

ANALIZA E PËRFTIMIT DHE KARAKTERIZIMI I KUTINËS PËR BIOPOLIMERË NGA LËKURA E DOMATES

*ELJO DACI, ENKELEDO MENALLA, ILIRJAN MALOLLARI,

DHURATA PREMTI

¹Universiteti i Tiranës, Fakulteti i Shkencave të Natyrës, Departamenti i Kimisë Industriale, Seksioni i Inxhinierisë Kimike

e-mail: eljodaci@hotmail.com

Përmbledhja

Qëllimi i këtij studimi është përftimi dhe veçimi i komponentit kryesor të lëkurës së domates, kutinës. Ky komponent është pjesë përbërëse e kutikulës së domates e cila përfaqëson 30% e brumit të saj. Kjo e fundit përbën lëndën e parë të marrë në studim. Kutina në pjesën e saj më të madhe, përbëhet nga acide yndyrore me varg C12-C19. Aplikimi kryesor i saj është në industrinë tekstile, ku vargje makromolekulare të ngjashme me Nylon 66 sintetizohen për përftrimin e një bioplastike të rëndësishme. Ky punim fokusohet kryesisht në karakterizimin e biomasës së përdorur përmes analizave fiziko-kimike.

Fjalëkyçe: Kutina, kutikula, analiza fiziko-kimike, biopolimeret.

Abstract

The purpose of this study is to obtain and isolate the main component of the tomato skin, the Cutine. This component is an integral part of the tomato cuticle which represents 30% of the tomato pulp, and has been the main aim of our research study. The Cutine is comprised of fatty acids for the most part with the C12-C19 range and the main application is in the textile industry, where Nylon 6-6-like macromolecular strings are synthesized to obtain important biopolymers. This paper focuses in particular on the characterization of biomass used through physico-chemical analysis.

Key words: Cutin, cuticle, physico-chemical analysis.

Hyrje

Kutikula e bimëve është një shtresë sipërfaqësore me dyllë që mbulon organet primare sipërfaqësore të të gjitha bimëve tokësore. Ndërsa, ajo është thelbësore për të kufizuar humbjen jo-stomatiale të ujit, tani është e qartë se kutikula luan një mori rolesh, si sipërfaqja ndarëse kryesore midis bimës dhe mjedisit të saj. Ajo është një pengesë efektive kundër dëmtuesve dhe patogjenëve (Reina-Pinto & Yephremov, 2009), e cila mbron bimën nga rrezatimi i tepërt UV (Pfündel *et al.*, 2006). Ajo, gjithashtu, mund të veprojë si një sipërfaqe vetë-pastruese (Barthlott & Neinhuis, 1997) dhe ka një funksion kritik në zhvillimin e bimëve, duke vendosur kufij midis organeve të porsalindura (Javelle *et al.*, 2011).

Kutikula hidrofobike është e afërt me murin qelizor të polisaharidit dhe përbëhet kryesisht nga një polimer lipid kutinë dhe një shumëllojshmëri përbërjesh të tretshme në tretës organike që janë kryesisht dyllëra. Kutina është një poliester i acideve yndyrore që zëvendësohen nga zinxhirë mesatarisht të gjatë. Duke u bazuar në gjatësinë mbizotëruese të acideve yndyrore dhe natyrën e zëvendësimeve, kutinat klasifikohen në tre tipe kryesore. Kutinat e tipit C16 janë tipikisht të pasura me acid dihidroksi-heksadekanoik me grupe 1,6-hidroksi, ndërsa kutinat e tipit C18 kryesisht përbëhen nga acid 9, 10-epoksi-18-hidroksioktadekanoik ose acid 9,10,18-trihidroksioktadekanoik (Kolattukudy, 2001) Kohët e fundit, analiza e kërcellit dhe gjethes së arabidopsis (*Arabidopsis thaliana*) ka identifikuar një lloj të tretë të kutinës që është e pasur me acide dikarboksilike C18 (Bonaventure *et al.*, 2004; Franke *et al.*, 2005). Përfundimisht, edhe glicerina gjendet me shumicë në polimerët e kutinës të shumë specieve, pavarësisht se nuk zbulohet në të gjitha rastet për arsye teknike (Graca *et al.*, 2002).

Dëshmitë fosile tregojnë se evolucioni i një kutikule është një nga faktorët kryesorë që lejon bimët të kolonizojnë tokën. Kjo gjë vërtetohet nga dy dëshmitë morfologjike dhe kimike të kutikulave të para, të periudhës së vonë (Edwards, 1993; Niklas, 1980). Gjatë katërqind milion viteve të fundit ka ndodhur një ndryshim thelbësor në morfologjinë dhe përbërjen e kutikulës (Jeffree, 2006; Walton, 1990); megjithatë, përpjekjet për të ndërlidhur këtë ndryshim me karakteristikat funksionale të kutikules kanë patur sukses të pjesshëm. Nga njëra anë, vetë-pastrimi i sipërfaqes së bimës nga rruaza uji, i njohur si efekti lotus, është i ndërlidhur me depozitimin e kristaleve të dyllit mbikutikular sipas një studimi të 10,000 specieve të ndryshme (Barthlott & Neinhuis, 1997). Nga ana tjetër, korrelacionet intuitive midis trashësisë së kutikulës ose sasisë së dyllit dhe depërtueshmërisë së ujit kutikular nuk janë konfirmuar nga një studim i kutikulave të 23 specieve (Riederer & Schreiber, 2001). Sidoqoftë, është e rëndësishme të theksohet se krahasime të tilla taksonomike kanë përfshirë kryesisht specie të lidhura larg, në mungesë të burimeve gjenetike, duke kufizuar kështu interpretimin molekular të larmisë kutikulare, ndërsa modelet molekulare për rrugët biosintetike të kutikulave kanë rezultuar kryesisht nga studimet e specieve në sistemet e modelit siç është arabidopsis (Kunst & Samuels, 2009; Pollard *et al.*, 2008).

Materiali dhe metodat

Si biomasë për t'u trajtuar përdoret brumi i domates i species së zakonshme *Solanum Lycopersicum* së bashku me lëkurat. Peshohet 1 kg biomasë në një peshore teknike. Mbushet një enë me hapësirë të bollshme me 5 litra ujë të distiluar (ujë i tipit III) me densitet 1020 kg/m³. Hidhet 1 kg biomasë dhe përzihet mekanikisht ena pritëse përreth 5 minuta. Lihet në qetësi për 15 minuta derisa të arrihet ndarja e plotë e lekurës me bërthamat sipas densitetëve.

Mblidhen lëkurat që qëndrojnë mbi sipërfaqen e ujit dhe shtrydhen mekanikisht. Grumbullohen në një enë të gjerë dhe lihen të thahen në temperaturë ambiente përreth 24 orë.

Fraksionet e brumit domates të	Përmbajtja (në % peshe)	Komponentët	Përmbajtja e llogaritur në brumin e domates (në % peshe)
Fibër	15	Polisaharide (celulozë, hemicelulozë, ligninë)	15
Bërthamë	55	Polisaharide (celulozë) (19%) Proteina (29%) Lipide (Të ngopura-Të pangopura 20-80 %) (26 %) Të tjera (26%)	10 16 14 14
Lëkurë	30	Kutina (Acide yndyrore 65 %) Polisaharide (celulozë, hemicelulozë, pektinë 32%) Dyllëra (3%)	20 9 1

Tabela 1. Përbërja e brumit të domates

Analizat e brumit të domates, Analiza elementare

Për analizimin dhe përcaktimin e elementeve kimike themelore që ndodhen në biomasën e brumit të domates përdoret Spektroskopia fotoelektronike me rreze X (XPS).

Hiri në biomasë

Përcaktohet hiri i mostrave nëpërmjet kroxhiolave në furrën muffel në 575 ± 25 °C për 24 ± 6 orë. Në këtë temperaturë konstante, mbrohet kampioni nga xixat për të shmangur mekanikën e humbjes së kampionit. Hiqen me kujdes kroxhiolët dhe kalohet nga furra direkt në tharës dhe ftohen për një sasi të caktuar kohe, derisa të arrijë temperaturën e dhomës tharëse. Peshohen kroxhiolët dhe hiri në diferencë 0,1 mg. Vendoset kampioni përsëri në furrën muffel në 575 ± 25 °C dhe peshohet hiri derisa arrihet një vlerë konstante. Pështa konstante përcaktohet kur ka më pak se ± 0.3 mg ndryshim në peshë mbas një ore nga ringrohja e enës.

Nëse është përdorur një mostër e thatë në ajër, llogaritet pesha e thatë nga furra (ODW) e kampionit, duke përdorur përmbajtjen mesatare totale të trupave të ngurtë siç përcaktohet nga LAP “Metoda Standarde për përcaktimin e lëndëve të ngurta totale në biomasë”.

$$\text{ODW} = \frac{\text{Pesha e mostrës së thatë } x \% \text{ Te ngurtave Tot}}{100} \quad (\text{Formula 1})$$

Llogaritet përqindja e hirit sipas formulës 1

$$\% \text{ Hiri} = \frac{\text{Pesha e kroxhiolit dhe hirit} - \text{Pesha e kroxhiolit}}{\text{ODW}} \times 100 \quad (\text{Formula 2})$$

Procedura e përgatitjes së mostrës për ekstraktim

Përmbajtja e lagështisë së një mostre të biomasës mund të ndryshojë shpejt kur ekspozohet në ajër. Peshohen mostrat për përcaktimin e trupave të ngurtë (LAP “Përcaktimi i trupave të ngurtë dhe lagështia në biomasë”) në të njëjtën kohë me mostrat për ekstraktet për të shmangur gabimet për shkak të ndryshimeve të lagështisë.

Thahet aparati për ekstraktim në një furrë tharjeje 105 + 5 °C për një minimum prej 12 orësh. Hiqet ena e qelqit dhe lihet të vijë në temperaturën e dhomës në tharëse. Etiketohe qartë dhe rregjistrohet pesha e thatë nga furra (ODW) në 0,1 mg më të afërt. Shtohen 2-10 g të mostrës në një letër filtri të ekstraktit të tretur. Regjistrohet pesha më e afërt me diferencë 0,1 mg. Sasia e mostrës së nevojshme do të varet nga dendësia e madhe e biomasës. Lartësia e biomasës nuk duhet të kalojë lartësinë e sifonit Soxhlet. Nëse lartësia e biomasës tejkalon lartësinë e sifonit, do të ndodhë ekstraktimi i paplotë.

Montohet aparati Soxhlet. Shtohet një balonë 250 mL midis adaptorit dhe tubit Soxhlet për të kontrolluar shkumëzimin nëse është e nevojshme. Shtohen 190 + 5 mL në balonin marrës të tretur. Vendoset baloni pritës në aparatin Soxhlet. Rregullohet manteli i ngrohjes për të siguruar një minimumi 4-5 cikle sifoni në orë. Koha e nevojshme e refluksit do të varet nga shkalla e heqjes e përbërësit të nevojshëm, temperatura e kondensatorëve dhe shpejtësia e sifonit. Në disa biomasa, të tilla si kashta e misrit, koha e refluksit është zakonisht rreth 8 orë, dhe çdo material i tretshëm në ujë i mbetur do të veçohet gjatë ekstraktimit të etanolit. Kur të mbarojë koha e refluksit, fiket manteli i ngrohjes dhe lihet që enët e qelqit të ftohen në temperaturën e dhomës.

Nëse do të kryhet një ekstraktim i njëpasnjëshëm i etanolit, hiqet sa më shumë ujë i mbetur nga tubi Soxhlet. Nëse ekstraktimi i etanolit nuk është i nevojshëm, transferohet ekstrakti dhe trupat e ngurtë, sa më shumë sasi të jetë e mundur, në letër filtri celuloze në një gyp Buchner. Lahen të ngurtat me afërsisht 100 ml ujë të freskët të distiluar. Lihen trupat e thatë të thahen, duke përdorur filtrimin në vakum ose në ajër të thatë.

Shtohen 190 + 5 ml 190 alkool etilik në balonë që merret me etanol. Vendoset balona marrëse në aparatën Soxhlet. Rregullohet manteli i ngrohjes për të siguruar një minimum 6-10 cikle sifoni në orë. Koha e refluksit të nevojshëm do të varet nga shkalla e heqjes së përbërësit të dëshiruar, temperatura e kondensatorëve dhe shpejtësia e sifonit. Kur të mbarojë koha e refluksit, fiken mantelët e ngrohjes dhe lejohen që enët e qelqit të ftohen në temperaturën e dhomës.

Hiqet adaptori dhe transferohen trupat e ngurtë të ekstraktuar, sa më shumë sasi të jetë e mundur, në letër filtri në një gyp Buchner. Lahen trupat e ngurtë me afërsisht 100 ml etanol. Analizohet mostra që përmban ujin dhe etanolin (nëse është e nevojshme): Presioni: 1500 psi; Temperatura: 100 °C; Koha e nxehtësisë: 5 minuta (nga programimi automatik i softuerit); Koha statike: 7 minuta; Koha e pastrimit: 120 sekonda (opsionale); Ciklet statike: 3

Largohet tretësi nga lëndët ekstraktuese. Tretësi mund të veçohet nga ekstrakti duke përdorur ose aparatën rrotullues me avuj ose një pajisje ekuivalente e përshtatshme për avullimin e ujit dhe etanolit.

Për të hequr tretësin përdoret një avullues rrotullues pajisur me një banjë uji të vendosur në 40 + 5 °C dhe një burim vakumi. Transferohet ekstrakti në një balonë të vluar me fund të rrumbullakët. Burimi i vakumit duhet të jetë i mjaftueshëm për të hequr tretësin pa trazim. Vazhdohet të hiqet tretës derisa të zhduket i gjithë tretësi i dukshëm.

Për të hequr tretësin duke përdorur një TurboVapII (rotavapor), transferohet ekstrakti në një balonë vendoset presioni i hyrjes në 15 - 18 psi dhe rregullohet sasia e banjës së ujit në 40 ° C. Vazhdohet të hiqet tretësi derisa të zhduket i gjithë tretësi i dukshëm.

Llogaritet sasia e ekstrakteve në mostër, në përqindje mbas tharjes

$$\% \text{ Ekstrakteve} = \frac{\text{Pesha e balones plus ekstraktet} - \text{Pesha e balones}}{\text{ODW}} \times 100 \quad (\text{Formula 3})$$

Rezultatet dhe diskutimi

Qëllimi i këtij studimi ishte përcaktimi i përbërjes fillestare të biomasës (brumit të domates) si dhe i sasisë dhe disponueshmërisë të pjesës më të rëndësishme të saj, kutinës. Së pari kemi realizuar ndarjen e lekurës së domates nga pulpa e saj, dhe rezultatet janë të paraqitura në tabelën 1. D.m.th kemi rezultuar në një sasi totale të lekurës së domates rreth 30 % ku kutina përfaqëson pjesën më të madhe të saj (rreth 66% e lekurës përbëhet nga kutina). Lëkura është tharë dhe analizuar me metodë spektroskopike ku vlerat jepen në tabelën 2. Tabela e mëposhtëme

tregon përmbajtjen e lartë të C,H,O. Për t'u nënvizuar mungesa e S në mostrën me emërtësë S1.

Mostra	Nr	N%	C%	H%	S%	O%	Total%	Te tjera, %
S1	1	1.73	53.42	7.22	0.00	29.17	91.54	8.46
	2	1.70	53.89	7.32	0.00	28.79	91.70	8.30
	3	1.54	53.23	7.21	0.00	28.75	90.73	9.27
	Mesatarja:	1.66	53.51	7.25	0.00	28.90	91.32	8.68

Tabela 2. Analiza elementare me XPS

Kjo analizë është e rëndësishme për njohjen më të thellë të raporteve të elementeve bazë që përbëjnë kryesisht kutinën pasi struktura e kësaj të fundit nuk njihet ende plotësisht.

Në përcaktimin e sasisë së hirit me djegie në furrë Muffel janë marrë këto rezultate që paraqiten në tabelën 3.

Mostra paraprakisht e tharë	Pesha e kroxhiolave, g		Mostra, g	Pesha e Kroxhiolave + hiri, g		Hiri, g	Hiri, %
	Nr	I (1 ditë më vonë)		I (~30h më vonë)	II (48h më vonë)		
	12	60.000	2.082	60.163	60.163	0.163	8.34
	13	63.937	1.941	64.090	64.089	0.152	8.36
	Mesatarja:						8.35

Tabela 3. Përmbajtja e hirit në biomasë

Përcaktimi i sasisë së hirit është i nevojshëm sepse tregon përmbajtjen e pjesës inorganike të ndodhur në biomasë e cila ndodhet brënda vlerës limit që arrin në 10%. Në rast se kjo vlerë do të tejkalohet, atëherë biomasa nuk do të ishte e përshatshme për nxjerrjen e kutinës (Baker *et.al*, 1982).

Ekstraktimi me Soxhlet me solventë të ndryshëm u realizua për të rritur mundësinë e veçimit të kutinës nga pjesët e tjera të biomasës. Efikasiteti më i lartë në ekstraktim u arritur duke përdorur si solvent ujin dhe si ushqim për t'u

ekstraktuar lëkurën e domates të veçuar paraprakisht nga brumi. Rezultatet paraqiten në tabelën 4

Mostra	Tretesi për ekstraktimi	Pesha e balonit, g	Pesha e letres së filtrit, g	Pesha e mostrës, g	
Mostra e tharë paraprakisht	1	Ujë	101.651	1.7876	2.4697
	2	Etanol	103.61	1.7749	2.5454
Mostra e seperuar paraprakisht	3	Etanol	102.532	1.7928	3.1278
	4	Ujë	103.6116	1.8202	2.1710
	5	Hekzan:Metanol = 3:1	102.2259	1.8046	2.6711

Tabela 4. Sasi të ekstraktuara për solvente të ndryshëm

Përfundime

Të gjitha analizat për përcaktimin e sasisë së kutinës në brumin e domates i referohen species më të zakonshme të llojit të domates, pra *Solanum Lycopersicum*.

Në analizën elementare vërehet se raporti i elementeve C,H,O (respektivisht 53.5%, 7.25 %, 28.9 % sipas mesatarizimit të vlerave të mostrave) përfaqëson vlerat tipike të një strukture të përbërë kryesisht nga estere dhe komponime alifatike). Duhet të konsiderohet që një pjesë e karbonit të analizuar është inorganik.

Më përcaktimin e hirit në biomasë është synuar krahasimi me vlerën limit 10% si dhe përshtatshmëria e biomasës për trajtim të metëjshëm në kushte superkritike për të rritur akoma më shumë shkallën e perftimit të kutinës së veçuar.

Faza e ekstraktimit duke përdorur aparatit Soxhlet me solvente të ndryshëm ka patur për qëllim përcaktimin e tretësit më të mirë për biomasën tonë ku ka rezultuar uji, si dhe përshtatshmerinë për ekstraktim më të thelluar me ujë në kushte superkritike në etapa të tjera të pasurimit të kutinës si komponenti i dëshiruar.

Literatura

TAPPI Test Method T211: Ash in Wood and Pulp. In Tappi Test Methods. Atlanta, GA: Technical Association of the Pulp and Paper Industry, 12 March 2007 (available at www.tappi.org/content/sarg/t211)

Milne, T. A.; Chum, H. L.; Agblevor, F. A.; Johnson, D. K. (1992): Standardized Analytical Methods Biomass & Bioenergy. Proceedings of International Energy Agency Bioenergy Agreement Seminar", 2-3 April 1992, Edinburgh, U.K. Vol. 2(1-6), 1992; pp. 341-366

ASTM E1755-01 Standard Method for the Determination of Ash in Biomass In (2003) Annual Book of ASTM Standards, Volume 11.05. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials, International

A. Sluiter, B. Hames, D. Hyman, C. Payne, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. (2008); Templeton, J. Wolfe: Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples Laboratory Analytical Procedure (LAP) Issue Date: 3/31/2008

A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. (2005): Templeton: Determination of Ash in Biomass Laboratory Analytical Procedure (LAP), 7/17/2005

A. Sluiter, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, and D. Templeton (2005): Determination of Extractives in Biomass Laboratory Analytical Procedure (LAP), 7/17/2005

Milne, T. A.; Chum, H. L.; Agblevor, F. A.; Johnson, D. K. (1992): Standardized Analytical Methods. Biomass & Bioenergy. Proceedings of International Energy Agency Bioenergy Agreement Seminar, 2-3 April 1992, Edinburgh, U.K. Vol. 2(1-6), 1992; pp. 341-366

ASTM Standard Test Method E 1690: Determination of Ethanol Extractives in Biomass in 2003 Annual book of ASTM Standards volume 11.05 Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials

ASTM D1105-84: Method for Preparation of Extractive-Free Wood. In 1993 Annual Book of ASTM Standards, Volume 04.09. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials

Moore, W., and D. Johnson. (1967): Procedures for the Chemical Analysis of Wood and Wood Products. Madison, WI: U.S. Forest Products Laboratory, U.S. Department of A

T. Ehrman (1994): Standard Method for Determination of Total Solids in Biomass Chemical Analysis and Testing Task Laboratory Analytical Procedure LAP-001 Procedure, 11/1/94