازدارنگی بیشتری دارد. با توجه به آزمون دیسک مستقیم آگار آفت‌کش‌های تولیدی اثر بازدارندگی بر قارچ *ماکروفومینا فازئولینا* نداشتند. پس در حالت کلی هرچه مقدار فنل موجود در آفت‌کش‌های تولیدشده بیشتر باشد، ویژگی بازدارندگی بیشتری دارند. تجزیه و تحلیل‌های GC-MS نشان داده است که کربوکسیلیک اسیدها، فنل‌ها، الکل‌ها و هیدروکربن‌های اکسیژن‌دار شاخه‌دار ترکیب‌های اصلی روغن زیستی هستند.

مراجع

[1] Al-Saleh, I. A; Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology 13(3), 151-161, 1994.

[2] Kaur, R.; Mavi, G.K.; Raghav, S.; Khan, I; Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 8(3), 1889-1897, 2019.

[3] Bhoi, P.R.; Ouedraogo, A.S.; Soloiu, V., Quirino, R; Renewable and Sustainable Energy Reviews 121, 109676, 2020.

[4] Booker, C.J.; Bedmutha, R., Vogel, T.; Gloor, A.; Xu, R.; Ferrante, L.; Briens, C; Industrial & Engineering Chemistry Research 49(20), 10074-10079, 2010.

[5] Fagbemi, L.; Khezami, L.; Capart, R; Applied energy 69(4), 293-306, 2001.

[6] Onay, O.; Kockar, O.M; Renewable energy 28(15), 2417-2433, 2003.

[7] Ahemad, M.; Khan, M.; Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica 58(3), 169-187, 2011.

[8] Sarah, S.N.,; Sijam, K.; Omar, D; Int J Appl Biol Pharmac Technol 3, 246-252, 2012.

[9] Laresgoiti, M.F.; Caballero, B.M.; de Marco, I.; Torres, A.; Cabrero, M.A., Chomón, M.J.; Journal of Analytical and Applied Pyrolysis 71(2), 917-934, 2004.

[10] Tsai, W.T.; Lee, M.K.; Chang, D.Y; Journal of Analytical and Applied Pyrolysis 76(1-2), 230-237, 2006.

[11] Fu, P.; Hu, S.; Xiang, J.; Li, P.; Huang, D.; Jiang, L.; Zhang, J.; Journal of Analytical and Applied Pyrolysis 88(2), 117-123, 2010.

[12] Pütün, A.E.; Apaydın, E.; Pütün, E; Energy 29(12-15), 2171-2180, 2004.

[13] Lin-Vien, D.; Colthup, N.B.; Fateley, W.G.; Grasselli, J.G.; "The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules", Academic Press, New York, 1991.

[14] Salavati, S.; Zhang, C.; Zhang, S.; Liu, Q.; Gholizadeh, M.; Hu, X.; Journal of Environmental Management 250, 109467, 2019.

[15] Iglesias, M.J.; Jimenez, A.; Laggoun-Defarge, F.; Suarez-Ruiz, I.; Energy and Fuels 9(3), 458-466, 1995.

[16] Christensen, T. (Ed.); "Solid Waste Technology and Management", John Wiley & Sons, UK, 2011.

[17] Altay, A.; Degirmenci, S.; Korkmaz, M.; Cankaya, M.; Koksal, E; Journal of Food Measurement and Characterization 12(4), 2936-2945, 2018.

[18] Sochor, J.; Zitka, O.; Skutkova, H.; Pavlik, D.; Babula, P.; Krska, B.; Kizek, R; Molecules 15(9), 6285-6305, 2010.

[19] Zhang, S.; Dong, Q.; Zhang, L.; Xiong, Y; Bioresource technology 199, 352-361, 2016.

[20] Basu, P.; "Biomass Gasification, Pyrolysis and Torrefaction: Practical Design and Theory", Academic Press, Elsevier, UK, 2018.

[21] Khuenkaeo, N.; Phromphithak, S.; Onsree, T.; Naqvi, S.R.; Tippayawong, N.; PlOS ONE, 16(7), e0254485, 2021.