

## بررسی راندمان استخراج زایلان با پیش تیمار توام قلیایی و بخار از پوست

### چوبی پسته (شل)

فریده حسام<sup>۱</sup>، مسعود هنرور<sup>۲\*</sup>، بابک غیاثی طرزی<sup>۲</sup>، مهشید جهادی<sup>۳</sup>

تاریخ ارسال: ۱۳۹۹/۱۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۲۰

#### چکیده

سلسیوس- فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع) به مدت ۴۵ دقیقه، تحت استخراج قرار گرفت. نتایج آنالیز آماری نشان داد که سطوح مختلف قلیا و درجه حرارت تأثیر معناداری بر بازده واقعی استخراج زایلان داشتند ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان بازیابی واقعی زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته با میانگین  $20/34$  و در واقع میزان بازیابی نسبی  $48/4$  درصد، متعلق به تیمار استخراج با سدیم هیدروکسید  $16$  درصد در ادغام با بخار بود. نتایج به دست آمده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، به وسیله FT-IR که ساختمان اولیه زایلان‌های استخراجی را نشان می‌داد، تأیید شد. تیمار به کار گرفته شده امکان بازیابی زایلان از این توده لیگنوسلولزی سخت را امکان‌پذیر کرد که قابلیت کاربرد در صنایع غذایی و دارویی را دارد.

پسته (*Pistacia vera*) در مناطق گرم، خشک و خاک حاوی نمک برخی مناطق مثل کشورهای میدیترانه‌ای، آسیای میانه و ایالات متحده آمریکا کاشت می‌شود. پوست سخت پسته یا شل به مقدار فراوانی در اکثر ترمینال‌های ضبط پسته و واحدهای فراوری پسته در نقاط مختلف ایران تولید می‌شود که کاربرد خاصی ندارد. هدف این مطالعه ایجاد ارزش افزوده برای این محصول جانبی بواسطه تولید زایلان بود. آنالیز شیمیایی پوست چوبی پسته نشان داد که این زیست‌توده لیگنوسلولزی در کنار سلولز، حاوی  $42/2$  درصد همی‌سلولز است. زایلان موجود در پوست سخت پسته یا شل در سه تکرار با استفاده از سطوح مختلف  $16$ ،  $12$ ،  $8$ ،  $4$  درصد سدیم هیدروکسید و پتاسیم هیدروکسید در درجه حرارت  $25$  درجه سلسیوس به مدت  $16$  ساعت و تیمار با بخار ( $121$  درجه

<sup>۱</sup> فارغ التحصیل دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\* نویسنده مسئول: m-honarvar@hotmail.com

<sup>۳</sup> استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

## مقدمه

سال‌های اخیر همی‌سلولزها و به‌ویژه زایلان، به‌دلیل کاربردهایی که در صنایع غذایی و غیرغذایی پیدا کرده‌اند، توجه بسیاری را به خود معطوف کرده‌اند (Peng *et al.*, 2009). همی‌سلولزها را می‌توان به ترکیباتی مثل فورفورال، اریترول، زایلیتول و اتانول یا لاکتیک‌اسید تبدیل کرد. همچنین در صنعت به‌عنوان اصلاح‌کننده ویسکوزیته، ماده ژله‌ای‌کننده، افزودنی مرطوب‌کننده و غیره به‌کار می‌رود. اخیراً محققین به ارزش دارویی زایلان به‌عنوان ترکیب ضد تومور و تحریک‌کننده سیستم ایمنی اشاره کرده‌اند (Barbat *et al.*, 2008; Cipriani *et al.*, 2008; Ebringerová *et al.*, 2002).

تاکنون تیمارهای مختلفی شامل ارگانوسلو، کاربرد محلول‌های یونی، فسفریک‌اسید غلیظ، محلول‌های قلبیایی، آب داغ و ترکیب فرآیندهای شیمیایی - حرارتی برای جداسازی پلی‌مرهای موجود در ساختار زیست‌توده لیگنوسلولزی با کمترین آسیب ساختاری به آن‌ها به‌کار گرفته شده است (Otieno & Ahring, 2012). یک تیمار ایده‌آل با مصرف کم انرژی، تولید حداقل ضایعات، داشتن توجیه اقتصادی، توانایی بهبود واکنش‌های آنزیمی برای تولید ترکیبات با ارزش افزوده و تولید حداقل/عدم تولید ترکیبات با‌زدارنده، شناخته می‌شود (Kim *et al.*, 2016). در تیمار قلبیایی از سدیم هیدروکسید، پتاسیم هیدروکسید، آمونیاک و کلسیم هیدروکسید استفاده می‌شود (Kim *et al.*, 2016; Kim & Holtzapfle, 2006; Kim *et al.*, 2003;

همه ساله بیش از یک پنجم فرآورده های غذایی کشورهای جهان سوم به صورت ضایعات بر اثر فساد ناشی از عوامل گوناگون فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی در مراحل مختلف کاشت، داشت، برداشت، پس از برداشت، توزیع و مصرف از بین می‌روند. این رقم در برخی کشورهای جهان سوم به ۵۰ درصد نیز می‌رسد. از طریق بازیافت، فرآوری مجدد و مصرف بهینه ضایعات کشاورزی می‌توان آن‌ها را به‌طور مناسبی مورد استفاده قرار داد. بیشتر ضایعات کشاورزی کاربردهای مفیدی در مصالح ساختمانی، غذای دام، سوخت، کاغذ، تخته، مواد شیمیایی، کمپوست سازی و کود گیاهی، مواد دارویی و غیره را دارند (امینیان و شاکر اردکانی، ۱۳۸۷). ترکیبات لیگنوسلولزی حاصل از ضایعات کشاورزی، از سه پلی‌مر ساخته شده‌اند: لیگنین (با ساختار فنولیکی)، سلولز (یک پلی‌مر خطی ساخته شده از واحدهای بتاگلوکز با اتصالات بتا ۱-۴) و همی‌سلولزها (هتروپلی‌ساکاریدهای شاخه دار شامل زایلوز، آرابینوز، مانوز، گلوکز و رامنوز). بر اساس ماهیت لیگنوسلولزی پلی‌مر، پلی‌مرهای زایلوز (زایلان)، آرابینوز (آرابینان) یا مانوز (مانان) ممکن است بخش اساسی از آن همی‌سلولز باشند که با اتصالات اتری و استری استخلاف می‌شوند (Brienzo *et al.*, 2009; Jain *et al.*, 2015). زایلان بیشترین مولکول زیستی هتروژنوس موجود در همی‌سلولز است (Saha & Cotta, 2007). در

تبدیل آن به محصولات با ارزش افزوده مثل زایلوالیگوساکاریدهای پری بیوتیکی و کامپوزیت‌های مورد استفاده در صنایع شیمیایی و دارویی است (Brienzo *et al.*, 2010; de Freitas *et al.*, 2019). این فراورده همچنین پتانسیل تبدیل به محصولات با ارزش مثل زغال سوخته، قطران و ترکیبات گازی و جامد را دارد. ترکیبات زغال سوخته ممکن است به کربن فعال تبدیل شود (Peters, 2011).

با توجه به تولید مقادیر قابل توجه پوست چوبی پسته یا شل در ایران و از آنجایی که بر اساس اطلاعات ما گزارشی مبنی بر کاربرد این ترکیبات در تولید محصولات با ارزش افزوده مثل زایلان مورد استفاده در صنایع غذایی و دارویی وجود ندارد، استخراج زایلان از پوست چوبی پسته به وسیله تیمار قلیایی هدف این مطالعه قرار گرفت. ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های ساختاری زایلان‌های استخراجی توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و FT-IR نیز مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### الف- مواد اولیه

قندهای استاندارد زایلوز، گلوکز و آرابینوز و دی‌گالاکتورونیک اسید از شرکت سیگما تهیه شد (Sigma Chemical-Aldrich, USA). تمامی محلول‌ها و مواد شیمیایی مورد استفاده دارای درجه آزمایشگاهی بوده و از شرکت مرک آلمان (Merck, Germany) تهیه

(Samanta *et al.*, 2013). مواد شیمیایی به کار گرفته شده در این تیمار نسبت به ترکیبات اسیدی مثل سولفوریک اسید و سولفیت، خورندگی کمتری دارند. واکنش اصلی که در تیمار قلیایی به وقوع می‌پیوندد، شامل حل شدن لیگنین و همی سلولز و داستریفیکاسیون یا صابونی شدن اتصالات استری بین مولکولی است (Samanta *et al.*, 2012).

در مناطق گرم، خشک و خاک حاوی نمک برخی مناطق مثل کشورهای مدیترانه‌ای، آسیای میانه و ایالات متحده آمریکا، پسته (*Pistacia vera*) کاشت می‌شود. براساس آمار سازمان خواربار و کشاورزی (FAO)، ایالات متحده آمریکا و ایران ۷۶ درصد تولید جهانی پسته را در اختیار دارند (FAOSTAT, 2019). در طی برداشت پسته مقادیر قابل توجهی ضایعات محصول شامل پوست نرم روئی (اپیکارپ) و پوست سخت پسته (شل) تولید می‌شود که باعث افزایش هزینه‌های کشاورز و در نتیجه کاهش کارایی می‌گردد. اگر این ضایعات به صورت مناسب بازیابی شوند، می‌توانند ایجاد کننده اشتغال و درآمد برای کشاورزان باشند. پوست سخت پسته یا شل به مقدار فراوانی در اکثر ترمینال‌های ضبط پسته و واحدهای فرآوری پسته در نقاط مختلف کشور تولید می‌شود و به عنوان یک زباله با آن برخورد می‌شود. چه بهتر است که از این پوست به ظاهر بی‌ارزش استفاده مناسبی نمود. یکی از این راه‌ها، استخراج همی سلولز از پوست سخت پسته و

### ج- آنالیز شیمیایی نمونه‌ها

مقدار خاکستر کل بر اساس روش استاندارد (AOAC, 2000) محاسبه شد. سپس وزن خاکستر از وزن اولیه نمونه کسر شد تا مقدار مواد آلی حاصل شود. مقدار پروتئین خام از طریق روش سنتی ماکروکروکدال تعیین شد (AOAC, 2000). آنالیز مواد اولیه به منظور تعیین همی سلولز، سلولز و لیگنین بر اساس روش ون سوت (Van Soest *et al.*, 1991) انجام گرفت.

### د- استخراج زایلان با روش تیمار قلبیایی

زایلان موجود در ۲ گرم از پوست سخت پسته یا شل در سه تکرار با استفاده از سطوح مختلف غلظت سدیم هیدروکسید و پتاسیم هیدروکسید ۱۶، ۱۲، ۸، ۴ درصد و در دو درجه حرارت ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۶ ساعت و تیمار با بخار (۱۲۱ درجه سلسیوس- فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع) به مدت ۴۵ دقیقه، تحت استخراج قرار گرفت. نسبت ماده جامد به مایع ۱:۱۰ بود. زایلان حل شده در قلبیا ابتدا با استفاده از کاغذ صافی ساده و سپس کاغذ صافی واتمن شماره ۴۰، صاف شد و pH محلول با استفاده از اسید کلریدریک ۶ مولار به ۶ رسانده شده و با استفاده از جریان هوا در آون مجهز به فن مخصوص خشک کردن در دمای ۴۵ درجه سلسیوس حجم آن کم و به یک سوم مقدار اولیه رسانده شد. نمونه تغلیظ شده به منظور ترسیب زایلان، با سه حجم الکل اتانول ۹۵ درصد

شدند. غلظت قندهای خنثی موجود در زایلان‌های استحصالی توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مجهز به آشکارگر ضریب شکست (Agilent ساخت کشور آمریکا) تعیین گشت. مقدار ۲۰ میکرولیتر از نمونه صاف شده از طریق تزریق گر دستی، به دستگاه تزریق شد. جداسازی بر روی ستون زورباکس مختص کربوهیدرات‌ها با ابعاد ۲۵۰ × ۴/۶، در درجه حرارت ۲۵ درجه سلسیوس صورت گرفت. جهت تهیه فاز متحرک نیز از مخلوط حلال استونیتریل/ آب (۳۷:۶۳)، با سرعت جریان ۰/۵ میلی لیتر در دقیقه استفاده شد. شناسایی کربوهیدرات‌های شاخص در نمونه‌ها از مقایسه و تطبیق زمان بازداری پیک محلول کربوهیدرات استاندارد در کروماتوگرام با پیک مربوط به نمونه صورت گرفت (Samanta *et al.*, 2016). تمامی آزمایشات با ۳ تکرار انجام گشت.

### ب- تهیه نمونه

پسته نوع احمدآقایی از باغ‌های کرمان تهیه گردید. در نمونه‌های جمع‌آوری شده‌ی پسته، پوست سبز از پوست چوبی جدا شد و سپس در هوای محیط خشک شد. پوست سخت پسته در آسیاب آزمایشگاهی گروه علوم دامی دانشگاه صنعتی اصفهان خرد شده تا الک مش ۱۸ (ASTM E11) را پشت سر گذارد و به سایز ذره ۱ میلی‌متر رسانده شد. موم‌زدایی ترکیبات با استفاده از اتانول- تولوئن با نسبت ۱:۲ و در دستگاه سوکسله انجام شد (Jayapal *et al.*, 2013).

پس از تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها، با استفاده از طیف‌سنج IR ویژگی‌های اسپکتروسکوپیکی زایلان حاصل از نمونه‌ها در دامنه فرکانس  $4000-400 \text{ cm}^{-1}$  ثبت شد (Kaur et al., 2019; Samanta et al., 2013).  
و- ترکیب شیمیایی مونومرهای تشکیل دهنده زایلان استخراجی

برای پی‌بردن به ترکیب مونومری زایلان استخراج شده، یک نمونه ۳۰۰ میلی‌گرمی در ۱/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد حجمی/حجمی در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه خیس‌انده شد. سپس مخلوط حاصله در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ دقیقه اتوکلاو شد. پس از صاف کردن، فیلترات حاصله برای تعیین غلظت مونومرهای تشکیل دهنده با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا همان طور که در قسمت مواد اولیه ذکر شد، تعیین گشت. غلظت قندهای مربوطه (زایلوز، آرابینوز و گلوکز) بعد از مقایسه میانگین مساحت پیک استانداردها به دست آمد و بر اساس درصد بیان گشت (Peng et al., 2009; Ashis Samanta et al., 2016).

همچنین فیلترات حاصله برای تعیین میزان اورونیک اسید با روش کاربازول مورد استفاده قرار گرفت. به این ترتیب که ۰/۴ میلی‌لیتر فیلترات با ۲/۴ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ مخلوط شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر شناساگر کاربازول (محلول ۰/۱ درصد وزنی-حجمی کاربازول در اتانول) به آن اضافه شده و به

مخلوط شده و پس از گذشت ۸ ساعت صاف شده و رسوب روی صافی چهار مرتبه با الکل اتانول ۷۰ درصد شستشو داده شد. زایلان دکانته شده در آون مجهز به فن مخصوص خشک کردن در دمای ۴۵ درجه سلسیوس خشک شد تا به وزن ثابت برسد و پس از انتقال به دسیکاتور توزین گشت. بازده زایلان حاصله بر اساس میزان بازیابی واقعی (وزن زایلان حاصله نسبت به وزن اولیه نمونه بر حسب درصد) و میزان بازیابی نسبی (وزن زایلان حاصله نسبت به همی سلولز اولیه در نمونه‌های تیمار نشده بر حسب درصد) مشخص گردید (Samanta et al., 2016).

$$\text{وزن خشک زایلان استخراج شده (گرم)} \\ \text{وزن نمونه (گرم)} = (\%) \text{ بازیابی واقعی} \\ \times 100$$

(%) بازیابی نسبی

$$\text{وزن خشک زایلان استخراج شده (گرم)} \\ \text{وزن همی سلولز موجود در نمونه خام (گرم)} = 100 \times$$

ه- بررسی خصوصیات نمونه‌های زایلان استخراجی با

استفاده از طیف‌سنج IR

ویژگی‌های اسپکتروسکوپیکی زایلان حاصل از نمونه‌ها با استفاده از (FT-IR) به دست آمد. به‌طور تقریبی ۵ میلی‌گرم از زایلان خوب آسیاب شده نمونه‌ها با KBr خالص و خشک مخلوط شده و به‌صورت پودر نرم و یکنواخت درآمد و با فشار زیاد در قالب‌های مخصوص به صورت قرص نازک و شفاف در آورده شد.

مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از سردکردن تا درجه حرارت اتاق، شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۵ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی کالیبراسیون دی- گالاکتورونیک اسید، غلظت ترکیبات اورونیک اسید محاسبه شد (Fang *et al.*, 2000).

## نتایج و بحث

### الف- آنالیز شیمیایی پوست چوبی پسته

آنالیز شیمیایی پوست چوبی پسته (بر اساس درصد وزن خشک) در جدول ۱ آورده شده است. مقادیر حاصل از آنالیز شیمیایی پوست چوبی پسته نشان از مطابقت آن با داده‌های گزارش شده توسط Singh (۲۰۱۰) داشت. هرچند مقدار همی سلولز نمونه از مقادیر گزارش شده توسط برخی محققین بیشتر بود (Kasiri & Fathi, 2018). اسکلت ساختاری دیواره‌ی سلول‌های گیاهی از سلولز، همی سلولز و لیگنین تشکیل شده است که مقادیر آن‌ها در گیاهان مختلف و همچنین در بخش‌های مختلف یک گیاه با هم متفاوت است. ترکیب توده زیستی لیگنوسلولزی بستگی به گونه گیاهی، سن و شرایط رشد گیاه دارد (de Freitas *et al.*, 2019).

ب- استخراج همی سلولز (زایلان) با روش تیمار قلبیایی مطالعه حاضر تلاش کرد تا زایلان موجود در پوست چوبی پسته را با استفاده از سطوح مختلف (۱۶ درصد، ۱۲ درصد، ۸ درصد، ۴ درصد) سدیم هیدروکسید و پتاسیم هیدروکسید استخراج کند. از آنجایی که درجه حرارت‌های بالا، لایه لیگنینی محافظ در زیست توده گیاهی را نرم می‌کند. اثر درجه حرارت در میزان بازده استخراج زایلان نیز در تحقیق حاضر به صورت تیمار در غلظت‌های مختلف قلبا در انکوباسیون در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  طی مدت زمان ۱۶ ساعت یا اتوکلاو کردن در دمای  $121^{\circ}\text{C}$  و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع طی ۴۵ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. سطوح مختلف قلبا تأثیر معناداری بر بازده واقعی استخراج زایلان داشت ( $p < 0.05$ ). با افزایش سطوح قلبا میزان استخراج زایلان به طور معناداری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ).

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده در طی انکوباسیون در درجه حرارت  $25^{\circ}\text{C}$  درجه سلسیوس به مدت ۱۶ ساعت، سطوح افزایشی سدیم هیدروکسید و پتاسیم هیدروکسید منجر به افزایش میزان بازده واقعی زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته از ۱/۷۴ تا ۳/۱۴ درصد و ۱/۶۵ تا ۳/۰۳ درصد، به ترتیب شد. این

جدول ۱- میزان ترکیبات شیمیایی پوست چوبی پسته (بر اساس درصد وزن خشک).

| مواد آلی         | سلولز            | همی سلولز        | لیگنین           | خاکستر          | پروتئین خام     |
|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|
| $95/48 \pm 1/64$ | $31/13 \pm 0/42$ | $42/27 \pm 1/62$ | $20/11 \pm 7/10$ | $0/0 \pm 89/02$ | $0/0 \pm 98/08$ |

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل قلیا و شرایط استخراج بر بازده واقعی زایلان از پوست چوبی پسته.

| بازده واقعی (گرم/۱۰۰ گرم ماده خام اولیه) |              |               |             | نام قلیا و شرایط استخراج               |
|--|--------------|---------------|-------------|--|
| سطوح قلیا                                |              |               |             |  |
| ۱۶٪                                      | ۱۲٪          | ۸٪            | ۴٪          |  |
| ۳/۰±۰۳/۴۲ghi                             | ۲/۰±۶۵/۳۷ hi | ۲/۰±۱۳/۲۲ij** | ۱/۰±۶۵/۳۳*  | پتاسیم هیدروکسید (دمای محیط و ۱۶ ساعت) |
| ۱۶/۰±۹۴/۶۸b                              | ۱۳/۰±۷۲/۳۸ d | ۵/۰±۷۴/۵e     | ۳/۰±۵۵/۸۲fg | پتاسیم هیدروکسید (اتوکلاو ۴۵ دقیقه)    |
| ۳/۰±۱۴/۴۴fgh                             | ۲/۰±۸۸/۸۹ghi | ۲/۰±۲۷/۴۲ij   | ۱/۰±۷۴/۳۵j  | سدیم هیدروکسید (دمای محیط و ۱۶ ساعت)   |
| ۲۰/۰±۳۴/۸۱a                              | ۱۵/۰±۱۴/۳۰c  | ۵/۰±۸۸/۵e     | ۳/۰±۹۴/۳۱f  | سدیم هیدروکسید (اتوکلاو ۴۵ دقیقه)      |

\*داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار آورده شده‌اند.

\*\*حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

چوبی پسته با میانگین ۲۰/۳۴ و در واقع بازده نسبی ۴۸/۴ درصد، متعلق به تیمار استخراج با سدیم هیدروکسید در فرآوری حرارتی با کمک اتوکلاو (دمای ۱۲۱ °C و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع طی ۴۵ دقیقه) بود. همان‌طور که دیده می‌شود، بیشینه بازده واقعی زایلان به ۱۶/۹۴ درصد در پوست چوبی پسته در تیمار با پتاسیم هیدروکسید ضمن کاربرد بخار رسید (این مقدار معادل بازده نسبی ۴۰/۳۴ درصد است). همچنین کمترین میزان بازده واقعی زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته با میانگین ۱/۶۵ متعلق به تیمار استخراج با پتاسیم هیدروکسید ۴ درصد در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۶ ساعت بود. میزان بالای همی سلولز در پوست چوبی پسته و همچنین مقادیر قابل توجه ضایعات پسته در ایران، آن را به یک کاندیدای نوین در تولید زایلان مبدل می‌کند. زایلان یک ترکیب ساختاری مهم زیست‌توده گیاهی است و

مقادیر در واقع افزایش بازده نسبی از ۴/۱۶ تا ۷/۴۹ درصد را در استخراج با سدیم هیدروکسید و بازده نسبی ۳/۹۳ تا ۷/۲ درصد در مورد پتاسیم هیدروکسید طی انکوباسیون در دمای ۲۵ °C را به دنبال داشت. درجه حرارت فرایند استخراج تأثیر معناداری بر بازده واقعی استخراج زایلان از پوست چوبی زایلان داشت (p < ۰/۰۵) فرآوری حرارتی با کمک اتوکلاو (دمای ۱۲۱ °C و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع طی ۴۵ دقیقه) هر دو نوع قلیا به کار رفته، بازده واقعی و بازده نسبی استخراج زایلان از پوست چوبی پسته را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند (p < ۰/۰۵).

همچنین نتایج نشان داد که اثر متقابل غلظت‌های مختلف قلیا و دمای فرایند بر بازده واقعی بازده استخراج زایلان معنی دار است (p < ۰/۰۵). نتایج مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل تیمارها نشان داد که بیشترین میزان بازده واقعی زایلان استخراجی از پوست

تأثیر تشدیدکنندگی تیمار قلیایی در شرایط اتوکلاو در شکستن ماتریکس پلی ساکارید- لیگنین در گیاه (*Chloris barbata*) و بهبود بازده استخراج توسط محققین گزارش شده است (Obeng *et al.*, 2019). بازده استخراج زایلان از مواد خام مختلف بر اساس نوع تیمار به کار گرفته شده و همچنین اتصالات آن‌ها و اتصالات هیدروژنی آن با سلولز و لیگنین متفاوت است. در مطالعه حاضر، افزایش سطوح سدیم هیدروکسید و پتاسیم هیدروکسید در هر دو نوع تیمار حرارتی به کار گرفته شده منجر به افزایش خطی بازده زایلان استحصال شد که با داده‌های محققین دیگر همخوانی دارد (Samanta *et al.*, 2013; Samanta *et al.*, 2016). این افزایش بازده به خاطر تخریب اتصالات قوی‌تر بین بخش‌های همی سلولزی و لیگنینی است. بازده‌های متفاوت به دست آمده از سطوح پایین قلیا تا سطوح بالای آن نشان می‌دهد که، بخش‌هایی از همی سلولز که به صورت ضعیف با دیواره سلولی باند شده‌اند در غلظت‌های پایین قلیا قابل استخراج هستند در حالی که بخش‌هایی از همی سلولز که اتصالات قوی‌تری با دیواره سلولی دارند نیاز به سطوح بالای قلیا برای استخراج دارند. پوست چوبی پسته دارای ساختاری بسیار سخت و محکم است و در مطالعه حاضر تیمار به کار گرفته شده (۱۶ درصد سدیم هیدروکسید در ادغام با بخار) توانست حدود ۴۸/۴ درصد از مقدار همی سلولز موجود در پوست چوبی پسته را استخراج کند.

میزان بازده استخراج آن بستگی به روش به کار گرفته شده و نوع مواد خام اولیه دارد (de Freitas *et al.*, 2009; Peng *et al.*, 2019). استخراج زایلان از توده زیستی شامل دو مرحله است: هیدرولیز قلیایی اتصالات استری از ماتریکس لیگنوسلولزی و استخراج آن‌ها به محیط قلیایی (Doner & Hicks, 1997; Peng *et al.*, 2009). به کارگیری تیمار قلیایی به منظور استخراج زایلان نسبت به دیگر تیمارها، به خاطر ساده بودن نوع فرایند و توجیه اقتصادی آن مورد توجه است (Aachary & Prapulla, 2009). ترکیبی که طی محلول سازی با قلیا و سپس ترسیب با اتانول بازیابی شد به عنوان زایلان در نظر گرفته شد زیرا سلولز در سدیم هیدروکسید یا پتاسیم هیدروکسید حل نمی‌شود و لیگنین نیز با اتانول رسوب نمی‌کند.

برخی از محققین به بازده واقعی استخراج همی سلولز در حد ۱۳/۲ درصد در پوسته بادام با استفاده از تیمار قلیایی و بازده ۱۵/۵ درصد زایلان از پوست بادام زمینی اشاره کرده‌اند (Ebringerová *et al.*, 2008; Arumugam *et al.*, 2018). نتایج به دست آمده از تحقیق قبلی نویسنده و همکاران در ارتباط با بازده زایلان استحصال از پوست چوبی پسته با روش تیمار پراکسید هیدروژن قلیایی در دمای محیط برابر با ۳۷/۲۸ درصد بود (Hesam *et al.*, 2020). به نظر می‌رسد کاربرد قلیا با غلظت بالا و تیمار تحت فشار باعث بازده استخراج بالاتر در تحقیق حاضر شده است.



ج- بررسی زایلان استخراج شده با دستگاه FT-IR در نمودار ۱، طیف FTIR به دست آمده از زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته در محدوده عدد موج  $4222 \text{ cm}^{-1}$  تا  $422 \text{ cm}^{-1}$  و در وضوح  $4 \text{ cm}^{-1}$  گزارش شده است. همان طور که مشاهده می شود، طیف FTIR و شدت نسبی باندها، یک الگوی معمول زایلان را تداعی می کند. پیک در محدوده  $3200-3600$  نشان دهنده گروه های OH است. این پیک در زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته با روش قلیایی در  $3430 \text{ cm}^{-1}$  مشاهده شد. که مربوط به گروه های متعدد OH در نمونه و میزان جذب رطوبت به وسیله نمونه است. این پیک قوی با پهنای باند وسیع مربوط به ارتعاشات کششی پیوند O-H بوده که این OH مربوط به مقدار مواد معدنی یا کاتیون های هیدراته است (Brienza *et al.*, 2009; Kaur *et al.*, 2019). پیک موجود در محدوده  $2822-3222 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به باند کششی متقارن و نامتقارن C-H است که به اصطلاح شارپ بوده و در تحقیقی بیان شده که معمولاً با پیک مربوط به OH پوشیده می شود (Jayapal *et al.*, 2013). این پیک در زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته با روش قلیایی در  $2911 \text{ cm}^{-1}$  مشاهده شد. پیک شارپ در  $897$  شاخصه حضور اتصالات بتا گلایکوزیدی (فرکانس گروه کربن شماره یک یا فرکانس حلقه) بین واحدهای قند است (Khat-udomkiri *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2013). این پیک در زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته با روش

قلیایی در  $895 \text{ cm}^{-1}$  مشاهده شد. باندهای بین  $1000-1125$  که به اصطلاح اثر انگشت نامیده می شود، معمول زایلان هستند. باندهای کوتاه در  $1328, 1480, 1268$  نشان دهنده حضور C-H, OH و  $\text{CH}_2$  است (Fang *et al.*, 2000). پیک های مشخص در زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته با روش قلیایی در  $1046 \text{ cm}^{-1}$  مرتبط با کشش C-C, C-O, و C-OH می باشد (Brienza *et al.*, 2009). پیک های کوچک در زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته با روش قلیایی در  $990$  مرتبط به حضور آرابینان می باشد و سیگنال در زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته با روش قلیایی در  $1168 \text{ cm}^{-1}$  مرتبط با حضور زنجیره جانبی آرابینوزیلی می باشد (Sun *et al.*, 2001). وقوع باند ضعیف در  $1510 \text{ cm}^{-1}$  در زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته با روش قلیایی نشان دهنده حضور لیگنین باقی مانده است. در شدت و قدرت باند در  $1640 \text{ cm}^{-1}$  تفاوت هایی بین زایلان های استخراجی وجود دارد. این پیک مرتبط با گروه C=O می باشد. در کنار مقدار لیگنین، رنگ نمونه ها هم احتمالاً با فرایندهای اکسیداتیوی که تولید اسیدهای هگزرورونیک و کروموفورهای لیگنین را می کنند مرتبط است. همان طور که در شکل ۱ دیده می شود، طیف FTIR و شدت نسبی باندها یک الگوی معمول زایلان را تداعی می کند.

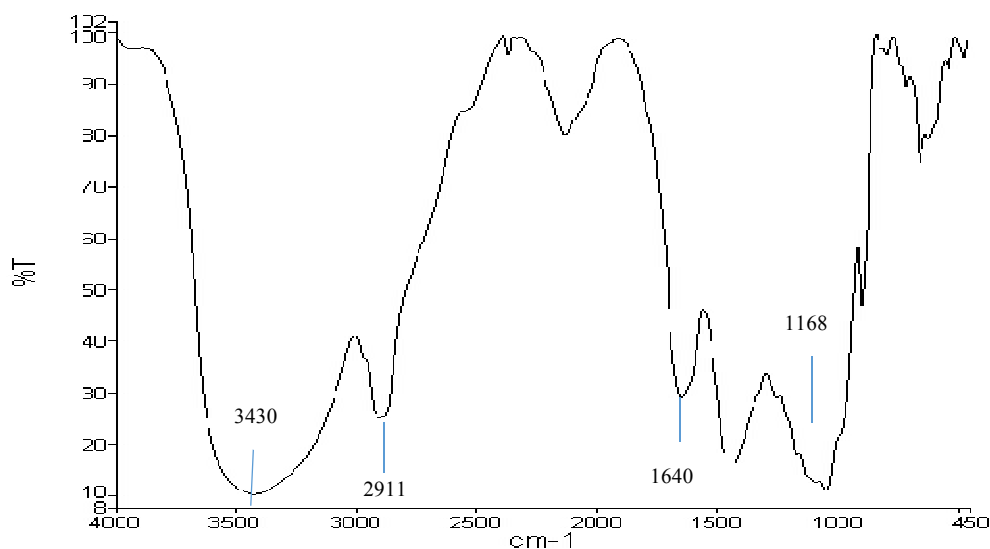
#### د- ترکیب شیمیایی مونومرهای تشکیل دهنده زایلان استخراجی

آنالیز زایلان استخراج شده از پوست پسته به روش قلیایی با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در جدول ۳ آورده شده است. پلی ساکاریدهای استخراج شده از دیواره سلول‌های گیاهی، ترکیب مونوساکاریدی مشابهی با قندهای تشخیص داده شده از زایلان استحصالی از پوست چوبی پسته با روش تیمار قلیایی در تحقیق حاضر دارند. هرچند زایلان استخراج شده از منابع مختلف مثل غلات، گیاهان ساقه‌ای سبز، چوب‌های سخت و چوب‌های نرم از لحاظ ترکیب

متفاوتند، اما به‌طور عمده از زنجیره‌ای از واحدهای زایلوز با اتصالات بتا یک به چهار با پیوندهای زایلوزیدی تشکیل شده‌اند (Saha & Cotta, 2007). قندهای آرابینوز، استیک‌اسیدها و مانوز به‌عنوان شاخه‌های جانبی در این زنجیره حضور دارند (Yang *et al.*, 2013). در واقع ترکیب مونوساکاریدی زایلان بر حسب روش استخراج و منبع می‌تواند متفاوت باشد (Peng *et al.*, 2009; Xue *et al.*, 2016).

#### نتیجه‌گیری کلی

در طی برداشت پسته مقادیر قابل توجهی



شکل ۱- طیف FTIR زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته با روش تیمار قلیایی.

جدول ۳ - آنالیز ترکیب مونومری زایلان استخراجی از پوست چوبی پسته با روش تیمار قلیایی (%).

| زایلوز | آرابینوز | گلوکز | اورونیک اسید |
|--------|----------|-------|--------------|
| ۷۸/۳   | ۶/۴۸     | ۱۰/۲  | ۵/۰۱         |

- characterization of xylooligosaccharides from alkali pretreated lignin-saccharide complex using *Aspergillus oryzae* MTCC 5154. *Bioresource Technology*, 100(2), 991-995.
- 3- Arumugam, N, Biely, P, Puchart, V, Sing, S, & Pillaia, S. (2018). Structure of peanut shell xylan and its conversion to oligosaccharides. *Process Biochemistry*, 72, 124-129.
  - 4- AOAC. (2000). Official methods of analysis of the AOAC (18<sup>th</sup> ed.). Washington, DC.
  - 5- Barbat, A, Gloaguen, V, Moine, C, Sainte-Catherine, O, Kraemer, M, Rogniaux, H, Ropartz, D, & Krausz, P. (2008). Structural characterization and cytotoxic properties of a 4-O-methylglucuronoxylan from *Castanea sativa*. 2. Evidence of a structure-activity relationship. *Journal of Natural Products*, 71(8), 1404-1409.
  - 6- Brienzo, M, Siqueira, AF, & Milagres, AMF. (2009). Search for optimum conditions of sugarcane bagasse hemicellulose extraction. *Biochemical Engineering Journal*, 46(2), 199-204.
  - 7- Brienzo, M, Carvalho, W, & Milagres, AMF. (2010). Xylooligosaccharides production from alkali-pretreated sugarcane bagasse using xylanases from *Thermoascus aurantiacus*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162(4), 1195-1205.
  - 8- Cipriani, TR, Mellinger, CG, de Souza, LM, Baggio, CH, Freitas, CS, Marques, MCA, Gorin, PAJ, Sasaki, GL, & Iacomini, M. (2008). Acidic heteroxylans from medicinal plants and their anti-ulcer activity. *Carbohydrate Polymers*, 74(2), 274-278.
  - 9- de Freitas, C, Carmona, E, & Brienzo, M. (2019). Xylooligosaccharides production process from lignocellulosic biomass and ضایعات محصول شامل پوست سخت پسته (شل) در اکثر ترمینال‌های ضبط پسته و واحدهای فرآوری پسته تولید می‌شود که به عنوان یک زیاله با آن برخورد می‌شود و باعث افزایش هزینه‌های کشاورز و واحدهای فرآوری و در نتیجه کاهش کارایی می‌گردد. اگر این ضایعات به صورت مناسب بازیابی شوند می‌توانند ایجادکننده اشتغال و درآمد برای کشاورزان و تولیدکنندگان محصولات پسته باشند. مطالعه حاضر تلاش کرد تا یکی از ضایعات صنعت تولید پسته (پوست سخت پسته) را به عنوان ماده‌ای جدید برای استخراج یک محصول با ارزش افزوده مناسب (زیلان) معرفی کند. در این راستا، ارزیابی ترکیبات شیمیایی پوست چوبی پسته نشان داد این ماده دارای مقدار قابل توجهی همی سلولز است که می‌توان از آن برای تولید مواد با ارزش افزوده بالا استفاده کرد. ادغام قلیا (۱۶ درصد سدیم هیدروکسید) و بخار امکان بازیابی حدود ۴۸/۴ درصد از زیلان را از این زیست توده لیگنوسلولزی سخت امکان پذیر کرد که قابلیت کاربرد در صنایع غذایی و دارویی را دارد.
- منابع**
- ۱- امینیان، ا، و شاکر اردکانی، ا. (۱۳۸۷). ضایعات پسته و کاربردهای آن. انتشارات مؤسسه تحقیقات پسته کشور.
  - 2- Aachary, AA, & Prapulla, SG. (2009). Value addition to corncob: Production and

- and their application for stabilizing pickering emulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 1023-1031.
- 17- Kaur, R, Uppal, SK, & Sharma, P. (2019). Production of xylooligosaccharides from sugarcane bagasse and evaluation of their prebiotic potency *in vitro*. *Waste and Biomass Valorization*, 10(9), 2627-2635.
- 18- Khat-udomkiri, N, Sivamaruthi, BS, Sirilun, S, Lailerd, N, Peerajan, S, & Chaiyasut, C. (2018). Optimization of alkaline pretreatment and enzymatic hydrolysis for the extraction of xylooligosaccharide from rice husk. *AMB Express*, 8(1).
- 19- Kim, JS, Lee, YY, & Kim, TH. (2016). A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. In *Bioresource Technology* (Vol. 199, pp. 42–48). Elsevier Ltd.
- 20- Kim, S, & Holtzapple, MT. (2006). Effect of structural features on enzyme digestibility of corn stover. *Bioresource Technology*, 97(4), 583–591.
- 21- Kim, TH, Kim, JS, Sunwoo, C, & Lee, YY. (2003). Pretreatment of corn stover by aqueous ammonia. *Bioresource Technology*, 90(1), 39-47.
- 22- FAOSTAT. (2019). "Pistachio production in 2019; Retrieved 7 Februray 2021.
- 23- Obeng, AK, Premjet, D, & Premjet, S. (2019). Combining autoclaving with mild alkaline solution as a pretreatment technique to enhance glucose recovery from the invasive weed *Chloris barbata*. *Biomolecules*, 9(4), 120.
- 24- Otieno, DO, & Ahring, BK. (2012). The potential for oligosaccharide production from the hemicellulose fraction of bioactive effects. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 18.
- 10- Doner, LW, & Hicks, KB. (1997). Isolation of hemicellulose from corn fiber by alkaline hydrogen peroxide extraction. *Cereal Chemistry*, 74(2), 176-181.
- 11- Ebringerová, A, Hromádková, Z, Košťálová, Z, & Sasinková, V. (2008). Chemical valorization of agricultural by-products: Isolation and characterization of xylan-based antioxidants from almond shell biomass. *BioResources*, 3(1), 60-70.
- 12- Fang, JM, Sun, RC, & Tomkinson, J. (2000). Isolation and characterization of hemicelluloses and cellulose from rye straw by alkaline peroxide extraction. *Cellulose*, 7(1), 87-107.
- 13- Hesam, F, Tarzi, BG, Honarvar, M, & Jahadi, M. (2020). Pistachio (*Pistacia vera*) shell as a new candidate for enzymatic production of xylooligosaccharides. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 0123456789.
- 14- Jain, I, Kumar, V, & Satyanarayana, T. (2015). Xylooligosaccharides: An economical prebiotic from agroresidues and their health benefits. In *Indian Journal of Experimental Biology* (Vol. 53, Issue 3, pp. 131-142). National Institute of Science Communication.
- 15- Jayapal, N, Samanta, AK, Kolte, AP, Senani, S, Sridhar, M, Suresh, KP, & Sampath, KT. (2013). Value addition to sugarcane bagasse: Xylan extraction and its process optimization for xylooligosaccharides production. *Industrial Crops and Products*, 42(1), 14-24.
- 16- Kasiri, N, & Fathi, M. (2018). Production of cellulose nanocrystals from pistachio shells

- Dhali, A, Senani, S, Sridhar, M, Suresh, KP, Jayapal, N, Jayaram, C, & Roy, S. (2016). Value addition of corn husks through enzymatic production of xylooligosaccharides. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59(0).
- 31- Singh, BP. (2010). Industrial crops and uses. In *Industrial Crops and Uses*. CABI Publishing.
- 32- Sun, R, Tomkinson, J, Mao, FC, & Sun, XF. (2001). Physicochemical characterization of lignins from rice straw by hydrogen peroxide treatment. *Journal of Applied Polymer Science*, 79(4), 719-732.
- 33- Van Soest, PJ, Robertson, JB, & Lewis, BA. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597.
- 34- Xue, JL, Zhao, S, Liang, RM, Yin, X, Jiang, SX, Su, LH, Yang, Q, Duan, CJ, Liu, JL, & Feng, JX. (2016). A biotechnological process efficiently co-produces two high value-added products, glucose and xylooligosaccharides, from sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, 204, 130-138.
- 35- Yang, D, Zhong, LX, Yuan, TQ, Peng, XW, & Sun, RC. (2013). Studies on the structural characterization of lignin, hemicelluloses and cellulose fractionated by ionic liquid followed by alkaline extraction from bamboo. *Industrial Crops and Products*, 43(1), 141-149.
- biomasses through pretreatment processes: Xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS), and mannoooligosaccharides (MOS). *Carbohydrate Research*, 360, 84-92.
- 25- Peng, F, Ren, JL, Xu, F, Bian, J, Peng, P, & Sun, RC. (2009). Comparative study of hemicelluloses obtained by graded ethanol precipitation from sugarcane bagasse. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 6305-6317.
- 26- Peters, B. (2011). Prediction of pyrolysis of pistachio shells based on its components hemicellulose, cellulose and lignin. *Fuel Processing Technology*, 92(10), 1993-1998.
- 27- Saha, BC, & Cotta, MA. (2007). Enzymatic saccharification and fermentation of alkaline peroxide pretreated rice hulls to ethanol. *Enzyme and Microbial Technology*, 41(4), 528-532.
- 28- Samanta, AK, Jayapal, N, Kolte, AP, Senani, S, Sridhar, M, Mishra, S, Prasad, CS, & Suresh, KP. (2013). Application of pigeon pea (*Cajanus cajan*) stalks as raw material for xylooligosaccharides production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169(8), 2392-2404.
- 29- Samanta, AK, Jayapal, N, Kolte, AP, Senani, S, Sridhar, M, Suresh, KP, & Sampath, KT. (2012). Enzymatic production of xylooligosaccharides from alkali solubilized xylan of natural grass (*Sehima nervosum*). *Bioresource Technology*, 112, 199-205.
- 30- Samanta, AK, Kolte, AP, Elangovan, AV,

## Evaluation of Xylan Extraction Yield with Alkaline Pretreatment Coupled with Steam from Pistachio Shell

### Abstract

Pistachios are grown in hot, dry, and salt-rich area of some regions, such as the Mediterranean, Middle East, and the United States. Pistachio shell is produced in large quantities in most pistachio recording terminals and pistachio processing units in different parts of the Iran, which has no special application. The aim of this study was to create added value for this by-product by producing xylan. Chemical analysis of pistachio shell indicated that this lignocellulosic biomass, along with cellulose, contained 42.2% hemicellulose. Xylan in the pistachio shell was extracted using different levels of 4, 8, 12, and 16% sodium hydroxide or potassium hydroxide at two temperatures (25 °C/ 16 hours and steam treatment (121 °C, 15 lb/in<sup>2</sup>, 45 min). Statistical analysis indicated that variant

levels of alkali and different temperatures had a significant effect on the true recovery of xylan extraction ( $p < 0.05$ ). The maximum true recovery of xylan extracted from pistachio shell with an average of 20.34 and in fact the relative recovery of 48.4%, belonged to the treatment with sodium hydroxide 16% in combination with steam. The results obtained from high performance liquid chromatography were confirmed by FT-IR, which characterized preliminary structure features of the extracted pistachio shell xylan. The treatment used enabled the recovery of xylan from this hard lignocellulosic biomass that can be used in food and pharmaceutical industries.

**Keywords:** Extraction, Pistachio shell, Sodium hydroxide, Xylan