

Microwave-Assisted Extraction Optimization of Pectin from *Cucumis melo* Peel and Its Physicochemical Properties

MEHDI REZAEI¹, FARAMARZ KHODAIYAN^{1*}, SEYED SAEID HOSSEINI¹, MILAD KAZEMI¹

1. Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering & Technology, University College of Agriculture and Natural Resources, of Tehran, Karaj, Iran

(Received: Dec. 23, 2019- Revised: Feb. 3, 2020- Accepted: Feb. 22, 2020)

ABSTRACT

In this study, microwave-assisted extraction of pectin from *Cucumis melo* peel as food waste was optimized. For this purpose, Box-Behnken design with three independent variables of microwave power, irradiation time and pH at three levels was used to achieve the maximum extraction yield. The results showed that the maximum extraction yield ($19.4 \pm 0.3\%$) was obtained at power of 600 W, time of 3 min and pH of 1.5. In the next step, the physicochemical properties of the pectin extracted under optimum conditions were investigated. The finding indicated that the pectin extracted under mentioned conditions had DE of $\sim 51.92\%$, the galacturonic acid content of $\sim 65.44\%$ and the emulsifier activity of $\sim 63.33\%$. In addition, FTIR analysis confirmed the presence of chemical structure of pectin in the obtained supernatant.

Keywords: Pectin, *Cucumis melo*, Optimization, Galacturonic acid, Emulsifying properties

بهینه سازی استخراج به کمک امواج مایکروویو پکتین از پوست کمبزه و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن

مهدی رضائی^۱، فرامرز خدائیان^{۱*}، سیدسعید حسینی^۱، میلاد کاظمی^۱

۱. گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۱۱/۱۴ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۱۲/۳)

چکیده

در این مطالعه، استخراج پکتین از پوست کمبزه به عنوان ضایعات غذایی به کمک امواج مایکروویو بهینه سازی شد. بدین منظور، از طرح باکس-بنکن با سه متغیر مستقل توان مایکروویو، زمان پرتودهی و pH در سه سطح برای رسیدن به حداکثر راندمان تولید استفاده شد. نتایج نشان داد که حداکثر راندمان تولید (۱۹/۴ ± ۰/۳ درصد) در توان ۶۰۰ وات، زمان ۳ دقیقه و pH برابر با ۱/۵ بدست آمد. در ادامه، خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین استخراج شده در شرایط بهینه مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها نشان داد که پکتین استخراج شده در شرایط مذکور دارای درجه استریفیکاسیون حدود ۵۱/۹۲ درصد، محتوای گالاکتورونیک اسید حدود ۶۵/۴۴ درصد و فعالیت امولسیفایری حدود ۶۳/۳۳ درصد بود. همچنین بررسی طیف FTIR حضور ساختار شیمیایی پکتین را تایید کرد. با توجه به نتایج بدست آمده می توان بیان داشت که پکتین پوست کمبزه را می توان در محصولات غذایی غیر رژیمی مورد استفاده قرار داد.

واژه های کلیدی: پکتین، کمبزه، بهینه سازی، گالاکتورونیک اسید، خصوصیات امولسیفایری

(*et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2007)

مقدمه

پکتین ها به صورت تجاری معمولاً از پوست مرکبات، تفاله سیب و چغندر قند استخراج می شوند (Mesbahi *et al.*, 2005). در بازار جهانی، میزان تقاضا برای این پلی ساکارید گیاهی برابر با ۳۰ هزار تن با افزایش نرخ سالیانه ۴ الی ۵ درصدی بوده است. به همین دلیل محققین به دنبال منابع جدیدی بوده و تاکنون از منابع مختلفی مانند پوسته کاکائو (Chan & Choo, 2013)، پوست شاخه توت (Liu *et al.*, 2011)، پوسته باقلا (Korish, 2015)، ضایعات سبزیجات^۱ (Santos *et al.*, 2015)، پوست هندوانه (Maran *et al.*, 2014)، پوست انار (Pereira *et al.*, 2016)، کدو تنبل (Ptichkina *et al.*, 2008)، پوست موز (De oliveira *et al.*, 2016)، پوست نارنج (Hosseini *et al.*, 2016) و غیره برای تولید پکتین استفاده کرده اند. کمبزه با نام علمی *Cucumis melo var. inodorus* از جمله محصولات بومی کشور بوده که به فراوانی در برخی از شهرهای ایران بخصوص نجف آباد کشت می شود (Maleki *et al.*, 2018). این میوه که بسیار شبیه به خربزه ولی در اندازه های بسیار کوچکتر می باشد دارای عطر و طعم و خصوصیات تغذیه ای منحصر به فردی می باشد. پوست این محصول که سرشار از پلی ساکارید های مختلف بوده به عنوان

پکتین به عنوان یک پلی ساکارید کاربردی، به فراوانی در دیواره و حدفاصل بین دیواره سلول های گیاهی حضور داشته که نقش مهمی را در زنده مانی این گیاهان بر عهده دارد (Kazemi *et al.*, 2019a). ستون اصلی این پلی ساکارید زنجیره ای از واحد های گالاکتورونیک اسید بوده که با پیوند گلیکوزیدی آلفا ۱ به ۴ به یکدیگر متصل شده اند. بر حسب نوع پکتین و منبع آن قندهای خنثی در شکل های مختلف به عنوان شاخه های جانبی به این ستون متصل شده اند (Chaharbaghi *et al.*, 2017). یکی از مهمترین خصوصیت پکتین که نقش مهمی در کاربرد آن دارد درجه استریفیکاسیون بوده که پکتین ها بر اساس آن به دو دسته تقسیم می شوند: پکتین با درجه استری بالای ۵۰ درصد و پکتین با درجه استری کمتر از ۵۰ درصد (Marić *et al.*, 2018). پکتین ها به فراوانی در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می گیرند. این پلی ساکارید در صنایع غذایی به عنوان پایدار کننده، امولسیفایر، ژل کننده و غیره (Maran *et al.*, 2013) و در صنایع دارویی به منظور کاهش چربی خون، تسکین درد (Liu *et al.*, 2010)، کاهش بیماری های قلبی و عروقی و همچنین در ریزپوشانی انواع داروها مورد استفاده قرار می گیرد (Bagherian

مواد و روش ها

مواد

میوه کمبزه از یک میوه فروشی در سطح شهر کرج، استان البرز تهیه گردید و پوست آن به منظور استفاده بعنوان منبع پکتین جدا شد. تمامی مواد و معرف ها از شرکت سیگما آمریکا و روغن آفتاب گردان از شرکت اویلا ایران خریداری شد.

آماده سازی پودر پوست کمبزه و استخراج پکتین

ابتدا پوست کمبزه به منظور جداسازی آلودگی ها شستشو داده شد و سپس تا رسیدن به وزن ثابت در یک آون در دمای ۵۰ درجه سلسیوس خشک گردید. در مرحله بعد، پوست های خشک شده به وسیله یک آسیاب پودر گردیده و با مش شماره ۴۰ الک گردید. در نهایت، پودر بدست آمده تا زمان آزمایش های بعدی در یک کیسه پلی اتیلنی در محیط خشک نگهداری شد.

برای استخراج پکتین از پوست کمبزه از روش تشریح شده به وسیله Hosseini *et al.* (2016) استفاده شد. پودر پوست های خشک شده در نسبت مایع به جامد ۲۵ وزنی/حجمی در داخل محلول آبی سیتریک اسید با pH های مختلف (۵-۱/۳) ریخته و به خوبی مخلوط گردید. سپس به منظور استخراج پکتین، مخلوط به دست آمده در یک دستگاه مایکروویو تحت توان های ۷۰۰-۳۰۰ وات و زمان های ۱-۳ دقیقه قرار گرفت. پس از فرایند استخراج، مخلوط حاصل سانتریفیوژ گردیده (g، ۱۰۰۰۰، ۴ دقیقه) و پکتین موجود در آن با افزودن دو برابر اتانول ۹۶ درصد رسوب داده شد. در مرحله بعد، مخلوط به دست آمده به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار گرفت. پکتین حاصل پس از شستشو با اتانول (به منظور جداسازی مونوساکاریدها و دی ساکاریدها)، تا رسیدن به وزن ثابت در یک آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. راندمان استخراج پکتین به وسیله معادله زیر محاسبه گردید:

(رابطه ۱)

$$100 \times \frac{\text{وزن پکتین خالص (گرم)}}{\text{وزن پودر خشک (گرم)}} = \text{بازده استخراج (درصد)}$$

اندازه گیری محتوای گالاتورونیک اسید

گالاتورونیک اسید با روش کالریمتریک با استفاده از معرف ۵.۳-دی متیل فنیل اندازه گیری شد (Chaharbaghi *et al.*, 2017). به لوله های آزمایش حاوی ۱ میلی لیتر محلول آبی پکتین با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، ۶ میلی لیتر اسید سولفوریک /تتراپورات اضافه شد. سپس لوله های آزمایش در حمام آب-یخ به منظور سرد شدن قرار گرفت. پس از مخلوط کردن نمونه ها، لوله ها به مدت ۶ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند. پس از سرد شدن در

ضایعات دور ریخته شده و یا به مصرف دام می رسد. بنابراین استفاده از آن به عنوان منبعی برای تولید پکتین نه تنها سبب کاهش آلودگی های محیط زیست شده بلکه سبب تولید یک محصول با ارزش افزوده به منظور تامین نیازهای صنعت کشور می گردد.

در صنعت معمولاً از محلول داغ اسیدهای معدنی برای استخراج پکتین استفاده می شود (Wang *et al.*, 2016). به هر حال، این روش معایبی دارد که از آن می توان به مصرف بالای انرژی، زمان طولانی فرایند، هزینه بالای فرایند، حجم بالای کار و آسیب به محیط زیست اشاره کرد (Hosseini *et al.*, 2016). بنابراین تاکنون از روش های نوین مختلفی شامل استخراج به کمک امواج مایکروویو، امواج فراصوت و روش آنزیمی برای استخراج این پلی ساکارید استفاده شده است (Maric *et al.*, 2018). در بین روش های فوق، استخراج به کمک امواج مایکروویو به دلیل کاهش هزینه، زمان و انرژی مصرفی، کاهش تخریب محیط زیست، سهولت انجام و بهبود راندمان و کیفیت پکتین استحصالی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Kostalova *et al.*, 2016). Hosseini *et al.* (2016) در تحقیقی به بررسی اثر امواج مایکروویو روی راندمان پکتین استخراجی از پوست نارنج پرداختند. این محققین بیان داشتند که پکتین حاصل از روش مایکروویو به مراتب دارای راندمان و کیفیت مطلوب تری نسبت به پکتین حاصل از روش اسیدی بوده است. در تحقیقی دیگر، Kazemi *et al.* (2019a) بیان داشتند که پکتین بدست آمده از پوست پسته به کمک روش مایکروویو دارای راندمان بالاتری نسبت به پکتین بدست آمده با روش های سنتی بوده است.

در استخراج به کمک امواج مایکروویو فاکتورهای مختلفی روی راندمان پکتین استحصالی موثر هستند که از آن ها می توان به توان مایکروویو، زمان فرایند، pH محلول استخراج و نسبت مایع به جامد اشاره کرد (Maran *et al.*, 2014). بنابراین بهینه سازی این فاکتورها برای دستیابی به حداکثر راندمان تولید الزامی به نظر می رسد. طرح باکس-بنکن به عنوان یکی از طرح های روش سطح پاسخ، مجموعه ای از تکنیک های ریاضی و آماری برای پیش بینی یک مدل تجربی است. از مزایای این روش می توان به بررسی همزمان اثر چند فاکتور مستقل روی یک یا چند فاکتور وابسته با استفاده از تعداد آزمون های کمتر اشاره کرد (Khodaiyan *et al.*, 2008).

با توجه به موارد گفته شده، هدف از این تحقیق، بهینه سازی شرایط استخراج پکتین از پوست کمبزه به منظور دستیابی به حداکثر راندمان تولید و همچنین بررسی برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین تولیدی می باشد.

دقیقه)، این فاکتور از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{رابطه ۴)} \quad 100 \times \frac{\text{حجم امولسیون انکوبه شده}}{\text{حجم امولسیون}} = \text{پایداری امولسیفایری (درصد)}$$

طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)

طیف FTIR با دقت ۴ بر سانتی متر و به وسیله اسپکترومتر FTIR پارکین المر (Perkin Elmer Co., MA, USA) با استفاده از روش دیسک پتاسیم برماید در دامنه ۴۰۰۰ تا ۴۵۰ بر سانتی متر رسم گردید (Kazemi et al., 2019c).

آنالیز آماری

جهت بررسی مناسب ترین نسبت حجم مایع به وزن جامد از طرح یک فاکتور در یک زمان (One Factor at the Time) استفاده گردید. در این طرح یک فاکتور متغیر و سایر فاکتورها ثابت در نظر گرفته می شوند. برای این منظور از سطوح مختلف نسبت مایع به جامد ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ به ۱ حجمی/وزنی استفاده شد و سایر فاکتورها در شرایط توان ۵۰۰ وات، زمان ۲ دقیقه و pH برابر با ۲/۲۵ ثابت در نظر گرفته شدند. جهت بهینه سازی سایر فاکتورهای استخراج (توان، زمان و pH) از روش سطح پاسخ (RSM) و طرح باکس-بنکن (Box-Behnken) استفاده شد. سطوح و مقادیر واقعی هر یک از متغیرهای مستقل، در جدول ۱ نشان داده شده است. آنالیز داده در سطح اطمینان ۵ درصد و با استفاده از نرم افزار Minitab 16 انجام شد. تمامی اشکال با استفاده از Excel و Design-Expert 7.0 ترسیم شدند.

جدول ۱- سطوح و مقادیر متغیرهای مستقل

متغیرها	کد و مقادیر واقعی متغیرها		
	-۱	۰	+۱
توان (وات)	۳۰۰	۵۰۰	۷۰۰
زمان (دقیقه)	۱	۲	۳
pH	۱/۵	۲/۲۵	۳

نتایج و بحث

اثر نسبت های مختلف مایع به جامد روی راندمان استخراج پکتین

اثر نسبت های مختلف مایع به جامد روی راندمان استخراج در شکل ۱ نشان داده می شود. با افزایش نسبت مایع به جامد از ۱۵ تا ۲۵ وزنی/حجمی راندمان استخراج از حدود ۳/۶ به ۴/۲ افزایش و پس از آن کاهش یافته است به طوری که کمترین میزان راندمان مربوط به نسبت مایع به جامد ۴۰ وزنی/حجمی بوده است. به نظر می رسد که افزایش راندمان استخراج پکتین در اثر افزایش نسبت مایع به جامد مربوط به افزایش سطح تماس بین حلال و ماتریکس جامد بوده که سبب افزایش سطح استخراج می

حمام آب-یخ، ۱ میلی لیتر معرف به هر یک از لوله های آزمایش افزوده و سپس جذب نمونه ها با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. با مقایسه مقدار جذب خوانده شده با منحنی استاندارد، مقدار گالاکتورونیک اسید محاسبه گردید. برای رسم منحنی استاندارد گالاکتورونیک اسید، از محلول گالاکتورونیک اسید در آب مقطر دیونیزه، رقت های مختلف تهیه شده (۰-۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر) و جذب هر یک از آنها در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد.

اندازه گیری درجه استریفیکاسیون

درجه استریفیکاسیون نمونه های پکتین با روش تیتراسیون اندازه گیری شد (Kazemi et al., 2019b). ۰/۱ گرم پکتین با ۳ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد مرطوب شده و با ۲۰ میلی لیتر آب مقطر روی گرم کن مجهز به همزن مغناطیسی در دمای ۴۰ درجه سلسیوس تا زمان حل شدن کامل به هم زده شد. ۵ قطره فنل فتالین به آن اضافه و با سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار تا ظهور رنگ صورتی کمرنگ تیترا گردید (حجم اولیه). سپس، ۱۰ میلی لیتر از سدیم هیدروکسید مذکور به آن اضافه شده و به منظور هیدرولیز، به مدت ۱۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. در مرحله بعد، ۱۰ میلی لیتر هیدروکلریک اسید ۰/۱ مولار افزوده و تا از بین رفتن کامل رنگ صورتی به هم زده شد و سپس هیدروکلریک اسید باقی مانده با سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار تا ظهور رنگ صورتی کمرنگ تیترا شد (حجم ثانویه). درجه استریفیکاسیون با توجه به معادله زیر محاسبه گردید:

(رابطه ۲)

$$100 \times \frac{\text{حجم ثانویه}}{\text{حجم ثانویه} + \text{حجم اولیه}} = \text{درجه استریفیکاسیون (درصد)}$$

اندازه گیری خصوصیات امولسیفایری

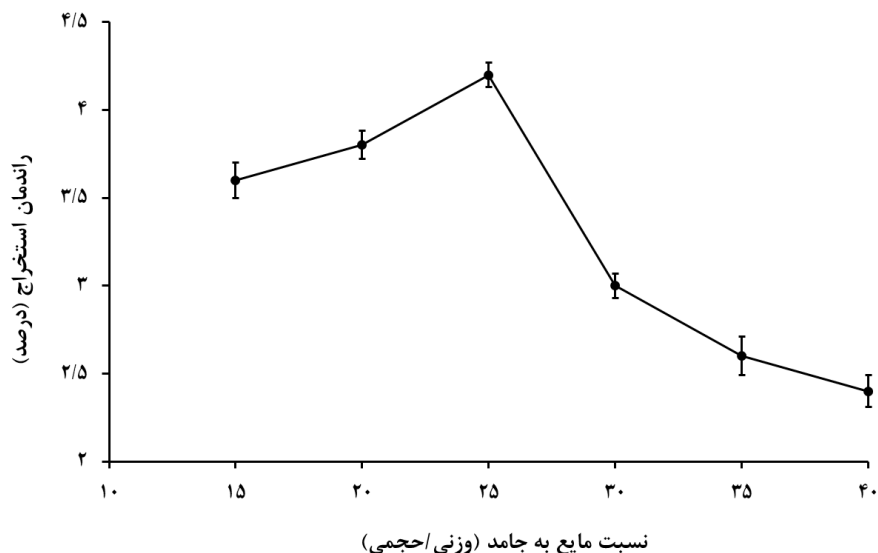
برای بررسی فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون از روش Bayar et al. (2016)، با کمی تغییر استفاده شد. برای تهیه امولسیون، ۵ میلی لیتر روغن آفتاب گردان (اویلا، ایران) به ۵ میلی لیتر محلول پکتین ۵ درصد حجمی/وزنی اضافه شد. در مرحله ی بعد، نمونه ها با همزن نایزر در دور ۱۰۰۰۰ g به مدت ۴ دقیقه مخلوط شدند. در نهایت، میزان فعالیت امولسیفایری پس از سانتریفیوژ امولسیون ها (g ۵۰۰۰، ۵ دقیقه) با رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{رابطه ۳)} \quad 100 \times \frac{\text{حجم امولسیون}}{\text{حجم کل}} = \text{فعالیت امولسیفایری (درصد)}$$

همچنین برای اندازه گیری میزان پایداری امولسیون ها، مخلوط بدست آمده به روش بالا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سلسیوس انکوبه شده و پس از سانتریفیوژ (g ۵۰۰۰، ۵

به ماتریکس جامد می رسد (Hosseini *et al.*, 2016; Kazemi *et al.*, 2019d). با توجه به نتایج بدست آمده، در تحقیق حاضر از نسبت مایع به جامد ۲۵ وزنی/حجمی برای تمامی آزمایشات مربوط به طرح باکس-بنکن استفاده شد.

گردد (Maran *et al.*, 2014). به هر حال، کاهش راندمان استخراج در اثر افزایش بیش از حد نسبت مایع به جامد را می توان به کاهش میزان جذب امواج مایکروویو توسط ماتریکس جامد نسبت داد چرا که بیشتر انرژی این امواج توسط حلال جذب شده و کمتر



شکل ۱- تاثیر نسبت های مختلف مایع به جامد بر راندمان استخراج پکتین

(توان ۶۰۰، زمان ۳ دقیقه و pH برابر با ۱/۵) میزان راندمان استخراج برابر با ۱۹/۴۳ پیش بینی شد که با سه بار تکرار در نقطه مذکور و نزدیکی میزان تجربی بدست آمده ($۱۹/۴ \pm ۰/۳$ درصد) با مقدار پیش بینی شده تایید شد.

بهینه سازی و آنالیز آماری
جدول ۲ نشان می دهد که بیشترین و کمترین راندمان استخراج پکتین به ترتیب مربوط به آزمایش های شماره ۱۰ (۱۹/۴ درصد) و ۲ (۱/۲ درصد) بوده است. همچنین در نقطه بهینه استخراج

جدول ۲- سطوح متغیرهای مستقل (توان، زمان و pH) و پاسخ های مربوط به راندمان استخراج پکتین

تیمارها	متغیرهای مستقل			راندمان اندازه گیری شده (درصد)	راندمان پیش بینی شده (درصد)
	توان (وات)	زمان (دقیقه)	pH		
۱	۳۰۰	۱	۲/۲۵	۱/۴	۱/۴۲
۲	۷۰۰	۱	۲/۲۵	۱/۲	۱/۰۷
۳	۳۰۰	۳	۲/۲۵	۳/۸	۳/۹۲
۴	۷۰۰	۳	۲/۲۵	۶/۴	۶/۳۷
۵	۳۰۰	۲	۱/۵	۱۳	۱۳/۳۰
۶	۷۰۰	۲	۱/۵	۱۵	۱۵/۴۵
۷	۳۰۰	۲	۳/۰	۱/۶	۱/۱۵
۸	۷۰۰	۲	۳/۰	۱/۴	۱/۱۰
۹	۵۰۰	۱	۱/۵	۱۵	۱۴/۶۷
۱۰	۵۰۰	۳	۱/۵	۱۹/۴	۱۸/۹۷
۱۱	۵۰۰	۱	۳/۰	۱/۴	۱/۸۲
۱۲	۵۰۰	۳	۳/۰	۵	۵/۳۲
۱۳	۵۰۰	۲	۲/۲۵	۴/۳	۴/۲۰
۱۴	۵۰۰	۲	۲/۲۵	۳/۸	۴/۲۰
۱۵	۵۰۰	۲	۲/۲۵	۴/۵	۴/۲۰

تعدیل شده (۹۹/۲۰ درصد) برازش خوب مدل را تایید کرد. معادله درجه دو پیش بینی شده جهت دستیابی به حداکثر راندمان استخراج در زیر آورده شده است: (رابطه ۵)

$$\begin{aligned} \text{راندمان استخراج (درصد)} = & 56.63 + 0.047 X_1 - \\ & 2.10 X_2 - 48.67 X_3 - 0.000043 X_1^2 + 0.725 X_2^2 + \\ & 9.378 X_3^2 + 0.0035 X_1 X_2 - 0.00367 X_1 X_3 - \\ & 0.267 X_2 X_3 \end{aligned}$$

نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) در جدول ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود مدل مرتبه دو بدست آمده از لحاظ آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی دار بوده ($p < 0.05$) و از طرفی، بی معنی بودن آزمون عدم برازش (۰/۲۵۷) نشان داد که مدل پیش بینی شده به خوبی با داده های تجربی برازش می شود. همچنین ضریب تبیین محاسبه شده نشان داد که تنها ۰/۲۸ داده ها با مدل پیشنهادی قابل توصیف نمی باشد ($R^2 = 99/72\%$). همچنین بالا بودن ضریب تبیین

جدول ۳- نتایج آنالیز واریانس مربوط به راندمان استخراج پکتین

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ارزش F	ارزش p
رگرسیون	۹	۵۰۷/۵۱	۵۶/۳۹	۱۹۴/۴۵	۰/۰۰۰
خطی	۳	۳۸۳/۷۵	۱۲۷/۹۲	۴۴۱/۰۹	۰/۰۰۰
درجه دوم	۳	۱۲۰/۴۳	۴۰/۱۴	۱۳۸/۴۳	۰/۰۰۰
اثرات متقابل	۳	۳/۳۳	۱/۱۱	۳/۸۳	۰/۰۹۱
خطای باقیمانده	۵	۱/۴۵	۰/۲۹		
آزمون عدم برازش	۳	۱/۱۹	۰/۳۹	۳/۰۵	۰/۲۵۷
خطای خالص	۲	۰/۲۶	۰/۱۳		
کل	۱۴	۵۰۸/۹۶			

بیان داشتند که کاهش pH سبب کاهش وزن مولکولی پکتین و تبدیل شکل های غیر محلول آن به انواع محلول و در نتیجه افزایش راندمان استخراج می گردد.

در تحقیقات متعددی به بررسی زمان استخراج بعنوان یک فاکتور کلیدی روی راندمان تولید پکتین پرداخته شده است (Maran et al., 2015). در این تحقیق همانطور که مشاهده می شود، زمان یک رابطه مستقیم با راندمان استخراج داشته است به طوری که با افزایش زمان فرایند میزان پکتین استحصالی بیشتر بوده است. به طور کلی، با افزایش زمان فرایند، فرصت کافی برای جداسازی پلی ساکارید از ماتریکس جامد ایجاد شده و در نتیجه راندمان افزایش می یابد (Košťálová et al., 2016). این نتیجه در تطابق با گزارشات قبلی به وسیله سایر محققین بوده است (Liew et al., 2016).

درصد گالاکتورونیک اسید

محتوای گالاکتورونیک اسید موجود در ساختار پکتین کلیدی ترین فاکتور برای ارزیابی خلوص این پلی ساکارید می باشد (Yapo et al., 2007). بر اساس قوانین سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد و همچنین اتحادیه اروپا، پکتین مورد استفاده در صنعت غذا باید حداقل دارای ۶۵ درصد گالاکتورونیک اسید باشد (Bagherian et al., 2011). نتایج نشان داد که محتوای

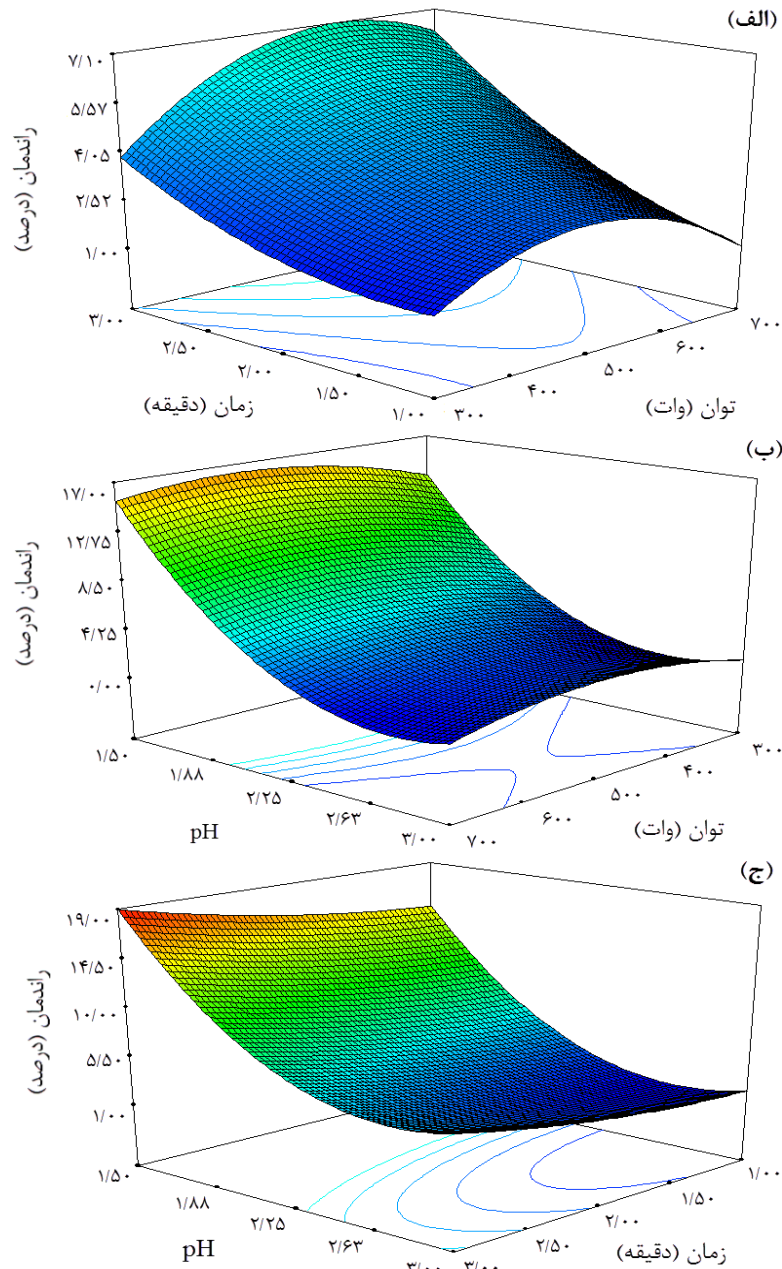
اثر شرایط استخراج روی راندمان تولید پکتین

شکل ۲ اثر شرایط استخراج را روی راندمان تولید پکتین نشان می دهد. همانطور که مشاهده می شود، افزایش توان مایکروویو رابطه مستقیمی با راندمان تولید داشته است، به طوری که افزایش توان مصرفی سبب افزایش راندمان استخراج شده است. افزایش توان مایکروویو می تواند نفوذ حلال به داخل ماتریکس جامد را افزایش داده و موجب افزایش حلالیت پلی ساکارید ها در حلال و در نتیجه افزایش راندمان می گردد (Yan et al., 2010). این نتیجه مشابه با گزارشات Kazemi et al. (2019a) بوده است. این محققین بیان داشتند که با افزایش توان مایکروویو انرژی جذب شده توسط ماتریکس گیاه افزایش یافته و در نتیجه تخریب ساختار دیواره سلولی بیشتر و نهایتاً راندمان استخراج افزایش می یابد.

pH از دیگر فاکتورهای تاثیرگذار روی استخراج پکتین می باشد. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می شود راندمان تولید پکتین رابطه عکس با این فاکتور داشته است. مطالعات نشان داده است که استفاده از حلال اسیدی برای استخراج می تواند سبب تبدیل نوع غیر محلول پکتین به نوع محلول و در نتیجه افزایش راندمان استخراج شود (Faravash & Ashtiani, 2007; El-nawawi & Shehata, 2008). در تحقیقی

منبع پکتین، روش استخراج و شرایط استخراج از جمله فاکتور کلیدی در محتوای گالاتورونیک اسید می باشند. همچنین در مقایسه با سایر منابع می توان بیان داشت که پکتین بدست آمده در این تحقیق دارای محتوای گالاتورونیک اسیدی تقریباً برابر با پکتین پوست بادمجان بوده است (Kazemi *et al.*, 2019a)

گالاتورونیک اسید پکتین بدست آمده در شرایط بهینه استخراج (توان ۶۰۰، زمان ۳ دقیقه و pH برابر با ۱/۵) برابر با $2/04 \pm 65/44$ درصد بوده است که مطابق با قوانین بیان شده می باشد. تا کنون در تحقیقات متعددی این فاکتور مورد بررسی قرار گرفته است و نتایج نشان می دهد که نوع ضایعات استفاده شده بعنوان



شکل ۲- تاثیر فاکتورهای مختلف بر راندمان استخراج پکتین از پوست کمبزه

آمده می توان بیان داشت که پکتین کمبزه جزو پکتین ها با درجه استری بالا بوده و بنابراین قابل استفاده در انواع محصولات غیر رژیمی مانند انواع مرباها و ژله ها می باشد. به هر حال، به مانند بخش قبلی، نوع ضایعات استفاده شده، روش استخراج و شرایط فرایند از جمله فاکتور های کلیدی در میزان درجه استریفیکاسیون پکتین می باشند (Kazemi *et al.*, 2019b).

درجه استریفیکاسیون

همانطور که بیان شد، درجه استریفیکاسیون یکی از مهمترین فاکتورهای تعیین کننده نوع کاربرد پکتین می باشد. نتایج نشان داد که پکتین حاصل از پوست کمبزه در شرایط بهینه (توان ۶۰۰، زمان ۳ دقیقه و pH برابر با ۱/۵) دارای درجه استریفیکاسیون برابر با $2/72 \pm 51/92$ درصد بوده است. با توجه به نتیجه بدست

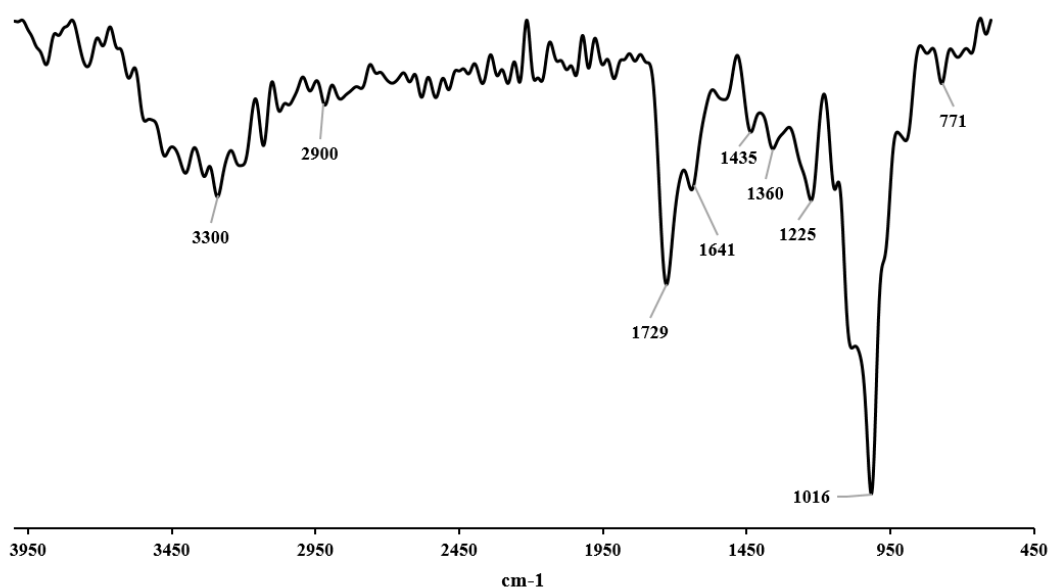
در این تحقیق، به منظور تایید حضور پکتین در سوپرناتانت بدست آمده در شرایط بهینه استخراج (توان ۶۰۰، زمان ۳ دقیقه و pH برابر با ۱/۵) از طیف FTIR استفاده شد (شکل ۳). ناحیه جذبی قوی در حدود ۳۳۰۰ بر سانتی متر مربوط به گروه‌های هیدروکسیل موجود در قسمت‌های مختلف ساختار پلیمر گالاکتورونیک اسید است. پیک موجود در موج حدود ۲۹۰۰ بر سانتی متر مربوط به ارتعاشات C-H می‌باشد که شامل ارتعاشات خمشی و کششی گروه‌های CH₂، CH₃ است (Santos *et al.*, 2018; Pasandide *et al.*, 2013). به همین ترتیب، پیک حدود ۱۷۲۹ مربوط به ارتعاشات O-CH₃ می‌باشد. گروه‌های کربوکسیلات دارای دو پیک هستند: (۱) ارتعاشات کششی نامقارن در حدود ۱۶۴۱ بر سانتی متر، (۲) ارتعاشات کششی مقارن ضعیف‌تر در حدود ۱۴۳۵ بر سانتی متر. دو پیک جذبی قوی در حدود ۱۱۰۰ و ۱۰۱۶ مربوط به پیوندهای گلیکوزیدی بین واحد‌های قندی می‌باشند. به طور کلی به مجموع پیک‌های ناحیه بین ۱۲۰۰ و ۸۰۰، منطقه اثر انگشت گویند که یک ناحیه منحصر به فرد بوده (Kostalova *et al.*, 2013) و تفسیر باندهای آن عموماً دشوار است. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان بیان داشت که پکتین بدست آمده غنی از پلی گالاکتورونیک اسید بوده است.

تحقیقاتی مشابه، (Pasandide *et al.*, 2017) درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی از پوست بالنگ را ۷۷/۲ درصد گزارش نمودند. در حالی که این فاکتور برای پکتین پوست نارنج حدود ۲۳ درصد بوده است (Hosseini *et al.*, 2016).

خصوصیات امولسیفایری

در این پژوهش، فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون پکتین حاصل از پوست کمبزه در شرایط استخراج گفته شده در بالا (شرایط بهینه)، مورد بررسی قرار گرفت. پس از تشکیل امولسیون‌ها سه فاز مشاهده شد. فاز روغن به دلیل چگالی کمتر در بالا و فاز محلول به دلیل چگالی بیشتر در پایین و فاز امولسیون به دلیل چگالی متوسط در وسط قرار گرفتند. نتایج نشان داد که فعالیت امولسیفایری که بنا به تعریف حجم لایه امولسیون به حجم کل می‌باشد برابر با $1/15 \pm 63/33$ درصد بوده است که بالاتر از نتایج گزارش شده برای پکتین چغندر قند به میزان ۳۳/۵ درصد است. همچنین امولسیون‌ها پس از ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰°C پایداری برابر با $1/91 \pm 89/98$ درصد داشته‌اند. این نتیجه نشان می‌دهد که امولسیون حاصل از پکتین پوست کمبزه دارای پایداری تقریباً مشابهی با پکتین کاکتوس بوده است (Bayar *et al.*, 2016).

بررسی طیف FTIR



شکل ۳- طیف FTIR پکتین استخراج شده در شرایط بهینه در دامنه فرکانس ۴۵۰-۴۰۰۰ بر سانتی متر

وات، pH برابر با ۱/۵ و زمان فرایند ۳ دقیقه حاصل شد. همچنین بررسی محتوای گالاکتورونیک اسید و درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی در شرایط بهینه نشان داد که پکتین حاصل از خلوص مطلوبی بر خوردار بوده و جزو پکتین‌ها با درجه استری

نتیجه گیری کلی

در این تحقیق، به بهینه سازی استخراج به کمک امواج مایکروویو پکتین از پوست کمبزه پرداخته شد. نتایج نشان داد که حداکثر راندمان استخراج ($19/4 \pm 0/3$) در شرایط توان مایکروویو ۶۰۰

پایداری قابل قبولی بوده اند. به طور کلی می توان بیان داشت که پکتین حاصل از پوست کمبزه قابلیت استفاده از مواد غذایی را در کنار پکتین های تجاری دارا است.

بالا می باشد. بررسی خصوصیات امولسیفایری نشان داد که فعالیت امولسیفایری محلول ۰/۰۵ درصد پکتین حاصل برابر با $1/15 \pm 63/33$ درصد بوده و همچنین امولسیون ها دارای

REFERENCES

- Bagherian, H., Ashtiani, F. Z., Fouladitajar, A. & Mohtashamy, M. (2011). Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50(11), 1237-1243.
- Bayar, N., Kriaa, M. & Kammoun, R. (2016). Extraction and characterization of three polysaccharides extracted from *Opuntia ficus indica* cladodes. *International journal of biological macromolecules*, 92, 441-450.
- Chaharbaghi, E., Khodaiyan, F. & Hosseini, S. S. (2017). Optimization of pectin extraction from pistachio green hull as a new source. *Carbohydrate polymers*, 173, 107-113.
- Chan, S. Y. & Choo, W. S. (2013). Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. *Food Chemistry*, 141(4), 3752-3758.
- de Oliveira, C. F., Giordani, D., Lutkemier, R., Gurak, P. D., Cladera-Olivera, F. & Marczak, L. D. F. (2016). Extraction of pectin from passion fruit peel assisted by ultrasound. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 110-115.
- El-Nawawi, S. A. & Shehata, F. R. (1988). Effect of the extraction temperature on the characteristics of pectin extracted from Egyptian orange peel. *Biological Wastes*, 24, 307-311.
- Faravash, R. S. & Ashtiani, F. Z. (2007). The effect of pH, ethanol volume and acid washing time on the yield of pectin extraction from peach pomace. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 1177-1187.
- Hosseini, S. S., Khodaiyan, F. & Yarmand, M. S. (2016). Aqueous extraction of pectin from sour orange peel and its preliminary physicochemical properties. *International journal of biological macromolecules*, 82, 920-926.
- Kazemi, M., Khodaiyan, F., Labbafi, M., Hosseini, S. S. & Hojjati, M. (2019a). Pistachio green hull pectin: Optimization of microwave-assisted extraction and evaluation of its physicochemical, structural and functional properties. *Food chemistry*, 271, 663-672.
- Kazemi, M., Khodaiyan, F. & Hosseini, S. S. (2019b). Eggplant peel as a high potential source of high methylated pectin: Ultrasonic extraction optimization and characterization. *LWT*, 105, 182-189.
- Kazemi, M., Khodaiyan, F., Hosseini, S. S. & Najari, Z. (2019c). An integrated valorization of industrial waste of eggplant: Simultaneous recovery of pectin, phenolics and sequential production of pullulan. *Waste Management*, 100, 101-111.
- Kazemi, M., Khodaiyan, F. & Hosseini, S. S. (2019d). Utilization of food processing wastes of eggplant as a high potential pectin source and characterization of extracted pectin. *Food chemistry*, 294, 339-346.
- Khodaiyan, F., Razavi, S. H. & Mousavi, S. M. (2008). Optimization of canthaxanthin production by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 from cheese whey using statistical experimental methods. *Biochemical Engineering Journal*, 40(3), 415-422.
- Korish, M. (2015). Faba bean hulls as a potential source of pectin. *Journal of food science and technology*, 52(9), 6061-6066.
- Kostalova, Z., Hromadkova, Z., Ebringerova, A., Polovka, M., Michaelsen, T. E. & Paulsen, B. S. (2013). Polysaccharides from the *Styrian oilpumpkin* with antioxidant and complement-fixing activity. *Industrial Crops and Products*, 41, 127-133.
- Kostalova, Z., Aguedo, M. & Hromadkova, Z. (2016). Microwave-assisted extraction of pectin from unutilized pumpkin biomass. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 102, 9-15.
- Liew, S. Q., Ngoh, G. C., Yusoff, R. & Teoh, W. H. (2016). Sequential ultrasound-microwave assisted extraction (UMAE) of pectin from pomelo peels. *International journal of biological macromolecules*, 93, 426-435.
- Liu, L., Fishman, M. L. & Hicks, K. B. (2007). Pectin in controlled drug delivery—a review. *Cellulose*, 14(1), 15-24.
- Liu, L., Cao, J., Huang, J., Cai, Y. & Yao, J. (2010). Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark. *Bioresource technology*, 101(9), 3268-3273.
- Liu, L., Jiang, T. & Yao, J. (2011). A two-step chemical process for the extraction of cellulose fiber and pectin from mulberry branch bark efficiently. *Journal of Polymers and the Environment*, 19(3), 568.
- Maleki, M., Shojaeiyan, A. & Monfared, S. R. (2018). Population structure, morphological and genetic diversity within and among melon (*Cucumis melo* L.) landraces in Iran. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 599-606.
- Maran, J. P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K. & Sridhar, R. (2013). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydrate polymers*, 97(2), 703-709.
- Maran, J. P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K. & Sridhar, R. (2014). Microwave assisted extraction of pectin from waste *Citrullus lanatus*

- fruit rinds. *Carbohydrate polymers*, 101, 786-791.
- Maran, J. P., Swathi, K., Jeevitha, P., Jayalakshmi, J. & Ashvini, G. (2015). Microwave-assisted extraction of pectic polysaccharide from waste mango peel. *Carbohydrate polymers*, 123, 67-71.
- Maric, M., Grassino, A. N., Zhu, Z., Barba, F. J., Brncic, M. & Brncic, S. R. (2018). An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in Food Science & Technology*, 76, 28-37.
- Mesbahi, G., Jamalian, J. & Farahnaky, A. (2005). A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. *Food Hydrocolloids*, 19(4), 731-738.
- Pasandide, B., Khodaiyan, F., Mousavi, Z. E. & Hosseini, S. S. (2017). Optimization of aqueous pectin extraction from *Citrus medica* peel. *Carbohydrate polymers*, 178, 27-33.
- Pasandide, B., Khodaiyan, F., Mousavi, Z. & Hosseini, S. S. (2018). Pectin extraction from citron peel: optimization by Box–Behnken response surface design. *Food science and biotechnology*, 27(4), 997-1005.
- Pereira, P. H. F., Oliveira, T. Í. S., Rosa, M. F., Cavalcante, F. L., Moates, G. K., Wellner, N., Waldron, K.W. & Azeredo, H. M. (2016). Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid. *International journal of biological macromolecules*, 88, 373-379.
- Ptichkina, N. M., Markina, O. A. & Romyantseva, G. N. (2008). Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes. *Food hydrocolloids*, 22(1), 192-195.
- Santos, J. D. G., Espeleta, A. F., Branco, A. & de Assis, S. A. (2013). Aqueous extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate Polymers*, 92(2), 1997–2001.
- Santos, J. D. G., Vieira, I. J. C., Braz-Filho, R. & Branco, A. (2015). Chemicals from *Agave sisalana* biomass: isolation and identification. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), 8761-8771.
- Wang, W., Ma, X., Jiang, P., Hu, L., Zhi, Z., Chen, J., Ding, T., Ye, X. & Liu, D. (2016). Characterization of pectin from grapefruit peel: A comparison of ultrasound-assisted and conventional heating extractions. *Food Hydrocolloids*, 61, 730-739.
- Yan, M.-M., Liu, W., Fu, Y.-J., Zu, Y.-G., Chen, C.-Y. & Luo, M. (2010). Optimisation of the microwave-assisted extraction process for four main astragalosides in *Radix Astragali*. *Food Chemistry*, 119, 1663–1670.
- Yapo, B. M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B. & Paquot, M. (2007). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, 100(4), 1356–1364.