



University of Tehran

Quantitative, qualitative and structural characterization of cellulose extracted from the green macroalgae *Cladophora* sp.

Fatemeh Asadi¹ | Mohammad Hadi Aryaie Monfared² |
Ahmadreza Saraeyan³ | Sahab Hedjazi⁴

1. Department of Paper Science and Engineering, Faculty of Wood and Paper Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. Email: f.asadi7831@gmail.com

2. Corresponding Author, Department of Paper Science and Engineering, Faculty of Wood and Paper Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. Email: aryaie@gau.ac.ir

3. Department of Paper Science and Engineering, Faculty of Wood and Paper Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. Email: saraeyan@yahoo.com

4. Department of Paper Science and Engineering, Faculty of Wood and Paper Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. Email: shedjazi@gau.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article History:

Received: 14 July 2025

Revised: 21 October 2025

Accepted: 27 December 2025

Published online: 09 February 2026

Keywords:

Cladophora green algae,
Cellulose, Structural characterization,
Marine macroalgae,
Physico-chemical properties.

ABSTRACT

Cellulose extracted from algal sources has attracted considerable attention as a high-value biopolymer due to its unique physicochemical characteristics and wide range of potential applications. Despite recent advances in cellulose extraction techniques from algal biomass, further investigation and optimization of physicochemical methods are still required to obtain cellulose with desirable properties and enhanced processability. In this study, cellulose was extracted and characterized from the green macroalga *Cladophora* sp. through a multistep chemo-mechanical process consisting of methanol pretreatment, alkaline treatment (NaOH), and two-stage bleaching using H₂O₂/NaOH and NaClO. The final product was characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), chemical composition analysis, yield determination, α -cellulose content, intrinsic viscosity, and degree of polymerization (DP). The purification process markedly reduced the protein and ash contents to 0.7% and 0.51%, respectively, while increasing the α -cellulose purity to 91.6%. Although the DP decreased significantly from 2500 to 1290 (approximately 48.5%) during the NaClO bleaching stage, this reduction may facilitate subsequent mechanical treatments for nanocellulose production. The overall cellulose yield was 69.9%, highlighting the high potential of *Cladophora* sp. as a sustainable source for producing high-purity cellulose. FTIR results further confirmed the effective removal of non-cellulosic constituents (lipids, hemicelluloses, lignin, and pigments) and the corresponding enhancement in cellulose purity. Overall, the findings demonstrate the efficiency of the proposed extraction approach for obtaining high-purity cellulose fibers with desirable physicochemical properties.

Cite this article: Asadi, F., Aryaie Monfared, M.H., Saraeyan, A.R., Hedjazi, S. (2026). Quantitative, qualitative and structural characterization of cellulose extracted from the green macroalgae *Cladophora* sp. *Journal of Forest and Wood Products*, 78 (4), 419-432. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfwf.2025.398125.1355>



© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.
DOI: <http://doi.org/10.22059/jfwf.2025.398125.1355>



دانشگاه تهران

نشریه جنگل و فرآورده‌های چوب

شاپا الکترونیکی: ۰۵۳۰-۲۳۸۳

وب گاه نشریه: <https://jfwf.ut.ac.ir>

شناسایی کمی، کیفی و ساختاری سلولز استخراج شده از

ماکرو جلبک سبز *Cladophora* sp.

فاطمه اسدی^۱ | محمد هادی آریائی منفرد^{۲*} | احمد رضا سرانیان^۳ | سحاب حجازی^۴

۱. گروه علوم و مهندسی کاغذ، دانشکده مهندسی چوب و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه: f.asadi7831@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، گروه علوم و مهندسی کاغذ، دانشکده مهندسی چوب و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه: aryaie@gau.ac.ir
۳. گروه علوم و مهندسی کاغذ، دانشکده مهندسی چوب و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه: saraeyan@yahoo.com
۴. گروه علوم و مهندسی کاغذ، دانشکده مهندسی چوب و کاغذ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه: shedjazi@gau.ac.ir

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۷/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۶

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۱۱/۲۰

کلیدواژه:

جلبک سبز کلادوفورا،

سلولز،

شناسایی ساختاری،

ماکرو جلبک دریایی،

ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی.

سلولز استخراج شده از منابع جلبکی، به عنوان یک ماده زیستی با ارزش افزوده بالا و داشتن ویژگی‌های منحصر به فرد، توجه قابل ملاحظه‌ای را در حوزه‌های مختلف به خود جلب نموده است. با وجود پیشرفت‌های اخیر در روش‌های مختلف استخراج سلولز از زیست‌توده جلبک‌ها، این مسئله همچنان نیازمند بررسی و بهینه‌سازی روش‌های فیزیکی-مکانیکی برای تولید سلولز با ویژگی‌های مطلوب و قابلیت فرآوری است. این مطالعه به استخراج و مشخصه‌یابی سلولز از ماکرو جلبک سبز کلادوفورا (*Cladophora* sp.) با استفاده از یک فرآیند شیمیایی-مکانیکی چند مرحله‌ای، شامل پیش تیمار با متانول، تیمار قلیایی (NaOH) و رنگ‌بری دو مرحله‌ای (H₂O₂/NaOH) و (NaClO) می‌پردازد. محصول نهایی با آنالیزهای FTIR، ترکیب شیمیایی، درصد بازده، میزان آلفا سلولز، ویسکوزیته ذاتی و درجه پلیمریزاسیون (DP) شناسایی شد. فرآیند خالص‌سازی منجر به کاهش قابل ملاحظه پروتئین تا ۰/۷ درصد و خاکستر تا ۰/۵۱ درصد و افزایش خلوص آلفا سلولز تا ۹۱/۶ درصد شد. اگرچه این فرآیند با کاهش قابل ملاحظه DP، از ۲۵۰۰ به ۱۲۹۰ (حدود ۴۸/۵ درصد) در مرحله رنگ‌بری با NaClO همراه بود، اما این کاهش می‌تواند فرآیندهای مکانیکی بعدی برای تولید نانو سلولز را تسهیل کند. بازده کلی ۶۹/۹ درصد محاسبه شد، که بر قابلیت زیاد جلبک کلادوفورا به عنوان منبعی پایدار برای تولید سلولز با خلوص زیاد تأکید می‌کند. نتایج FTIR، نیز حذف مؤثر ترکیبات غیر سلولزی (لیپیدها، همی سلولزها، لیگنین و رنگدانه‌ها) و افزایش خلوص سلولز را تأیید کرد. این پژوهش اثربخشی فرآیند پیشنهادی را در تولید الیاف سلولز با خلوص بالا و ویژگی‌های مطلوب نشان می‌دهد.

استناد: اسدی، فاطمه، آریائی منفرد؛ محمد هادی، سرانیان؛ احمد رضا، حجازی؛ سحاب (۱۴۰۴). شناسایی کمی، کیفی و ساختاری سلولز استخراج شده از ماکرو جلبک سبز *Cladophora* sp. نشریه جنگل و فرآورده‌های چوب، ۷۸ (۴)، ۴۳۲-۴۱۹. DOI: <https://10.22059/jfwf.2025.398125.1355>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

<https://doi.org/10.22059/jfwf.2025.398125.1355>



۱. مقدمه

در دنیای امروز، افزایش نگرانی‌های زیست‌محیطی ناشی از آلودگی‌های نفتی و محدودیت منابع فسیلی، منجر به توجه روزافزون به توسعه پایدار و بهره‌گیری از منابع تجدیدپذیر شده است. این تغییر رویکرد، پژوهش‌های زیادی در زمینه شناسایی، استخراج و به‌کارگیری بیوپلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر حاصل از زیست‌توده‌های تجدیدپذیر گیاهی و جانوری به‌دنبال داشته است. این دسته از مواد، با توجه به خواص فیزیکی-شیمیایی مطلوب و ماهیت زیست‌تخریب‌پذیر خود، پتانسیل قابل توجه در ارائه راهکارهای مؤثر جهت کاهش اثرات منفی محیط‌زیستی و تقویت و کارآمدی اقتصاد چرخشی^۱ از خود نشان می‌دهند [۱، ۲]. در میان زیست‌پلیمرهای طبیعی، سلولز با فرمول شیمیایی $(C_6H_{10}O_5)_n$ ، به‌عنوان فراوان‌ترین پلیمر آلی و جزء اصلی دیواره سلولی گیاهان، به‌دلیل قابلیت استحصال آسان از منابع متنوع از جمله، گیاهان، جلبک‌ها، برخی باکتری‌ها و قارچ‌ها و نیز ویژگی‌های منحصر به‌فرد ساختاری خود، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [۳]. این پلی‌ساکارید خطی، از واحدهای D-گلوکوپیرانوز متصل توسط پیوندهای 1,4- β -گلیکوزیدی تشکیل شده است [۴، ۵]. یافته‌های پژوهش‌های انجام شده حاکی از آن است که استفاده از الیاف سلولزی سبب افزایش مقاومت کششی، کاهش نفوذپذیری و افزایش چگالی ماده نهایی می‌شود [۶]. همچنین، سلولز به‌دلیل استحکام، مدول الاستیسیته و سطح ویژه زیاد، نسبت ابعاد مناسب، وزن سبک، هزینه تولید نسبتاً کم و قابلیت بازیافت و تجزیه زیستی، به‌طور گسترده در صنایعی مانند کاغذسازی، بسته‌بندی، داروسازی و تولید کامپوزیت‌های سبز به‌کار می‌رود و تقاضای بازار برای این ماده، به‌طور فزاینده‌ای، رو به افزایش است [۷، ۸، ۹]. در این راستا، انتخاب ماده اولیه سلولز به‌طور قابل توجهی بر عملکرد و هزینه تولید سلولز فیبریل شده تأثیر می‌گذارد [۱۰].

جلبک‌ها، به‌ویژه گونه‌های قهوه‌ای، سبز و قرمز، منابع قابل توجهی از سلولز هستند. دیواره سلولی این موجودات آبی، عمدتاً از انواع مختلف سلولز تشکیل شده است [۱۱، ۱۲]. تحقیقات نشان دادند که سلولز به‌دست آمده از گونه‌های مختلف ماکرو-جلبک‌ها، شباهت‌های زیادی به سلولز پنبه دارد. این شباهت‌ها براساس سه ویژگی مختلف شناسایی شده است:

- تولید D- گلوکز از طریق هیدرولیز
 - اثبات وجود پیوند 1,4- β از طریق تهیه سلوبیوز اکتااستات
 - مقایسه تشابه بین پیک‌های پراش پرتو ایکس XRD^۲ سلولز جلبکی و سلولز پنبه [۱، ۱۳].
- زیست‌توده جلبک‌های دریایی، با توجه به ویژگی‌های منحصر به‌فرد خود، در مقایسه با گیاهان خشکی، به‌عنوان یک منبع تجدیدپذیر و کارآمد در تولید سلولز و نانوسلولز، از جایگاه رو به‌رشدی در تحقیقات علمی و توسعه فناوری برخوردار شده است. مزایای استفاده زیست‌توده دریایی در مقابل زیست‌توده لیگنوسلولزی در تولید زیست‌پلیمرها عبارتند از:
- کمتر بودن موانع فیزیکی-شیمیایی ذاتی: ساختار زیست‌توده جلبکی فاقد لایه‌های محافظتی پیچیده نظیر لیگنین است، از این‌رو، برخلاف منابع لیگنوسلولزی، نیازی به پیش‌تیمارهای شیمیایی تهاجمی جهت افزایش دسترسی به سلولز وجود ندارد.
 - بازده زیاد کربوهیدرات ذخیره شده و شرایط رشد بهینه: جلبک‌های دریایی دارای پتانسیل زیادی در تجمع کربوهیدرات‌های ذخیره شده بوده و قادرند با بهره‌گیری کارآمد از دی‌اکسید کربن، نور خورشید و مواد مغذی معدنی فراوان، در شرایط رشد نسبتاً ساده تکثیر یابند.

- نرخ رشد سریع و پتانسیل زیاد تأمین مواد اولیه: سرعت رشد بالای جلبک‌های دریایی امکان برداشت زیست‌توده را در بازه‌های زمانی کوتاه‌تر در مقایسه با گیاهان خشکی فراهم می‌سازد که این امر ظرفیت پاسخگویی به تقاضای رو به افزایش مواد اولیه برای تولید نانوسلولز را به‌نحو مطلوبی ارتقا می‌بخشد [۸، ۱۴، ۱۵].

جلبک کلادوفورا (*Cladophora sp.*)، مورد استفاده در این پژوهش، با بیش از ۱۸۳ گونه تأیید شده از نظر آرایه‌شناسی^۳ در گروه جلبک‌های سبز ماکروسکوپی قرار دارد. اغلب گونه‌های جلبک سبز کلادوفورا، دارای پراکنش جهانی هستند و در هر دو ناحیه معتدل و گرمسیری یافت می‌شوند [۴، ۱۶]. اگرچه جلبک سبز کلادوفورا به‌عنوان گونه‌ای مزاحم با ارزش اقتصادی ظاهراً کم شناخته

^۱Circular economy^۲X-Ray Diffraction^۳Taxonomy

می‌شود، اما به دلیل مقدار زیاد سلولز، پتانسیل قابل توجهی به عنوان منبع جایگزین سلولز در صنایع مختلف دارد [۱۷، ۱۸]. تجزیه و تحلیل مقدار سلولز در چندین گونه جلبک کلادوفورا نشان داده است که این مقدار بین ۵ تا ۳۴ درصد وزن خشک متغیر است. با این حال، استخراج سلولز تا ۴۵ درصد وزن خشک از باقیمانده زیست توده جلبک دریایی نیز امکان پذیر است که قابل مقایسه با مقدار سلولز گیاهان زمینی است. این یافته‌ها نشان می‌دهند که زیست توده جلبک کلادوفورا می‌تواند در تولید صنعتی سلولز مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر مزیت اقتصادی، استخراج الیاف سلولزی از منابع جلبکی کلادوفورا می‌تواند به عنوان روشی برای احیای محیط زیست در نظر گرفته شود. استفاده از زیست توده جلبکی برای استخراج الیاف سلولزی، به کاهش آسیب ناشی از رشد بیش از حد و نامطلوب این جلبک‌ها به بوم‌شناسی دریایی کمک می‌کند [۴، ۱۹].

تاکنون تحقیقات محدودی در مورد جداسازی و استخراج سلولز و نانوسلولز کریستالی از زیست توده جلبکی انجام شده است. Bogolitsyn و همکاران (۲۰۲۵) به بررسی جنبه‌های فیزیکوشیمیایی تهیه هیدروژل از سلولز نوعی جلبک قهوه‌ای پرداختند. هدف این پژوهش، ارزیابی ظرفیت هیدراسیون سلولز و نانوسلولز جلبکی در فرآیند تشکیل هیدروژل بود. برای این منظور از روش‌های طیف‌سنجی ¹FTIR، کالریمتری و رزونانس مغناطیسی هسته‌ای ²NMR به منظور بررسی برهم‌کنش سلولز و نانوسلولز جلبکی با آب استفاده شد. نتایج نشان داد که نانوسلولز، به دلیل ساختار متخلخل و توسعه یافته خود، توانایی نگهداری آب آزاد بیشتری دارد. همچنین تعامل بین سلولز و آب ماهیتی گرمازا داشته و در حدود ۷/۲ تا ۲۹/۲ ژول بر گرم وزن خشک حرارت آزاد می‌کند. ظرفیت بالای نگهداری رطوبت (حدود ۳۷ گرم بر گرم) همراه با اندازه کوچک نانوکریستال‌ها، تشکیل هیدروژلی پایدار و همگن از نانوسلولز جلبکی را تسهیل می‌کند که پایداری خود را در طول زمان نیز حفظ می‌نماید. هیدروژل به دست آمده، کاربردهای بالقوه‌ای در حوزه‌های زیست پزشکی از جمله پانسمان زخم، فیلم‌های ضد چسبندگی و ژل‌های جراحی دارد [۲۰].

Jmel و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی به استخراج موفقیت آمیز سلولز از ماکرو جلبک سبز (*Ulva lactuca*)، که با رشد بیش از حد خود سبب اختلالات محیط زیستی متعددی می‌شود، پرداختند. خلوص سلولز استخراج شده، با استفاده از هیدرولیز اسید و کروماتوگرافی تبادل آنیون با کارایی بالا HPAEC-PAD- که عمدتاً گلوکز را نشان داده و همچنین با آنالیز طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز FTIR- که گروه‌های عاملی مشابه با سلولز تجاری را آشکار ساخت و عدم وجود استرهای اورونیک از ناخالصی‌های همی سلولزی را تأیید کرد، مورد بررسی قرار گرفت. شاخص بلورینگی^۳ سلولز استخراج شده ۵۹ درصد بود که در مقایسه با سلولز تجاری با شاخص بلورینگی ۸۲ درصد، نشان دهنده طبیعت نیمه بلورین سلولز به دست آمده می‌باشد. رفتار حرارتی هر دو سلولز مشابه بود و طبق آنالیز گرماسنجی TGA^۴، هر دو یک پیک تخریب در دمای ۳۶۰ درجه سانتی گراد را نشان دادند. علاوه بر خصوصیات فیزیکی-شیمیایی، سلولز جلبکی چندین ویژگی رئولوژیکی جالب توجه را نیز از جمله، سطح ویژه زیاد (۵/۷۴ متر مربع بر گرم ماده خشک) و در نتیجه ظرفیت نگهداری آب بیشتر (۴۳/۰۷ گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک) از خود نشان داد. این نتایج به وضوح نشان می‌دهند که جلبک *Ulva lactuca* می‌تواند به عنوان یک منبع جایگزین با ارزش و پایدار برای سلولز در مقایسه با منابع متداول مانند چوب، مورد توجه قرار گیرد [۲۱].

Asadi و همکاران (۲۰۱۶) در پژوهشی با هدف ارزیابی پتانسیل نانوسلولز استخراج شده از ماکرو جلبک سبز (*Cladophora*)، به عنوان تقویت کننده و پرکننده در خمیر کاغذ CMP^۵ به استخراج و بررسی خواص این ماده پرداختند. در این راستا، سلولز خالص از جلبک کلادوفورا با استفاده از فرآیندهای قلیایی و رنگ بری متوالی استخراج و سپس با روش فراصوت به نانوسلولز تبدیل شد. نانوسلولز حاصل در نسبت‌های ۲، ۵ و ۸ درصد با خمیر CMP حاصل از چوب پهن برگان مخلوط و کاغذ دست ساز تهیه شد. ویژگی‌های مقاومتی کاغذهای تولید شده با خمیر کاغذ CMP خالص به عنوان شاهد مقایسه شد. نتایج این پژوهش نشان داد که درصد آلفا سلولز خمیر استخراج شده از جلبک کلادوفورا ۹۴ درصد بوده و بررسی‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM^۶

¹ Fourier Transform Infrared Spectroscopy

² Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

³ Crystallinity Index

⁴ Thermogravimetric Analysis

⁵ Chemico- Mechanical Pulp

⁶ Scanning Electron Microscope

نشان داد که، اندازه ذرات نانوسلولز حداقل در یک بعد در محدوده نانو قرار دارد. همچنین، تیمار اختلاط با ۸ درصد نانوسلولز، بیشترین مقادیر دانسیته، مقاومت به کشش، مقاومت به ترکیدن، مقاومت به عبور هوا و ماتی را در مقایسه با سایر تیمارها و تیمار شاهد نشان داد. در مقابل، تیمار شاهد بیشترین مقادیر مقاومت به پاره شدن، زبری سطح، درجه روشنی و زردی را نشان داد. در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن نانوسلولز استخراج شده از جلبک کلادوفورا به خمیر کاغذ CMP، به ویژه با نسبت مصرف ۸ درصد، می تواند به بهبود قابل توجه برخی از ویژگی های مقاومتی کاغذ تولید شده منجر شود [۲۲].

این مطالعه با هدف مشخصه یابی کمی و کیفی سلولز استخراج شده از ماکروجلبک سبز کلادوفورا با استفاده از یک فرآیند شیمیایی-مکانیکی چندمرحله ای و همچنین ارزیابی پتانسیل این گونه جلبکی به عنوان منبعی پایدار و با خلوص بالا برای تولید سلولز، جهت کاربرد در صنایع پیشرفته بیومواد و نانوکامپوزیت ها انجام شده است.

۲. روش شناسی پژوهش

۲-۱. مواد

زیست توده جلبک سبز کلادوفورا از ساحل دریای بابل در اواخر فصل بهار جمع آوری شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش، شامل متانول (CH_3OH)، هیدروکسید سدیم (NaOH)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و هیپوکلریت سدیم (NaClO) از شرکت البرز سلامت تهیه شدند.

۲-۲. روش ها

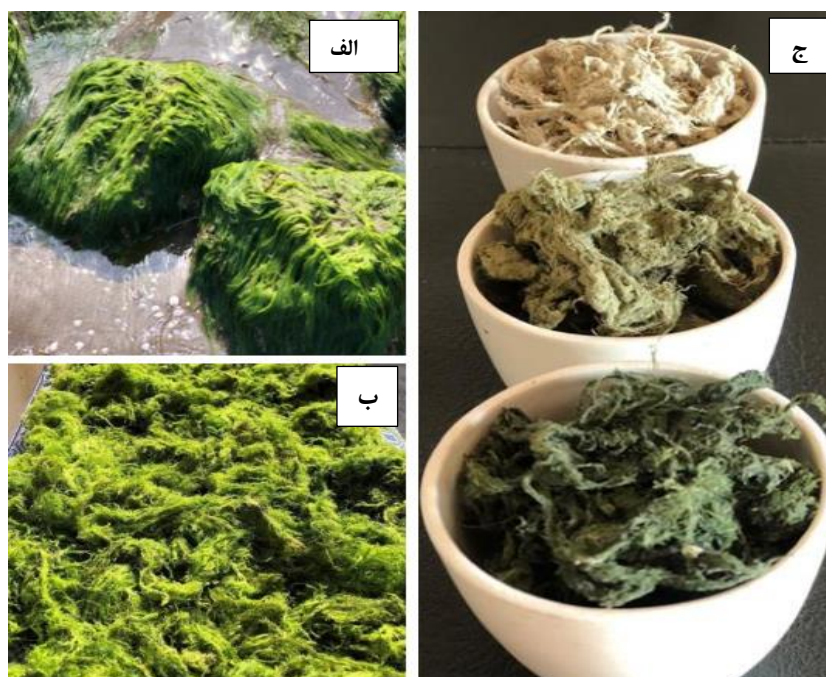
۲-۲-۱. جزء جزء سازی

جلبک های برداشت شده، ابتدا با آب معمولی و سپس آب مقطر شستشو داده شدند تا آلاینده ها حذف شوند. پس از خشک شدن جلبک ها در دمای محیط 2 ± 25 درجه سانتی گراد (به مدت هفت روز)، زیست توده جلبک با استفاده از آسیاب صنعتی به پودر ریز تبدیل شد و تا زمان استفاده در کیسه های پلاستیکی در دمای اتاق نگهداری شد. این کاهش اندازه ذرات، یکنواختی ریخت شناسی را بهبود بخشیده و سطح تماس برای واکنش های شیمیایی را افزایش می دهد. سپس، پودر جلبک با متانول (CH_3OH)، در دمای محیط 2 ± 25 درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت پیش تیمار شد تا ترکیبات لیپیدی حذف شوند. فاز جامد پس از جداسازی، شستشو و خشک شد. جلبک چربی زدایی شده (شکل ۱)، با محلول هیدروکسید سدیم (NaOH)، با غلظت ۲۰ درصد (وزنی/حجمی) در یک هضم کننده تحت شرایط کنترل شده دما (175 درجه سانتی گراد) و زمان (120 دقیقه) تیمار شد. این مرحله با هدف حذف همی سلولزها و لیگنین انجام گرفت. پس از واکنش، زیست توده با الک ۲۰۰ شستشو داده شد تا پساب شفاف با pH خنثی حاصل شود. جزء جامد باقیمانده (سلولز جلبکی) خشک و آسیاب شد. برای حذف رنگدانه ها و تولید سلولز سفید، یک فرآیند رنگ بری دو مرحله ای متوالی (جزئیات در جدول ۲) به کار گرفته شد. ابتدا، نمونه ها با پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، با غلظت ۳۰ درصد (وزنی/وزنی نسبت به وزن خشک جلبک) و هیدروکسید سدیم (NaOH) با غلظت ۶ درصد (وزنی/وزنی نسبت به وزن خشک جلبک) در دمای 70 درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ دقیقه تیمار شدند. سپس، رنگ بری نهایی با هیپوکلریت سدیم (NaClO) با غلظت ۱۰ درصد (وزنی/وزنی نسبت به وزن خشک جلبک) در دمای 50 درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد تا در نهایت، خمیر کاغذ سفید رنگ به دست آید (جدول ۱).

۲-۲-۲. مشخصه یابی زیست توده خام و سلولز جلبکی

۲-۲-۲-۱. شناسایی کمی

ترکیب شیمیایی الیاف جلبک کلادوفورا قبل و بعد از هر مرحله از فرآیند خالص سازی مورد بررسی قرار گرفت. بازده کل فرآیند، با اندازه گیری وزن خشک جلبک پس از هر تیمار و تقسیم آن بر وزن اولیه جلبک خشک مطابق معادله ۱ محاسبه شد [۲۳].



شکل ۱. (الف) زیست‌توده جلبک کلادوفورا، (ب) جلبک شسته و هوا خشک شده، (ج) تیمار قلیایی و تیمار دو مرحله‌ای رنگبری جلبک

جدول ۱. متغیرهای عملیاتی فرآیندهای جزء جزء سازی قلیایی و رنگبری زیست‌توده جلبکی

مرحله	هدف اصلی	ماده شیمیایی اصلی	غلظت ماده	ماده شیمیایی کمکی	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان (دقیقه)	نتیجه مورد انتظار
جزء جزء سازی قلیایی	حذف همی سلولزها، لیگنین و سایر ترکیبات غیر سلولزی	هیدروکسید سدیم (NaOH)	۲۰ درصد (وزنی/حجمی)	-	۱۷۵	۱۲۰	جداسازی ترکیبات غیر سلولزی، تورم سلولز
مرحله اول رنگبری	حذف اولیه رنگدانه‌ها، باز کردن ساختار سلولزی	پراکسید هیدروژن (H_2O_2)	۳۰ درصد وزنی	هیدروکسید سدیم (NaOH)	۷۰	۶۰	کاهش رنگدانه‌ها، تورم سلولز
مرحله دوم رنگبری	حذف بقایای رنگی، دستیابی به سفیدی مطلوب	هیپوکلریت سدیم (NaClO)	۱۰ درصد وزنی	-	۵۰	۶۰	سلولز رنگ‌بری شده

$$\text{معادله ۱} \quad ۱۰۰ \times \frac{\text{وزن جلبک خشک پس از تیمار (گرم)}}{\text{وزن جلبک اولیه (گرم)}} = \text{درصد بازده کل}$$

درصد آلفا سلولز در نمونه‌های جلبک، از طریق تیمار آن با محلول ۱۷/۵ درصد (NaOH) و انحلال پذیری افتراقی پلی ساکاریدها بر طبق استاندارد (ASTM D۱۱۰۳-۵۵) انجام شد [۸]. در نهایت درصد آلفا سلولز طبق معادله ۲ محاسبه شد:

$$\text{معادله ۲} \quad \text{درصد آلفا سلولز} = ۱۰۰ \times \frac{\text{وزن جامد باقی مانده خشک (گرم)}}{\text{وزن اولیه نمونه خشک (گرم)}}$$

ویسکوزیته ذاتی^۱ سلولز جلبک کلادوفورا با اندازه‌گیری زمان جریان محلول‌های سلولز در محلول کمپلکس اتیلن دی‌آمین

^۱Intrinsic Viscosity

(CED) در دمای محیط 2 ± 25 درجه سانتیگراد و براساس استاندارد (TAPPI T230.0m -99) تعیین شد [۲۴]. درجه پلیمریزاسیون (DP) سلولز جلبک کلادوفورا، با استفاده از روش ویسکومتری و با انحلال سلولز در محلول کمپلکس مس اتیلن دی آمین (CED) و مطابق با استاندارد (TAPPI T230.0m -99) تعیین شد [۲۴]. برای ارزیابی درجه پلیمریزاسیون سلولز، از معادله ۳ که به نام معادله مارک-هاوینک^۱ شناخته می‌شود، استفاده شد.

$$[\eta] = KMv^a \quad \text{معادله ۳}$$

که در آن:

$[\eta]$: ویسکوزیته ذاتی محلول پلیمر (معمولاً برحسب میلی‌لیتر بر گرم یا دسی‌لیتر بر گرم).

Mv: وزن مولکولی میانگین ویسکوزیته‌ای^۲ پلیمر (سلولز)، (بر حسب گرم بر مول).

K و a: ثابت‌های مارک-هاوینک هستند که به نوع پلیمر، نوع حلال و دمای اندازه‌گیری بستگی دارند.

۲-۲-۲-۲. شناسایی کیفی

طیف‌های آنالیز طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوری (FTIR)، در محدوده عدد موجی ۴۰۰-۴۰۰۰ (سانتی‌متر معکوس) با وضوح ۴ (سانتی‌متر معکوس) و تعداد ۳۲ اسکن برای بهبود نسبت سیگنال به نویز ثبت شد. نمونه‌ها آسیاب و با KBr مخلوط شده و سپس قبل از آنالیز به صورت بسیار نازک به شکل قرص فشرده شدند.

۳. یافته‌های پژوهش و بحث

۳-۱. آنالیز کمی زیست‌توده خام و سلولز جلبکی

ترکیب شیمیایی زیست‌توده جلبکی خام و سلولز جلبکی در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج به وضوح نشان‌دهنده اثربخشی فرآیند خالص‌سازی چندمرحله‌ای (چربی‌زدایی، تیمار قلیایی و دو مرحله رنگ‌بری) در حذف ترکیبات غیرسلولزی از زیست‌توده جلبک کلادوفورا و دستیابی به سلولزی با خلوص بالا است. زیست‌توده خام جلبک، با مقدار پروتئین قابل توجه (۲۱/۴۸ درصد) و خاکستر (۲۰/۸ درصد)، نشان‌دهنده وجود ترکیبات غیرسلولزی فراوان در ماتریس اولیه است. مرحله تیمار قلیایی با NaOH، به عنوان مرحله نخست در حذف ناخالصی‌ها، منجر به کاهش ۳۹ درصدی پروتئین (به ۱۳/۱۱ درصد) و افت بازده کل به ۸۱/۲ درصد شد که حاکی از حذف مؤثر همی‌سلولزها، لیگنین و بخشی از پروتئین‌هاست [۲۵، ۸]. در این مرحله، مقدار خاکستر نیز از ۲۰/۸ درصد جلبک خام به ۱۶/۳ درصد کاهش یافت که نشان‌دهنده کاهش تقریباً ۲۱/۶ درصد در مقدار خاکستر می‌باشد. این کاهش قابل توجه، کارایی فرآیند را در حذف ترکیبات معدنی و ناخالصی‌های غیرسلولزی از زیست‌توده جلبکی تأیید می‌کند. حذف ناخالصی‌های معدنی از اهمیت زیادی برخوردار است، زیرا وجود آن‌ها می‌تواند خواص فیزیکی و شیمیایی محصول نهایی، به‌ویژه در کاربردهای نیازمند سلولز با خلوص بالا را به شدت تحت تأثیر قرار دهد. سازوکار اصلی این کاهش طی تیمارهای قلیایی، به انحلال و حذف نمک‌های معدنی محلول در فاز قلیایی و شستشوی متعاقب آن‌ها در مراحل خالص‌سازی نسبت داده می‌شود. این نتایج بر ضرورت و اثربخشی مراحل رنگ‌بری و شستشوی دقیق در فرآیندهای استخراج و خالص‌سازی پلی‌ساکاریدها از منابع زیستی تأکید می‌کند [۲۵]. متعاقباً، مرحله اول رنگ‌بری با مخلوط NaOH / H₂O₂، با هدف حذف رنگدانه‌ها و پروتئین‌های باقیمانده، موجب کاهش قابل ملاحظه پروتئین به ۱/۹ درصد و خاکستر به ۳/۲ درصد شد، که نشان‌دهنده کارایی بالای این سیستم اکسایشی-قلیایی در تجزیه ترکیبات آلی و معدنی است [۸]. در این مرحله، مقدار آلفاسلولز به ۶۱ درصد و درجه پلیمریزاسیون به ۲۵۰۰ واحد رسید که بیانگر حفظ یکپارچگی سلولز در کنار افزایش خلوص اولیه است. در نهایت، مرحله دوم رنگ‌بری با NaClO به بالاترین میزان خلوص سلولز منجر شد. در این مرحله، مقدار پروتئین به حداقل ۰/۷ درصد و خاکستر به ۰/۵۱ درصد کاهش یافت که بیانگر کارایی فوق‌العاده هیپوکلریت سدیم در حذف بقایای پروتئین‌ها و مواد معدنی است [۲۶] و به

¹ Mark-Houwink Equation

² Viscosity-average Molecular Weight

سلولزی با خلوص قابل ملاحظه می‌انجامد. افزایش آلفاسلولز به ۹۱/۶ درصد پس از این مرحله، تأییدکننده موفقیت‌آمیز بودن فرآیند خالص‌سازی برای تولید سلولز با خلوص بالا است. با این حال، باید توجه داشت که این مرحله با کاهش قابل ملاحظه در درجه پلیمریزاسیون (از ۲۵۰۰ به ۱۲۹۰) همراه بود [۲۵]. این کاهش DP (حدود ۴۸/۵ درصد) نشان‌دهنده تجزیه‌بخشی از زنجیره‌های سلولزی در اثر خواص اکسندگی NaClO است. در حالی که این پدیده ممکن است در برخی کاربردها نامطلوب باشد، می‌تواند فرآیندهای مکانیکی بعدی برای تولید نانوسلولز (مانند نانوفیبریل‌اسیون) را تسهیل نماید. بازده کل نهایی ۶۹/۹ درصد، نشان‌دهنده کارایی کلی فرآیند در جداسازی سلولز با خلوص بالا از زیست‌توده جلبک کلادوفورا است که این ماده را به منبعی امیدوارکننده برای تولید مواد زیستی با ارزش افزوده تبدیل می‌کند. در مجموع، داده‌های جدول ۲، که براساس جرم خشک اولیه زیست‌توده و به‌صورت تجمعی محاسبه شده‌اند، یک دید جامع از تغییرات ترکیب شیمیایی جلبک در طول فرآیند خالص‌سازی ارائه می‌دهند و اثربخشی رویکرد متوالی را در تولید سلولز با خلوص بالا از زیست‌توده جلبک کلادوفورا برجسته می‌کنند. این اطلاعات پایه قوی برای بحث در مورد کیفیت سلولز تولید شده و پتانسیل آن برای کاربردهای مختلف، به‌ویژه تولید نانوسلولز، فراهم می‌آورد.

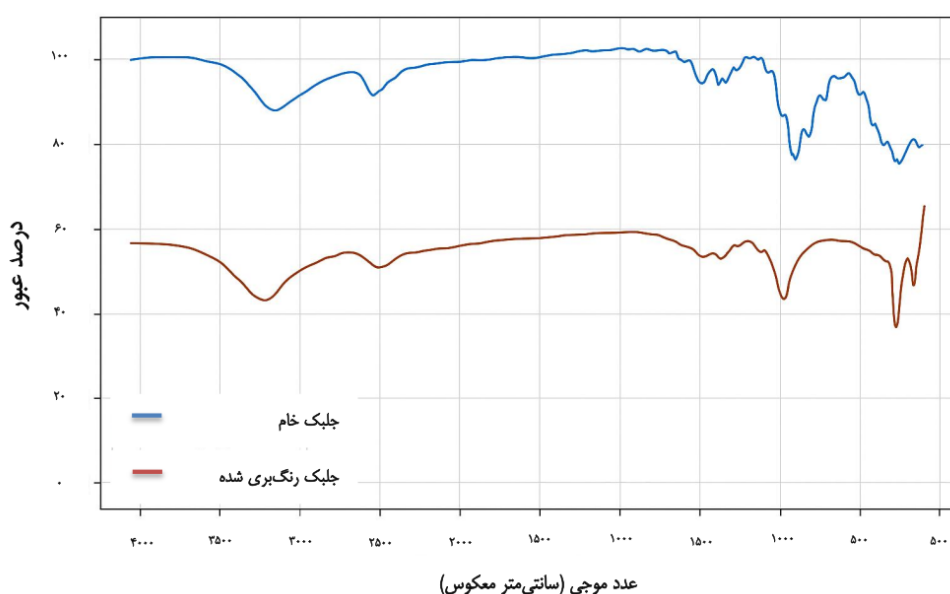
جدول ۲. آنالیز تجمعی ترکیب شیمیایی زیست‌توده جلبک کلادوفورا در مراحل مختلف استخراج سلولز (بر حسب درصد نسبت به ماده اولیه)

چربی	پروتئین	خاکستر	بازده کل درصد	درجه پلیمریزاسیون	آلفا سلولز درصد
۰/۲	۲۱/۴۸	۲۰/۸	۱۰۰	—	—
۰	۱۰/۶۴	۱۳/۲۴	۸۱/۲	—	—
۰	۱/۳۹	۲/۳۵	۷۳/۳	۲۵۰۰	۶۱
۰	۰/۴۹	۰/۳۶	۶۹/۹	۱۲۹۰	۹۱/۶

ویسکوزیته ذاتی سلولز جلبک رنگ‌بری شده، معادل ۷۶۲/۸ میلی‌لیتر بر گرم اندازه‌گیری شد که نشان‌دهنده وزن مولکولی نسبتاً زیاد و طول زنجیره پلیمری قابل توجه این سلولز در محلول کمپلکس مس اتیلن دی آمین (CED) است [۲۴].

۲-۳. آنالیز کیفی زیست‌توده خام و سلولز جلبکی

شکل ۲، آنالیز طیف‌سنجی FTIR برای الیاف خام جلبک و الیاف رنگ‌بری شده جلبک کلادوفورا را نشان می‌دهد.



شکل ۲. مقایسه طیف‌های FTIR جلبک خام و جلبک رنگ‌بری شده کلادوفورا

مقایسه طیف‌های FTIR جلبک خام و جلبک رنگ‌بری شده کلاذوفورا، تغییرات مشخص و چشمگیری را در گروه‌های عاملی شیمیایی نشان می‌دهد که مؤید موفقیت‌آمیز بودن فرآیندهای جداسازی و خالص‌سازی سلولز است. این تغییرات به تفکیک نواحی طیفی مورد بحث قرار می‌گیرند. در طیف FTIR الیاف جلبک خام، پیک پهن و قوی مشاهده شده در حدود $3410/64$ (سانتی‌متر معکوس) به ارتعاش کششی پیوندهای O-H در گروه‌های هیدروکسیل (OH-) نسبت داده می‌شود که با گروه‌های قطبی از طریق پیوندهای هیدروژنی درون و بین مولکولی مرتبط هستند [۵، ۲۷، ۲۸، ۲۹]. این پیک نشان‌دهنده حضور ترکیبات حاوی گروه‌های هیدروکسیل فراوان مانند پلی‌ساکاریدها (سلولز، همی‌سلولزها، آگاروز و کاراگینان در جلبک‌ها)، آب جذب شده (رطوبت باقی‌مانده)، پروتئین‌ها (گروه‌های هیدروکسیل سرین و ترئونین) و لیپیدها (گروه‌های هیدروکسیل در گلیسرول و اسیدهای چرب) در ساختار جلبک کلاذوفورا است. دامنه وسیع و پهنای این پیک نیز می‌تواند ناشی از تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین مولکول‌های مختلف در ساختار جلبک باشد [۲۹]. در طیف جلبک رنگ‌بری شده، یک پیک قوی‌تر، باریک‌تر و تیزتر در حدود $3337/21$ (سانتی‌متر معکوس) مشاهده می‌شود. این پیک به‌طور قابل توجهی نسبت به جلبک خام، به سمت عدد موجی پایین‌تر انتقال یافته است. این انتقال به عدد موجی پایین‌تر و باریک شدن پیک، بیانگر افزایش نظم در شبکه پیوندهای هیدروژنی درون و بین مولکولی است [۳۰]. در سلولز خالص و با بلورینگی بالا، گروه‌های هیدروکسیل به‌صورت منظم‌تری سازماندهی شده‌اند و پیوندهای هیدروژنی قوی‌تر و یکنواخت‌تری را تشکیل می‌دهند که منجر به جذب در اعداد موجی پایین‌تر می‌شود. حذف ترکیبات آمورف مانند همی‌سلولزها و پروتئین‌ها، که پیوندهای هیدروژنی نامنظمی ایجاد می‌کنند، به این افزایش نظم کمک شایانی می‌نماید. همچنین، حذف آب آزاد و باقیمانده، باعث می‌شود که پیک مشاهده شده عمدتاً منعکس‌کننده گروه‌های OH- در ساختار منظم سلولز باشد. پیک بعدی مشاهده شده در جلبک خام، در حدود $2925/10$ (سانتی‌متر معکوس)، مربوط به ارتعاش کششی پیوندهای C-H در گروه‌های متیل ($-CH_3$) و متیلن ($-CH_2$) است [۳۰، ۳۱، ۳۲]. این گروه‌ها در لیپیدها، پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها حضور دارند [۲۹، ۳۳]. وجود این پیک نشان‌دهنده مقدار قابل توجهی از ترکیبات آلیفاتیک در جلبک کلاذوفورا است که عمدتاً شامل اسیدهای چرب موجود در غشاهای سلولی و ذخایر لیپیدی می‌شود. در طیف جلبک رنگ‌بری شده، شدت این پیک به‌طور قابل توجهی کاهش یافته و موقعیت آن کمی به حدود $2917/77$ (سانتی‌متر معکوس) جابجا شده است. کاهش چشمگیر شدت این پیک، بیانگر حذف موفقیت‌آمیز ترکیبات لیپیدی (در مرحله چربی‌زدایی با متانول) و همچنین حذف بخش قابل توجهی از همی‌سلولزها و پروتئین‌ها است. این ترکیبات همگی دارای گروه‌های متیل و متیلن فراوانی هستند. پیک باقیمانده عمدتاً به گروه‌های ($-CH_2$) و ($-CH$) موجود در حلقه‌های گلوکز تشکیل‌دهنده ساختار سلولز خالص مربوط می‌شود. در جلبک خام، پیک FTIR نسبتاً قوی در حدود $1648/24$ (سانتی‌متر معکوس)، می‌تواند به ارتعاش کششی $C=O$ در گروه‌های کربونیل مانند اسیدهای کربوکسیلیک (گروه‌های کربوکسیل آزاد یا پروتونه شده)، استرها (به‌ویژه استرهای اسیدهای چرب یا تری‌گلیسیریدها و فسفولیپیدها)، کتون‌ها (به مقدار کم) و آمیدها (ارتعاش کششی $O=C$ در پیوند پپتیدی CO-NH) پروتئین‌ها نسبت داده شود [۲۹، ۳۲]. این پیک همچنین می‌تواند ناشی از خمش پیوندهای O-H در مولکول‌های آب جذب شده باشد که با پیک‌های دیگر همپوشانی داشته و به پهنای آن کمک کند [۸، ۳۰، ۳۳]. همچنین پیک مشاهده شده در $1541/78$ (سانتی‌متر معکوس) نشان‌دهنده حضور پروتئین‌ها در جلبک کلاذوفورا است. این پیک معمولاً به ارتعاشات خمشی N-H و کششی C-N در گروه آمید II ($-CONH-$) نسبت داده می‌شود. حضور همزمان این پیک همراه با پیک $1648/24$ (سانتی‌متر معکوس)، (آمید I) نشان‌دهنده وجود پروتئین‌ها به‌عنوان یک جزء اصلی در ترکیب بیوشیمیایی جلبک کلاذوفورا است [۲۹، ۳۳، ۳۴]. همان‌طور که در طیف FTIR جلبک رنگ‌بری شده مشاهده می‌شود، پیک در حدود $1644/98$ (سانتی‌متر معکوس) به‌شدت کاهش یافته یا تقریباً از بین رفته است و همچنین پیک (Amide II)، $1541/78$ (سانتی‌متر معکوس) کاملاً حذف شده است. حذف کامل پیک (Amide II)، $1541/78$ (سانتی‌متر معکوس)، مهم‌ترین و قوی‌ترین نشانه حذف تقریباً کامل پروتئین‌ها از زیست‌توده جلبک است. فرآیندهای قلیایی‌سازی و رنگ‌بری، منجر به تجزیه پروتئین‌ها و در نتیجه، حذف آن‌ها از ماتریس سلولزی می‌شوند. همچنین کاهش چشمگیر پیک در حدود $1644/98$ (سانتی‌متر معکوس)، حذف مؤثر پروتئین‌ها (Amide I)، لیپیدها (گروه‌های استری) و هرگونه همی‌سلولز حاوی گروه‌های استیل استری شده را تأیید می‌کند. وجود باقی‌مانده‌های بسیار کم این پیک ممکن است به مقادیر ناچیزی از آب جذب شده یا گروه‌های کربونیل بسیار کم در ساختار سلولز

اکسید شده (ناشی از فرآیند رنگ‌بری) مربوط باشد [۵].

در طیف FTIR مربوط به جلبک خام، پیک در حدود $1437/86$ (سانتی‌متر معکوس)، معمولاً به ارتعاش خمشی متقارن پیوندهای C-H در گروه‌های متیل و متیلن مرتبط است. همچنین، ارتعاشات کششی C-C در پلی‌ساکاریدها یا ارتعاشات خمشی O-H در کربوهیدرات‌ها نیز می‌توانند در این ناحیه مشارکت داشته باشند. این پیک همچنین می‌تواند به گروه کربوکسیلات (-COO) نیز نسبت داده شود، که نشان‌دهنده حضور اسیدهای آلی یا ترکیبات پکتینی در دیواره سلولی جلبک است [۳۳، ۳۵، ۳۶]. پیک در حدود $1221/74$ (سانتی‌متر معکوس) ممکن است به ارتعاشات کششی C-O در پلی‌ساکاریدها (مانند سلولز، همی‌سلولزها و دیگر کربوهیدرات‌ها)، ارتعاشات P=O در فسفات‌ها (فسفولیپیدها، DNA/RNA) یا ارتعاشات کششی C-O در لیپیدها (استرها) مربوط شود. در جلبک‌ها، وجود فسفولیپیدها در غشاهای سلولی و گروه‌های فسفات در نوکلئیک اسیدها متداول است [۲۹، ۳۳]. پیک قوی در محدوده $1065/49$ (سانتی‌متر معکوس) عمدتاً به ارتعاش کششی پیوندهای C-O و C-O-C در گروه‌های قند و پلی‌ساکاریدها، به‌ویژه سلولز، نسبت داده می‌شود و نشان‌دهنده فراوانی کربوهیدرات‌ها به‌عنوان جزء ساختاری اصلی دیواره سلولی این جلبک است. کلادوفورا به دلیل داشتن دیواره سلولی حاوی سلولز (معمولاً سلولز I و IV)، پیک‌های مشخصی در این ناحیه از خود نشان می‌دهد. ارتعاشات پیوندهای گلیکوزیدی و ساختار حلقوی پیرانوز نیز در این محدوده جذب دارند [۳۷، ۳۸، ۳۹]. در نمونه جلبک رنگ‌بری شده، پیک در حدود $1426/1$ (سانتی‌متر معکوس) به‌صورت باریک‌تر و واضح‌تر مشاهده می‌شود که می‌تواند ناشی از ارتعاش خمشی گروه‌های $-CH_2$ در سلولز باشد، هرچند در برخی مطالعات، این ناحیه با ارتعاشات اسکلت آروماتیک لیگنین نیز هم‌پوشانی دارد. ظهور یا تقویت پیک در حدود $1331/52$ (سانتی‌متر معکوس)، (ارتعاشات خمشی CH سلولز) نیز به‌طور خاص با ساختار سلولزی مرتبط است [۳۳]. پیک در حدود $1160/94$ (سانتی‌متر معکوس)، (ارتعاشات کششی نامتقارن C-O-C در پیوندهای β -1,4-گلیکوزیدی در سلولز) به‌وضوح قوی‌تر و مشخص‌تر شده است. این پیک از نشانگرهای کلیدی حضور سلولز خالص است [۴۰]. پیک در حدود $1108/87$ (سانتی‌متر معکوس)، (ارتعاشات کششی C-OH و C-C در سلولز)، نیز تقویت شده است. همچنین پیک غالب، قوی و بسیار باریک در حدود $1030/77$ (سانتی‌متر معکوس) مشخص شده است که این پیک مشخصه اصلی ارتعاشات کششی C-O و C-O-C در ساختار حلقه پیرانوز و پیوندهای گلیکوزیدی سلولز است. این پیک نسبت به جلبک خام بسیار باریک‌تر شده و به‌سمت عدد موجی پایین‌تر جابجا شده است [۲۹، ۳۳]. شانه یا پیک جداگانه $1065/49$ (سانتی‌متر معکوس) که در جلبک خام وجود داشت، در طیف رنگ‌بری شده به‌حداقل رسیده یا کاملاً در پیک غالب $1030/77$ (سانتی‌متر معکوس) ادغام شده است. باریک شدن و انتقال پیک اصلی کربوهیدراتی از $1065/49$ (سانتی‌متر معکوس) به $1030/77$ (سانتی‌متر معکوس)، به‌وضوح نشان‌دهنده حذف موفقیت‌آمیز همی‌سلولزها توسط تیمار قلیایی است. همی‌سلولزها ساختارهای متنوعی دارند که جذب وسیع‌تری در این ناحیه ایجاد می‌کنند. تقویت چشمگیر و افزایش وضوح پیک‌های مشخصه سلولز در حدودهای 1426 ، 1331 ، 1160 و به‌ویژه 1030 (سانتی‌متر معکوس)، مهم‌ترین دلیل بر موفقیت فرآیندهای انجام شده، در خالص‌سازی و غنی‌سازی سلولز است. این تغییرات، بازآرایی ساختار سلولزی به‌سمت فرم بلورین‌تر را نشان می‌دهند [۵، ۳۷، ۴۰]. همچنین پیک‌ها در حدود $796/45$ و $874/34$ (سانتی‌متر معکوس) مربوط به طیف FTIR جلبک خام، در ناحیه قندها و به‌ویژه پلی‌ساکاریدها قرار می‌گیرند. در جلبک‌ها، این پیک‌ها می‌توانند به ساختارهای حلقوی قند، ارتعاشات C-O-C در پیوندهای گلیکوزیدی و حضور گروه‌های سولفات یا هالید در پلی‌ساکاریدهای سولفات (مانند کاراگینان یا آگاروز در جلبک‌های خاص) و به‌حضور D-گالاکتوز-۴-سولفات کاراگینان در فیبر نسبت داده شوند [۳۷، ۴۱، ۴۲]. برای کلادوفورا که یک جلبک سبز است، احتمال وجود پلی‌ساکاریدهای سولفات کمتر از جلبک‌های قرمز است، اما ممکن است به ساختارهای خاص سلولزی یا همی‌سلولزی اشاره داشته باشند. در جلبک رنگ‌بری شده، پیک در حدود 897 (سانتی‌متر معکوس)، (که به ارتعاشات خمشی C-H و C-O در پیوندهای بتا-گلیکوزیدی و بخش آمورف سلولز نسبت داده می‌شود)، نسبت به طیف جلبک خام ضعیف‌تر شده یا کمتر مشخص است [۲۸]. این امر، به‌همراه تقویت پیک 1426 (سانتی‌متر معکوس)، مؤید افزایش بلورینگی سلولز است. در مقابل، پیک‌های $857/204$ و $874/56$ (سانتی‌متر معکوس)، که به ارتعاشات ساختارهای حلقوی قند مربوط می‌شوند، همچنان در طیف رنگ‌بری شده حضور دارند [۳۷].

۳-۳. مقایسه ویژگی‌های ساختاری سلولز استخراج شده از سایر منابع سلولزی

به‌منظور ارزیابی جامع‌تر و مقایسه ویژگی‌های فیزیکی و ساختاری سلولز استخراج شده از جلبک سبز (*Cladophora* sp.)، داده‌های این پژوهش با نتایج گزارش شده از منابع مختلف سلولزی شامل جلبک‌های قرمز، قهوه‌ای و گیاهی مقایسه شد. جدول ۳، ویژگی‌های طیفی و ساختاری سلولز استخراج شده از منابع مختلف را خلاصه می‌کند.

جدول ۳. مقایسه ویژگی‌های طیفی و ساختاری سلولز استخراج شده از (*Cladophora* sp.) با سایر منابع سلولزی

منبع سلولز	نوع زیست‌توده	قله‌های شاخص FTIR (سانتی‌متر معکوس)	ویژگی‌های ساختاری	منبع
<i>Cladophora</i> sp.	ماکروجلبک سبز	۳۳۳۷، ۲۹۱۷، ۱۴۲۶، ۱۰۳۰	حذف مؤثر ترکیبات غیرسلولزی (لیپید، پروتئین و همی‌سلولز)؛ افزایش بلورینگی و خلوص سلولز	پژوهش حاضر
<i>Cladophora glomerata</i>	ماکروجلبک سبز	۳۳۴۲، ۲۹۲۰، ۱۰۳۲	ساختار فیبری منظم و کریستالین بالا، مشابه سلولز پنبه	[۳۱]
<i>Cladophora</i> sp.	ماکروجلبک سبز	۳۳۴۰، ۲۹۲۰، ۱۰۶۰	سلولز نوع I مشابه سلولز طبیعی	[۵]
<i>Gelidium elegans</i>	ماکروجلبک قرمز	۳۳۴۰، ۲۹۰۰، ۱۰۶۰	حضور بخش‌های آمورف و بلورین	[۸]
<i>Saccharina japonica</i>	ماکروجلبک قهوه‌ای	۳۳۳۰، ۲۸۹۵، ۱۰۴۸	سلولز با کریستالینگی زیاد و ساختار منظم؛ مناسب برای تولید نانوسلولز	[۲۵]
Kenaf bast fiber	منبع گیاهی خشکی	۳۳۴۰، ۲۹۰۵، ۱۰۵۰	الیاف سلولزی با ساختار فیبری متراکم؛ نیازمند پیش‌تیمار شدید برای خالص‌سازی	[۳۰]

همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، سلولز استخراج شده از جلبک سبز (*Cladophora* sp.)، از نظر قله‌های جذبی FTIR و ویژگی‌های ساختاری، شباهت زیادی به سایر منابع سلولزی دریایی دارد، اما خلوص بالاتر و حذف کامل‌تر ترکیبات غیرسلولزی (پروتئین، همی‌سلولز و لیپید) را نشان می‌دهد. این امر بیانگر کارایی بالای فرآیند خالص‌سازی چندمرحله‌ای مورد استفاده در این پژوهش است. افزون‌بر این، حذف کامل پیک‌های مربوط به گروه‌های آمید و کاهش چشمگیر شدت پیک‌های C-H، در حدود ۲۹۲۰ (سانتی‌متر معکوس)، نشان‌دهنده دستیابی به سلولزی با نظم مولکولی زیاد و بلورینگی قابل توجه است.

۴. نتیجه‌گیری

این مطالعه با موفقیت یک روش شیمیایی چند مرحله‌ای بهینه شده برای تولید سلولز با خلوص بالا (۹۱/۶ درصد) را از ماکروجلبک سبز کلادوفورا ارائه می‌نماید. نتایج حاصل از آنالیزهای دقیق شیمیایی و طیف‌سنجی FTIR بر روی زیست‌توده خام جلبک و سلولز استخراج شده، دگرگونی‌های عمیق و موفقیت‌آمیز در ترکیب بیوشیمیایی زیست‌توده را آشکار ساخت. این تغییرات، حذف تقریباً کامل لیپیدها، پروتئین‌ها و همی‌سلولزها را به‌وضوح اثبات کرده و منجر به غنی‌سازی قابل ملاحظه محصول نهایی از سلولز شد. افزایش وضوح، باریک شدن و تقویت پیک‌های مشخصه سلولز در طیف‌های FTIR، به‌طور مشهود افزایش خلوص و بلورینگی سلولز را تأیید می‌نمایند. این تغییرات طیفی، نه تنها کارایی پروتکل خالص‌سازی را نشان می‌دهند، بلکه کیفیت بالای سلولز حاصل از جلبک کلادوفورا را نیز برجسته می‌سازند. سلولز به‌دست آمده با خلوص و بلورینگی بالا، به‌عنوان یک ماده اولیه پایدار و زیست‌سازگار، قابلیت استفاده در تولید نانوسلولز با استحکام بالا، فیلم‌ها و پوشش‌های زیست‌تخریب‌پذیر، تقویت‌کننده در کامپوزیت‌های پلیمری زیستی، غشاهای فیلتراسیون و حامل‌های دارویی یا زیستی را دارا است. این ویژگی‌ها، جلبک کلادوفورا را به منبعی کارآمد و دوست‌دار محیط‌زیست برای توسعه محصولات زیستی با ارزش افزوده بالا تبدیل می‌نماید.

۵. منابع

- [1] Zaki, M., Abdul Khalil, H.P.S., Sabaruddin, F.A., Bairwan, R.D., Oyekanmi, A.A., Alfatah, T. & Abdullah, C.K. (2021). Microbial treatment for nanocellulose extraction from marine algae and its applications as sustainable functional material. *Bioresource Technology Reports*, 16, 100811.
- [2] Devani, B. M., Sangani, V.P. & Jani, B.L. (2025). Application of bionanocomposites in food packaging: A novel approach toward greener packaging. *Plant Archives*, 25(Special Issue ICTPAIRS-JAU), 507-516.
- [3] Zhou, S., Nyholm, L., Strømme, M. & Wang, Z. (2019). Cladophora cellulose: unique biopolymer nanofibrils for emerging energy, environmental, and life science applications. *Accounts of Chemical Research*, 52(8), 2232-2243
- [4] Sandhya, P.V., Naseeha Farsana, M.N. & Femina, K.S. (2023). Nanocellulose from Cladophora: Applications. In *Handbook of Biopolymers* (pp. 877-906). Springer Nature Singapore, Singapore.
- [5] Suciya, S.W., Manurung, P., Sembiring, S. & Situmeang, R. (2021). Comparative study of Cladophora sp. cellulose by using FTIR and XRD. In *Journal of Physics: Conference Series*, 1751(1): 012075. IOP Publishing.
- [6] Abdel Hamid, E.M., Mohamed, A.E., Mohamed, A.A., Galal, A.A., Mekhemr, A.A., Saleh, E.S. & Elgendy, S.K. (2025). Optimization of corn starch/glycerol, acetic acid, and cellulose fibers ratio on biodegradable plastic synthesis by Box–Behnken design (BBD). *Clean Technologies and Environmental Policy*, 1-23.
- [7] Stefanowska, K., Bucher, M., Reichert, C.L., Sip, A., Woźniak, M., Schmid, M., Kowalczyk, T., Nowak, A. & Ratajczak, I. (2024). Chitosan-based films with nanocellulose and propolis as active packaging materials. *Industrial Crops and Products*, 219, 119112.
- [8] Chen, Y.W., Lee, H.V., Juan, J.C. & Phang, S.M. (2016). Production of new cellulose nanomaterial from red algae marine biomass *Gelidium elegans*. *Carbohydrate Polymers*, 151, 1210–1219.
- [9] Bettaieb, F., Khiari, R., Dufresne, A., Mhenni, M., Putaux, J. & Boufi, S. (2015). Nanofibrillar cellulose from *Posidonia oceanica*: Properties and morphological features. *Industrial Crops and Products*, 72, 97-106.
- [10] de Lima, G.G., Zakaluk, I.C.B., Artner, M.A., Pedro, A.C., Gonzalez de Cademartori, P.H., Muniz, G.I.B.D. & Magalhães, W.L.E. (2025). Enhancing Barrier and Antioxidant Properties of Nanocellulose Films for Coatings and Active Packaging: A Review. *ACS Applied Nano Materials*, 8(9), 4397-4421.
- [11] Samiee, S., Ahmadzadeh, H., Hosseini, M. & Lyon, S. (2019). Algae as a source of microcrystalline cellulose. In *Advanced Bioprocessing for Alternative Fuels, Biobased Chemicals, and Bioproducts* (pp. 331-350). Woodhead Publishing, Cambridge, UK.
- [12] Aysu, T., Maroto-Valer, M.M. & Sanna, A. (2016). Ceria promoted deoxygenation and denitrogenation of *Thalassiosira weissflogii* and its model compounds by catalytic in-situ pyrolysis. *Bioresource Technology*, 208, 140-148.
- [13] Baghel, R.S., Reddy, C.R.K. & Singh, R.P. (2021). Seaweed-based cellulose: Applications, and future perspectives. *Carbohydrate Polymers*, 267(10), 118241.
- [14] Kim, H.M., Wi, S.G., Jung, S., Song, Y. & Bae, H.-J. (2015). Efficient approach for bioethanol production from red seaweed *Gelidium amansii*. *Bioresource Technology*, 175, 128–134.
- [15] Korzen, L., Pulidindi, I.N., Israel, A., Abelson, A. & Gedanken, A. (2015). Single step production of bioethanol from the seaweed *Ulva rigida* using sonication. *RSC Advances*, 5(21), 16223-16229.
- [16] Michalak, I. & Messyas, B. (2021). Concise review of *Cladophora* spp.: macroalgae of commercial interest. *Journal of Applied Phycology*, 33(1), 133-166.
- [17] Steven, S., Mardiyati, Y., Mar'atus Shoimah, S., Rizkiansyah, R.R., Santosa, S.P. & Suratman, R. (2021). Preparation and Characterization of Nanocrystalline Cellulose from *Cladophora* sp. Algae. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 11(3), 1035-1041.
- [18] Munir, M., Qureshi, R., Bibi, M. & Khan, A.M. (2019). Pharmaceutical aptitude of *Cladophora*: A comprehensive review. *Algal Research*, 39, 101476.
- [19] Mhranyan, A. (2011). Cellulose from cladophorales green algae: From environmental problem to high-tech composite materials. *Journal of Applied Polymer Science*, 119(4), 2449–2460.

- [20] Bogolitsyn, K., Parshina, A., Novoselov, N., Muravyev, A., Abramova, E., Khviuzov, S., Shestakov, S. & Kozhevnikov, A. (2025). Physicochemical aspects of hydrogel preparation from algal cellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*, 310, 143499.
- [21] Jmel, M.A., Anders, N., Messaoud, G.B., Marzouki, M.N., Spiess, A. & Smaali, I. (2019). The stranded macroalga *Ulva lactuca* as a new alternative source of cellulose: Extraction, physicochemical and rheological characterization. *Journal of Cleaner Production*, 234, 1421-1427.
- [22] Asadi, F., Nazarnezhad, N. & Attoeii, G.A. (2016). Preparation of nano-cellulose from *Cladophora*, fibrous algae, and utilizing it to improve the strength properties of CMP pulp. *Iranian Journal of Wood and Paper Science Research*, 31(4), 695-702. (In Persian)
- [23] Doh, H., Lee, M.H., & Whiteside, W.S. (2020). Physicochemical characteristics of cellulose nanocrystals isolated from seaweed biomass. *Food Hydrocolloids*, 102: 105542.
- [24] Machado, B., Costa, S.M., Costa, I., Figueiro, R. & Ferreira, D.P. (2024). The potential of algae as a source of cellulose and its derivatives for biomedical applications. *Cellulose*, 31(6), 3353-3376.
- [25] He, Q., Wang, Q., Zhou, H., Ren, D., He, Y., Cong, H. & Wu, L. (2018). Highly crystalline cellulose from brown seaweed *Saccharina japonica*: isolation, characterization and microcrystallization. *Cellulose*, 25(10), 5523-5533.
- [26] Mihhels, K., Yousefi, N., Blomster, J., Solala, I., Solhi, L. & Kontturi, E. (2023). Assessment of the Alga *Cladophora glomerata* as a Source for Cellulose Nanocrystals. *Biomacromolecules*, 24(11), 4672-4679.
- [27] Chirayil, C.J., Joy, J., Mathew, L., Mozetic, M., Koetz, J., & Thomas, S. (2014). Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from *Helicteres isora* plant. *Industrial Crops and Products*, 59, 27-34.
- [28] Yue, X., Xu, Y., Li, X. & Xu, Y. (2017). Purification of cellulose from bleached pulp by Lewis base-enhanced high-temperature liquid water treatment. *BioResources*, 12(4), 8725-8733.
- [29] Patrichi, C.A.M., Cioroiu Tirpan, D.R., Aljanabi, A.A.A., Trica, B., Gifu, I.C. & Dobre, T. (2023). Extraction of Cellulose from *Ulva lactuca* Algae and Its Use for Membrane Synthesis. *Polymers*, 15(24), 4673.
- [30] Tan, X.Y., Abd Hamid, S.B. & Lai, C.W. (2015). Preparation of high crystallinity cellulose nanocrystals (CNCs) by ionic liquid solvolysis. *Biomass and Bioenergy*, 81, 584-591.
- [31] Xiang, Z., Gao, W., Chen, L., Lan, W., Zhu, J.Y. & Runge, T. (2016). A comparison of cellulose nanofibrils produced from *Cladophora glomerata* algae and bleached eucalyptus pulp. *Cellulose*, 23(1), 493-503.
- [32] Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D.H. & Zheng, C. (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*, 86(12-13), 1781-1788.
- [33] Duygu, D.Y., Udoh, A.U., Ozer, T.B., Akbulut, A., Erkaya, İ.A., Yildiz, K. & Guler, D. (2012). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for identification of *Chlorella vulgaris* Beijerinck 1890 and *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing 1833. *African Journal of Biotechnology*, 11(16), 3817-3824.
- [34] Dmytryk, A., Saeid, A. & Chojnacka, K. (2014). Biosorption of microelements by *Spirulina*: Towards technology of mineral feed supplements. *The Scientific World Journal*, 2014, 356328.
- [35] Kargarzadeh, H., Ahmad, I., Abdullah, I., Dufresne, A., Zainudin, S.Y. & Sheltami, R.M. (2012). Effects of hydrolysis conditions on the morphology, crystallinity, and thermal stability of cellulose nanocrystals extracted from kenaf bast fibers. *Cellulose*, 19(3), 855-866.
- [36] Hospodarova, V., Singovszka, E. & Stevulova, N. (2018). Characterization of cellulosic fibers by FTIR spectroscopy for their further implementation to building materials. *American Journal of Analytical Chemistry*, 9(6), 303-310.
- [37] Fernando, I.P., Sanjeeva, K.K., Samarakoon, K.W., Lee, W.W., Kim, H.S., Kim, E.A. & Jeon, Y.J. (2017). FTIR characterization and antioxidant activity of water soluble crude polysaccharides of Sri Lankan marine algae. *Algae*, 32(1), 75-86.
- [38] Pereira, L., Gheda, S.F. & Ribeiro-Claro, P.J. (2013). Analysis by vibrational spectroscopy of seaweed polysaccharides with potential use in food, pharmaceutical, and cosmetic industries. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2013(1), 537202.

- [39] Yahya, M.B., Lee, H.V., & Hamid, S.B.A. (2015). Preparation of Nanocellulose via Transition Metal Salt-Catalyzed Hydrolysis Pathway. *BioResources*, 10(4), 7627-7639.
- [40] Saelee, K., Yingkamhaeng, N., Nimchua, T. & Sukyai, P. (2016). An environmentally friendly xylanase-assisted pretreatment for cellulose nanofibrils isolation from sugarcane bagasse by high-pressure homogenization. *Industrial Crops and Products*, 82, 149-160.
- [41] Pereira, L., Sousa, A., Coelho, H., Amado, A.M. & Ribeiro-Claro, P.J. (2003). Use of FTIR, FT-Raman and ¹³ C-NMR spectroscopies for identification of some seaweed phycocolloids. *Biomolecular Engineering*, 20(4), 223-228.
- [42] Pereira, L. (2017). Vibrational spectroscopy of seaweed polysaccharides. In *Seaweed Polysaccharides* (pp. 83-100). Elsevier, Amsterdam.