

ارزیابی برخی از ویژگی‌های عملکردی پکتین استخراجی از پوست انار به روش مایکروویو

بهروز اکبری آدرگانی^{a*}، پگاه زیوری شایسته^b، رضوان پوراحمد^c

^aاستاد مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

^bکارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^cدانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

چکیده

مقدمه: پکتین مخلوط پیچیده‌ای از پلی ساکاریدهای موجود در دیواره سلولی گیاهان است. هدف از این تحقیق ارزیابی راندمان استخراج پکتین از پوست انار با استفاده از امواج مایکروویو و بررسی برخی از ویژگی‌های عملکردی آن می‌باشد.

مواد و روش‌ها: پس از بهینه‌سازی استخراج، برخی از ویژگی‌های عملکردی پکتین استخراج شده از پوست انار شامل درجه استریفیکاسیون، محتوای گالاکتورونیک اسید، خواص امولسیفایری، پایداری امولسیون، ظرفیت نگهداری آب و روغن، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و رفتار طیف مادون قرمز مورد بررسی قرار گرفت. استخراج پکتین از پوست انار به عنوان یک منبع فراوان و در دسترس برای اولین بار به روش مایکروویو در دمای ۱۲۰ °C در نسبت معین جامد به مایع تحت شرایط مختلف pH (۱/۵، ۲/۲۵ و ۳/۰)، در زمان‌های مختلف (۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ ثانیه) و در سه سطح انرژی (۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ وات) انجام شد.

یافته‌ها: بازده استخراج پکتین در شرایط بهینه (توان ۷۰۰ وات، زمان ۱۲۰ ثانیه و pH برابر با ۱/۵) ۲۰/۴۲ درصد بدست آمد. درجه استری شدن پکتین برابر با ۳۳/۲۴ درصد، محتوای گالاکتورونیک اسید ۷۵/۳۵ درصد و فعالیت امولسیفایری آن برابر با ۵۶/۴ درصد بود و امولسیون به دست آمده در دمای ۴ °C نسبت به امولسیون حاصل در دمای ۲۴ °C پایدارتر بود. ظرفیت نگهداری آب و روغن به ازای هر گرم از پکتین استخراج شده به ترتیب برابر با ۳/۸۶ و ۲/۱۳ گرم بدست آمد.

نتیجه‌گیری: استفاده از پکتین استخراج شده از پوست انار به روش مایکروویو راندمان مناسبی دارد و ویژگی‌های عملکردی بسیار خوب آن می‌تواند زمینه را برای بکارگیری آن در برخی از فرمولاسیون‌های غذایی به همراه داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: استخراج مایکروویو، پکتین، پوست انار، درجه استریفیکاسیون، ویژگی‌های عملکردی

مقدمه

پکتین مخلوطی از پلی ساکاریدهای پیچیده است که بخش اعظم آن را گالاکتورونیک اسید و قندهای طبیعی تشکیل می‌دهد از این ترکیب بعنوان یک افزودنی طبیعی، به طور گسترده در صنعت غذا به عنوان ثبات‌دهنده، بافت‌دهنده، امولسیفایر، پایدارکننده و ژل‌کننده مورد استفاده قرار می‌گیرد (Maran et al., 2013). پکتین همچنین در صنعت داروسازی، به منظور کاهش کلسترول خون و تسکین درد (Liu et al., 2010)، پیشگیری از بیماری‌های قلبی و سنگ صفرا مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bagherian et al., 2011). با توجه به خواص کاربردی و تغذیه‌ای پکتین مصرف آن رو به افزایش است (سالپانه ۳۰۰۰۰ تن در جهان) و هر سال به میزان ۴ تا ۵ درصد، مصرف آن افزایش می‌یابد. پکتین مخلوط پیچیده‌ای از پلی‌ساکاریدها و قندها است که در دیواره سلولی و حد واسط بین سلول‌های^۱ بافت گیاهی قرار دارد و بخش مهمی از دیواره سلولی اکثر گیاهان را تشکیل می‌دهد (Maran et al., 2014). ترکیب اصلی پکتین، ستونی از گالاکتورونیک اسید با پیوند آلفا ۱ به ۴ می‌باشد، که قندهای خنثی بصورت زنجیره فرعی به آن متصل هستند و معمولاً ترکیبات پکتیکی دارای مقادیر مشخصی از رامنوز، آرابینوز و گالاکتوز می‌باشند (Li et al., 2012). بعضی از این گالاکتورونیک اسیدها به وسیله کربن شماره ۶ با متیل و برخی دیگر به وسیله اکسیژن شماره ۲ و ۳ با استیل، استری شده‌اند (Santos et al., 2013). از جمله مهم‌ترین خصوصیات ساختار شیمیایی پکتین، درجه استریفیکاسیون آن بوده، که بنا به تعریف نشانگر تعداد مول‌های متانول به ازای ۱۰۰ مول گالاکتورونیک اسید است (Santos et al., 2013). پکتین بر اساس درجه استریفیکاسیون، به دو دسته پکتین با درجه استری بالا (بالای ۵۰ درصد) و پکتین با درجه استری پایین (کمتر از ۵۰ درصد) تقسیم می‌شود (Liu et al., 2010). پکتین با درجه استری بالا و پایین دارای ویژگی‌های فیزیوشیمیایی مختلفی بوده، در نتیجه دارای کاربرد متفاوتی می‌باشند (Chan and Choo, 2013). پکتین با درجه استری پایین، برای تولید محصولات با شکر کم مثل ژله‌ها و مرباهای کم‌کالری

بسیار مناسب است و پکتین با درجه استری بالا به عنوان تثبیت‌کننده در شیرینی‌ها و پایدارکننده در بستنی‌ها کاربرد دارد (Chan and Choo, 2013). امروزه پکتین تجاری از پوست مرکبات، تفاله سیب و چغندر قند بدست می‌آید ولی محققین و تولیدکنندگان به دنبال منابع جدید بوده و مطالعات زیادی روی پکتین محصولات دیگر، نظیر پوست کاکائو (Chan and Choo, 2013)، پوست شاخه شاه‌توت (Pagan et al., 2001)، تفاله هلو (Liu et al., 2006)، تفاله لوبیا، دانه آفتاب‌گردان، پوست درخت انبه (Basanta et al., 2012)، پوست هندوانه (Maran et al., 2014)، پوست سویا (Kalapathy and Proctor, 2001)، کدو حلوی (Ptichkina et al., 2008) و پوست موز (Qiu et al., 2010) انجام داده‌اند. به رغم کاربردهای فراوان، متفاوت و ویژگی‌های قابل ملاحظه‌ای که مواد پکتینی دارند، متأسفانه در ایران هنوز تولید تجاری این مواد با ارزش گسترده نشده و پژوهش‌های انجام شده در این زمینه نیز بسیار ناچیز است. در این پژوهش ضمن در نظر داشتن روش‌های استخراج مناسب، میزان ضایعات میوه و در دسترس بودن آن مورد توجه قرار گرفته و روش علمی مؤثری برای استخراج پکتین از پوست انار ارائه شده و ویژگی‌های عملکردی پکتین حاصل مورد بررسی قرار گرفته است.

انار با نام علمی *Punica granatum* یکی از میوه‌های درختی است که دانه‌هایی اغلب قرمز و گاهی سفیدی رنگ‌هایی بین آن دو (صورتی) دارد. رنگ پوست آن نیز اغلب قرمز و گاهی سیاه یا تقریباً زرد است (Amirasgari and Mirsaedghazi, 2014). میوه انار هم به صورت تازه مصرف شده و هم از آن در تهیه نوشیدنی‌ها و انواع محصولات دیگر استفاده می‌شود (Fraeye et al., 2010). حدود یک سوم از وزن خشک انار کامل را پوست انار تشکیل می‌دهد که اغلب این پوست در کارخانجات تولید آبمیوه به عنوان ضایعات دفع یا در بهترین حالت تبدیل به خوراک دام یا کود کشاورزی می‌گردد درحالی که این پوست محتوای مواد بسیار ارزشمند و مغذی از جمله انواع آنتی‌اکسیدان‌ها، اسیدهای چرب و کربوهیدرات‌هایی مانند پکتین می‌باشد (Al-Rawahi et al., 2013). استفاده از

¹ Middle Lamella

بررسی برخی از ویژگی‌های عملکردی آن شامل درجه استریفیکاسیون، محتوای گالاکتورونیک اسید، خواص امولسیفایری، پایداری امولسیون، ظرفیت نگهداری آب و روغن، ظرفیت آنتی اکسیدانی و رفتار طیف مادون قرمز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- تهیه و آماده سازی نمونه

پوست انار لازم جهت استخراج پکتین، از نمونه‌های متوسط و سالم انار تهیه شد که از استان البرز، شهرستان کرج (میادین میوه و تره بار محلی) از رقم قچاق خریداری و به آزمایشگاه منتقل شد. پوست انار پس از قطعه قطعه شدن با آب شستشو شده و قطعات به دست آمده در یک سینی از جنس استیل ضد زنگ در دمای ۵۰ درجه سلسیوس (در حدود ۲۴ ساعت) خشک گردید تا به وزن ثابت برسند. تفاله خشک شده با آسیاب کاملاً خرد و به پودر تبدیل گردید و به منظور جداسازی ذرات درشت و پودر نشده با مش شماره ۴۰ الک گردید. پودر به دست آمده در یک کیسه پلی اتیلنی غیر قابل نفوذ به رطوبت و در محیط خشک برای انجام آزمایشات بعدی نگهداری شد.

۷

- استخراج پکتین از پوست انار با استفاده از امواج مایکروویو

جهت جداسازی پکتین از پوست انار از حلال آبی (اتانول ۹۶ درصد) استفاده شد. بدین منظور اتانول به نسبت یک به یک به محلول آبی اضافه شد و سپس محلول حاوی الککل به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ °C نگهداری شد. پس از این مدت پکتین در محلول به صورت ابری دیده شد که با استفاده از سانتریفوژ با شتاب ثقل $g \times 10000$ پس از مدت ۱۵ دقیقه، جداسازی انجام شد. بعد از شستشوی بخش حاوی پکتین (۲ بار با الککل ۹۶ درصد)، فاز جامد در آن با دمای ۵۰ °C، به مدت ۱۶ ساعت خشک گردید (Minkov et al., 1996). نمونه‌های خشک شده تا زمان آزمون در ظروف تفلونی در دمای یخچال نگهداری شدند. به منظور تهیه پیش تیمار استخراج پکتین از پوست انار از سطوح مختلف نسبت مایع به جامد استفاده شد و سایر فاکتورها (توان ۵۰۰ وات، زمان

آب و محلول‌های اسیدی برای استخراج پکتین از روش‌های سنتی و پرکاربرد تولید این فراورده می‌باشد (Basanta et al., 2012). با توجه به زمان‌بر و نیاز به نیروی انسانی بیشتر در روش‌های سنتی، امروزه از روش‌های نوینی چون استخراج به کمک امواج مایکروویو و فراصوت به منظور استخراج پکتین از منابع مختلف استفاده می‌شود. تاکنون مطالعات متعددی در زمینه‌ی استخراج آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات فنولیک از پوست انار صورت گرفته است (Hamedi et al., 2018; Amirasgari and Mirsaedghazi, 2014; Akbarpour et al., 2009; Liu et al., 2007) در حالی که به کربوهیدرات‌هایی مانند پکتین که عمده‌ترین ترکیب تشکیل‌دهنده‌ی این ضایعات می‌باشند، کمتر توجه شده است. روش‌های استخراج پکتین متفاوت بوده و هریک به روش متفاوتی انجام می‌شود. جویی و لوزیو نشان داده‌اند که استخراج با بازده بالای پکتین غیرحساس به کلسیم با بکارگیری محلول اسیدی انجام می‌شود. در این مطالعه، پکتین باقیمانده با اسید قوی از محصول استخراج گردیده که حساس به کلسیم بوده است (Joye and Luzio, 2000). به هرحال، گزارشی در مورد استخراج پکتین با حلال‌های خنثی وجود ندارد و درصد حلال مورد نیاز برای استخراج پکتین، مشخص نشده است. استخراج به روش مایکروویو یکی از مناسب‌ترین روش‌ها در تولید پکتین می‌باشد که هم راندمان تولید بالایی دارد و هم کیفیت پکتین تولید شده مناسب می‌باشد (Lanrewaju et al., 2017). سایر روش‌های استخراج، هریک به اندازه‌ای پکتین استخراجی را تخریب می‌کنند. استخراج با امواج مایکروویو یکی از روش‌های استخراجی است که در زمان کمتر از ۵ دقیقه امکان استخراج پکتین را فراهم می‌سازد (Fishman et al., 2000).

پکتین‌ها همگی توسط میزان بالای گالاکتورونیک اسید توصیف می‌شوند و با توجه به نظر سازمان خواروبار و کشاورزی ملل متحد (FAO) و اتحادیه اروپا (EU)، پکتین باید حداقل ۶۵ درصد گالاکتورونیک اسید داشته باشد (Bagherian et al., 2011). گالاکتورونیک اسید ترکیب اصلی پکتین بوده و با تعیین مقدار آن می‌توان خلوص پکتین رسوب داده شده با الککل را تخمین زد (Garna et al., 2007). هدف از این تحقیق ارزیابی راندمان استخراج پکتین از پوست انار با استفاده از پیش تیمار مایکروویو و

$$DE (\%) = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \times 100$$

اندازه‌گیری محتوی گالاتورونیک اسید در پکتین - تعیین میزان گالاتورونیک اسید یکی از روش‌های تایید حضور پکتین در محصولات مختلف می‌باشد. در مطالعه حاضر از روش متاهیدروکسی دی فنیل استفاده شد (Bahrapour and Akbari-adergani, 2018). به این صورت برای هر نمونه، ۳ لوله آزمایش انتخاب شد. دو لوله آزمایش برای اندازه‌گیری جذب نمونه حاوی پکتین و یکی برای نمونه شاهد. لوله‌های برچسب گذاری شده در حمام یخ قرار داده شد تا سرد شود. همچنین محلول تترابورات سدیم در اسید سولفوریک نیز در طول انجام آزمایش در حمام یخ قرار داده شد. یک میلی‌لیتر از محلول پکتینی تهیه شده (۰/۵ گرم پکتین در یک بالن حجمی ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی آب مقطر دیونیزه) به هر کدام از ۳ لوله آزمایش برچسب گذاری شده، منتقل شد و برای چند دقیقه اجازه داده شد که محلول داخل لوله‌ها سرد شود. ۶ میلی‌لیتر محلول تترابورات سدیم به هر ۳ لوله آزمایش اضافه شد. لوله‌های ورتکس شدند تا محتویات آنها کاملاً مخلوط شوند. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۶ دقیقه در حمام آب جوش ۱۰۰°C حرارت دهی شدند. پس از این کار لوله‌ها به حمام یخ منتقل شده و سرد شدند. ۰/۱ میلی‌لیتر (۱۰۰ میکرولیتر) از معرف متاهیدروکسی دی فنیل به دو لوله آزمایش حاوی نمونه پکتینی اضافه شد تا رنگ صورتی ایجاد شود. به لوله آزمایش حاوی نمونه شاهد نیز ۰/۱ میلی‌لیتر محلول سدیم هیدروکسید ۰/۵ درصد اضافه شد. هر ۳ لوله آزمایش ورتکس شدند تا محتویات آنها کاملاً مخلوط شوند. لوله‌های آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت اتاق باقی ماندند و پس از این مدت جذب آنها با استفاده از اسپکتروفتومتر ماورای بنفش و در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فعالیت امولسیفایری پکتین استخراج شده

در این تحقیق از روش دالو و همکاران با کمی تغییر برای اندازه‌گیری فعالیت امولسیفایری (EA) استفاده شد. بدین منظور ۵ میلی‌لیتر روغن آفتاب گردان را با ۵ میلی‌لیتر محلول پکتین ۰/۵ وزنی/ وزنی مخلوط کرده و

پرتودهی برابر با ۲ دقیقه و pH برابر با ۲/۲۵ ثابت در نظر گرفته شدند. محلول تهیه شده با نسبت معین جامد به مایع (وزنی/حجمی) و در سه بازه‌ی pH مشخص (۱/۵، ۲/۲۵ و ۳/۰)، داخل محفظه مایکروویو (Milestone, Ethos One, Italy) در معرض ۳ توان مختلف (۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ وات) در ۳ زمان تعیین شده (۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ ثانیه) قرار گرفت. پس از طی فرایند استخراج، ذرات معلق و ناخالصی‌های غیر قابل حل توسط سانتریفوژ با شتاب ثقل $10000 \times g$ به مدت ۲۰ دقیقه جدا شدند. (Thermo Scientific Heraeus Biofuge Stratos, Langensfeld, Germany).

تعیین بازده استخراج پکتین استخراج شده

بازده تولید پکتین با توجه به معادله زیر محاسبه می‌گردد (Minkov et al., 1996):

$$\text{راندمان} (\%) = \frac{m}{m_0} \times 10$$

در این معادله m وزن پکتین خالص به دست آمده و m₀ وزن پودر پوست انار اولیه می‌باشد.

اندازه‌گیری درجه استریفیکاسیون پکتین

درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی با استفاده از روش UPS انجام شد (USP NF 21, 2003). به این منظور ۰/۱ گرم پکتین خشک داخل ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شده و سپس با ۳ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد مخلوط شد. در مرحله بعد، ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شده و روی گرم‌کن مجهز به همزن مغناطیسی در دمای ۴۰°C تا زمان حل شدن کامل پکتین به هم زده شد. ۵ قطره فنل فتالین به آن اضافه شده و با سدیم‌هیدروکسید ۰/۱ مولار تا ظهور رنگ صورتی کم‌رنگ تیترا گردید (V₁). سپس، ۱۰ میلی‌لیتر سدیم‌هیدروکسید ۰/۱ مولار اضافه کرده و به مدت ۱۵ دقیقه برای هیدرولیز بر روی همزن مغناطیسی (IKA, ساخت آلمان) به هم زده شد. در مرحله بعد، ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید ۰/۱ مولار اضافه شده و تا از بین رفتن کامل رنگ صورتی به هم زده شد و سپس هیدروکلریک اسید باقی مانده با سدیم‌هیدروکسید ۰/۱ مولار تا ظهور رنگ صورتی تیترا شد (V₂). درجه استریفیکاسیون با توجه به معادله مقابل محاسبه گردید:

می‌باشد. این روش مبتنی بر به دام‌اندازی میزان رادیکال‌های آزاد ماده‌ای به نام ۲و۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) با استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. به این منظور ۱ گرم از پکتین استخراج شده پوست انار در شرایط بهینه در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر دیونیزه حل شد و به عنوان محلول استوک با غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر در نظر گرفته شد. سپس، به منظور تهیه محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH، ۳۹/۴ میلی گرم از DPPH با متانول مخلوط شده و در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتر، به حجم رسانده شد. ۱ میلی لیتر از محلول پکتین در غلظت‌های ۱، ۲، ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر به ۴ میلی لیتر از محلول DPPH اضافه گردید. مخلوط آماده شده با استفاده از ورتکس به شدت هم زده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و محلی تاریک نگهداری گردید. در نهایت، جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شده و یادداشت گردید. به منظور دستیابی به درصد مهار رادیکال DPPH، از رابطه زیر استفاده گردید:

DPPH antiradical activity (%):

$$\left[1 - \left(\frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right) \right] \times 100$$

A_{sample} برابر با جذب نمونه و A_{control} برابر با جذب نمونه کنترل می‌باشد. برای مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی پکتین از محلول آسکوربیک اسید استفاده شده است.

- تعیین ظرفیت نگهداری آب و روغن

به این منظور از روش Betancur-Ancona و همکاران (۲۰۰۴) استفاده شد. جهت اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب، یک گرم از پکتین پوست انار در داخل یک لوله آزمایش ۱۵ میلی‌لیتری توزین و ۱۰ میلی لیتر آب مقطر دیونیزه به آن افزوده شد. سپس، مخلوط با شدت بالا به مدت ۱ دقیقه ورتکس شد. در مرحله‌ی بعد، مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه و در دور $2300 \times g$ سانتریفوژ شد. در گام بعدی، مایع بالای (سوپرناتانت) دور ریخته شد و به مدت ۱۵ دقیقه لوله آزمایش به صورت وارونه روی کاغذ صافی قرار گرفت تا آب اضافی و باند نشده آن به طور کامل خارج گردد. محتویات باقی مانده را وزن کرده و از وزن اولیه لوله آزمایش و وزن اولیه پکتین (۱ گرم) کسر شد و عدد باقی

۰/۰۲ درصد سدیم آزید برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها به آن اضافه شد. در مرحله بعد، نمونه‌ها به کمک یک دستگاه هموژنایزر (IKA, Germany) در دور ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۴ دقیقه به خوبی همگن شد. سپس امولسیون ایجاد شده برای ۵ دقیقه در دور $4000 \times g$ سانتریفوژ شد. فعالیت امولسیفایری به کمک این معادله محاسبه می‌شود (Dalev and Simeonova, 1995):

$$EA (\%) = \frac{ELV}{W_v} \times 100$$

در معادله بالا، EA فعالیت امولسیون، ELV حجم لایه امولسیون شده و W_v حجم کل محلول می‌باشد. برای اندازه‌گیری پایداری امولسیون (ES)، نمونه‌ها به روش بالا تهیه شده و در دماهای متفاوت (۴ و ۲۳ درجه سلسیوس) به مدت ۳۰ روز قرار گرفته و پایداری ارزیابی شد.

$$ES (\%) = \frac{VE_r}{VE_i} \times 100$$

ES پایداری امولسیون، VE_r حجم لایه امولسیون باقی مانده و VE_i حجم لایه امولسیون اولیه می‌باشد.

- تعیین ساختار پکتین استخراجی به وسیله‌ی طیف FT-IR

این روش به عنوان روشی پر قدرت و توسعه یافته برای تعیین ساختار و اندازه‌گیری گونه‌های شیمیایی و همچنین برای شناسایی ترکیبات آلی به کار می‌رود، زیرا طیف‌های این ترکیبات معمولاً پیچیده هستند و تعداد زیادی پیک‌های بیشینه و کمینه دارند که می‌توانند برای اهداف مقایسه‌ای به کار گرفته شوند. در این مطالعه، طیف FT-IR با دقت 4 cm^{-1} و بوسیله اسپکترومتر FT-IR Perkin Elmer Co., MA, USA) با استفاده از روش دیسک پتاسیم برماید (KBr) در دامنه 4000 تا 450 cm^{-1} رسم گردید (Kazemi et al., 2019).

- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه استخراجی پکتین

به این منظور از روش Chaouch و همکاران (۲۰۱۵) استفاده شده است. این روش یکی از روش‌های مرسوم برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های گیاهی

برابر با ۲/۲۵) ثابت در نظر گرفته شدند. جهت بهینه‌سازی اثر شرایط استخراج (توان مایکروویو، زمان پرتودهی و pH) از روش سطح پاسخ و طرح باکس- بنکن و نرم‌افزار Design Expert Ver. 7.0 استفاده شد و هریک از پارامترهای مؤثر بر استخراج تحت شرایط مختلف pH (۱/۵، ۲/۲۵ و ۳/۱۰)، در زمان‌های مختلف (۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ ثانیه) و در سه سطح انرژی (۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ وات) مورد آنالیز قرار گرفت. آنالیز داده در سطح احتمال ۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16 انجام شد.

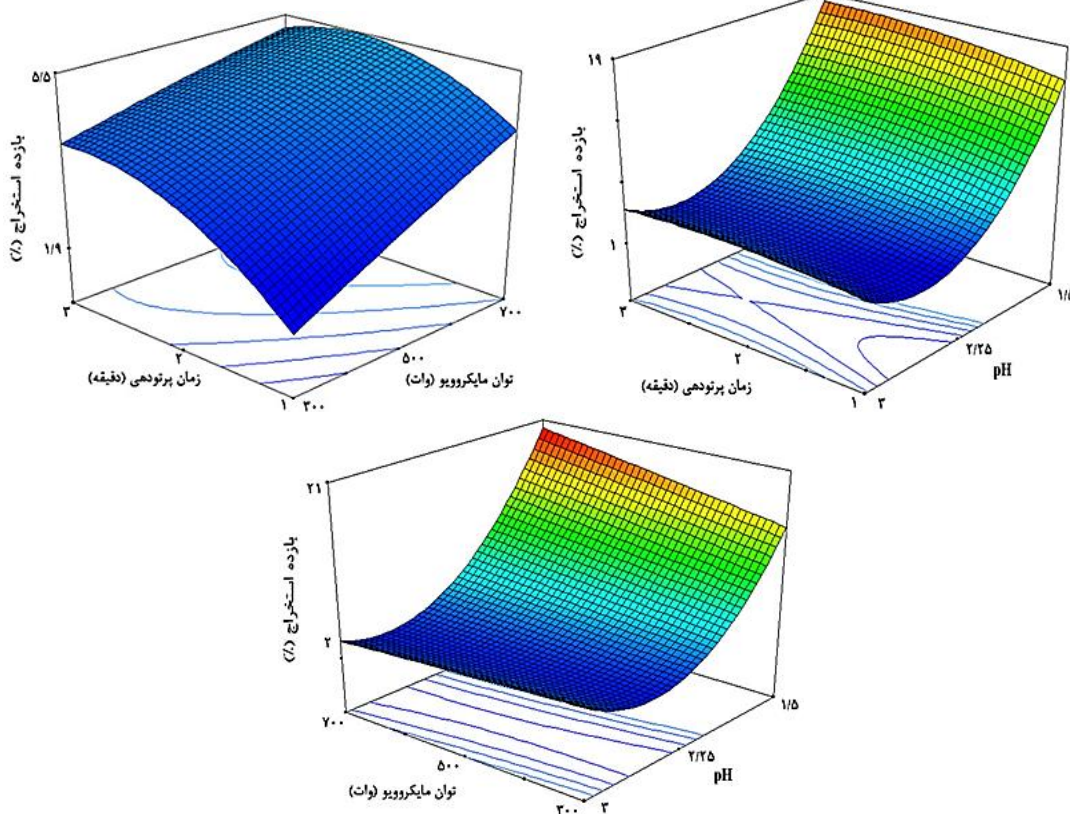
مانده به عنوان وزن مقدار آب جذب شده توسط یک گرم پکتین ثبت شد. اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری روغن نیز مشابه با روش ظرفیت نگهداری آب انجام شد با این تفاوت که به جای ۱۰ میلی لیتر آب مقطر دیونیزه، از روغن خوراکی آفتابگردان استفاده شد. اختلاف چگالی خوراکی با آب در محاسبات مورد توجه قرار گرفت (چگالی روغن استفاده شده: ۰/۹ گرم بر میلی لیتر). در نهایت عددی که باقی باقیمانده به عنوان مقدار روغنی که توسط یک گرم پکتین نگهداری می‌شود ثبت گردید.

یافته‌ها

به منظور بهینه‌سازی بازده استخراج، چهار عامل LSR، توان مایکروویو، زمان تابش و pH) به عنوان متغیر مستقل مورد بررسی قرار گرفت که نتایج به دست آمده مطابق شکل ۱ نشان داد راندمان استخراج پکتین به روش مایکروویو در دامنه ۲/۵ - ۳/۲۰ درصد متغیر است. نسبت مایع به جامد یکی از فاکتورهای تاثیرگذار بر روی استخراج بوده است که بالاترین میزان استخراج در نسبت حجم مایع

- تجزیه و تحلیل آماری

به منظور آنالیز آماری داده‌ها، سطح تخصیص داده شده به هر متغیر بر مبنای حدود تقریبی و دامنه کاربردی آن در حوزه استخراج پکتین از سایر مواد غذایی و بر مبنای انجام آزمایش‌های مقدماتی انجام شده است. بر همین مبنای، از سطوح مختلف نسبت مایع به جامد (به عنوان فاکتور متغیر؛ در این پژوهش تمام قسمت‌ها نسبت مایع به جامد بر حسب وزنی / حجمی می‌باشد) استفاده شد و سایر فاکتورها (توان ۵۰۰ وات، زمان پرتودهی برابر با ۲ دقیقه و pH



شکل ۱- فاکتورهای مؤثر بر میزان راندمان استخراج (زمان، توان، pH) به روش مایکروویو

جدول ۱- سطوح متغیر های مستقل و پاسخ های مربوطه برای راندمان استخراج پکتین

تیمار	متغیر های مستقل			پاسخ (درصد بازده)	
	X1 (توان مایکروویو)	X2 (زمان پرتودهی)	X3 (pH)	داده های تجربی	داده های پیش بینی شده
۱	۳۰۰	۶۰	۲/۲۵	۲/۵	۱/۹۸۷
۲	۷۰۰	۶۰	۲/۲۵	۴/۱	۴/۳۱۲
۳	۳۰۰	۱۸۰	۲/۲۵	۴/۳	۴/۰۸۷
۴	۷۰۰	۱۸۰	۲/۲۵	۴/۷	۵/۲۱۳
۵	۳۰۰	۱۲۰	۱/۵۰	۱۴/۵	۱۵/۰۲۵
۶	۷۰۰	۱۲۰	۱/۵۰	۲۰/۳	۲۰/۱۰۰
۷	۳۰۰	۱۲۰	۳	۵/۴	۵/۶۰۰
۸	۷۰۰	۱۲۰	۳	۴/۵	۳/۹۷۵
۹	۵۰۰	۶۰	۱/۵۰	۱۵/۸	۱۵/۷۸۷
۱۰	۵۰۰	۱۸۰	۱/۵۰	۱۸/۵	۱۸/۱۸۷
۱۱	۵۰۰	۶۰	۳	۳/۶	۳/۹۱۲
۱۲	۵۰۰	۱۸۰	۳	۴/۵	۴/۵۱۲
۱۳	۵۰۰	۱۲۰	۲/۲۵	۴/۷	۴/۵۶۷
۱۴	۵۰۰	۱۲۰	۲/۲۵	۴/۷	۴/۵۶۷
۱۵	۵۰۰	۱۲۰	۲/۲۵	۴/۳	۴/۵۶۷

شده در شرایط بهینه (توان ۷۰۰ وات، زمان ۲ دقیقه و ۴۲ ثانیه و pH برابر با ۱/۵) به ترتیب برابر با ۳/۸۶ و ۲/۱۳ گرم/گرم بوده است.

ویژگی آنتی اکسیدانی پکتین استخراج شده از پوست انار و دستیابی به بالاترین مقدار آن با دوز بهینه پکتین از دیگر نتایج این مطالعه بوده است. آزمون DPPH، یکی از آزمون های مهم برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی است که برای تخمین میزان فعالیت ضد رادیکالی پکتین به دست آمده تحت شرایط بهینه (توان ۷۰۰ وات، زمان ۲ دقیقه و ۴۲ ثانیه و pH برابر با ۱/۵) به کار گرفته شد. نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت بهینه پکتین برای دستیابی به بالاترین ویژگی آنتی اکسیدانی ۵۰ میلی گرم پکتین در میلی لیتر بوده است (جدول ۲).

در بخش دیگری از تحقیق فعالیت امولسیفایری (EA)، و پایداری امولسیون (ES) پکتین استخراج شده از پوست انار در شرایط بهینه (توان ۷۰۰ وات، زمان ۲ دقیقه و ۴۲ ثانیه و pH برابر با ۱/۵) اندازه گیری شد. پس از سانتریفوژ کردن امولسیون تهیه شده (۰/۵ درصد W/W از محلول پکتین)، سه فاز قابل تشخیص مشاهده شد (فاز روغنی با چگالی کم در قسمت فوقانی، فاز آبی با چگالی بالا در قسمت تحتانی و لایه امولسیونی در وسط) نتایج به دست

به جامد برابر با (V/W) ۱۵، حاصل شد که دلیل این موضوع افزایش سطح تماس بین نمونه و حلال می باشد. در این بررسی سایر فاکتورها (توان ۵۰۰ وات، زمان پرتودهی برابر با ۲ دقیقه و pH برابر با ۲/۲۵) ثابت در نظر گرفته شدند که مقادیر انتخاب شده بر مبنای انجام آزمایش های مقدماتی و حدود تقریبی و دامنه کاربردی آن در حوزه استخراج پکتین از سایر مواد غذایی بوده است (جدول ۱).

درجه استریفیکاسیون (DE) یکی از ویژگی های مهم کیفی پکتین از نظر موارد استفاده در صنایع غذایی و شرایط تولید ژل توسط پکتین بوده و اکثر خصوصیات عملکردی و فیزیکوشیمیایی پکتین وابسته به این پارامتر می باشد (Swamy and Muthukumarappan, 2017). در این مورد درجه استریفیکاسیون به روش تیتراسیون اندازه گیری شده و این مقدار در شرایط بهینه استخراج (توان ۷۰۰ وات، زمان ۲ دقیقه و ۴۲ ثانیه و pH برابر با ۱/۵) برابر $2/32 \pm$ بوده است.

درصد گالاکتورونیک اسید پکتین استخراج شده در شرایط بهینه برای سه بار تکرار روش آزمون، برابر با ۱/۱۵ $\pm 75/35$ درصد بوده است. همچنین میزان ظرفیت نگهداری آب (WHC) و روغن (OHC) پکتین استخراج

افزایش راندمان استخراج پکتین یکی از اهداف اصلی شناسایی و بهینه‌سازی پارامترهای موثر بر استخراج محسوب می‌شود. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش زمان پرتودهی تا زمان ۲ دقیقه و ۴۲ ثانیه، راندمان استخراج افزایش پیدا کرده است (شکل ۱-الف و ب). این افزایش به دلیل نفوذ حلال به داخل ماتریکس ماده جامد در اثر افزایش زمان و در نتیجه ایجاد فرصت کافی برای حل شدن پکتین در حلال استخراج می‌باشد. همچنین با افزایش توان و کاهش pH، بازده استخراج افزایش چشم‌گیری داشته و بالاترین مقدار آن در pH برابر با ۱/۵ بوده است (شکل ۱-ب و ج). داده‌های تجربی و داده‌های پیش‌بینی شده مربوط به هر تیمار برای بازده راندمان استخراج پکتین در جدول ۱ نشان داده شده است. بالاترین میزان راندمان در شرایط بهینه (توان ۷۰۰ وات، زمان پرتودهی ۲ دقیقه و ۴۲ ثانیه، pH برابر با ۱/۵) برابر با ۲۰/۴۲ درصد بوده است. به منظور اطمینان از صحت مدل پیش‌بینی شده، سه بار تکرار در شرایط ذکر شده انجام شده که در نتیجه مقدار $20/42 \pm 0/53$ بسیار نزدیک به مقدار

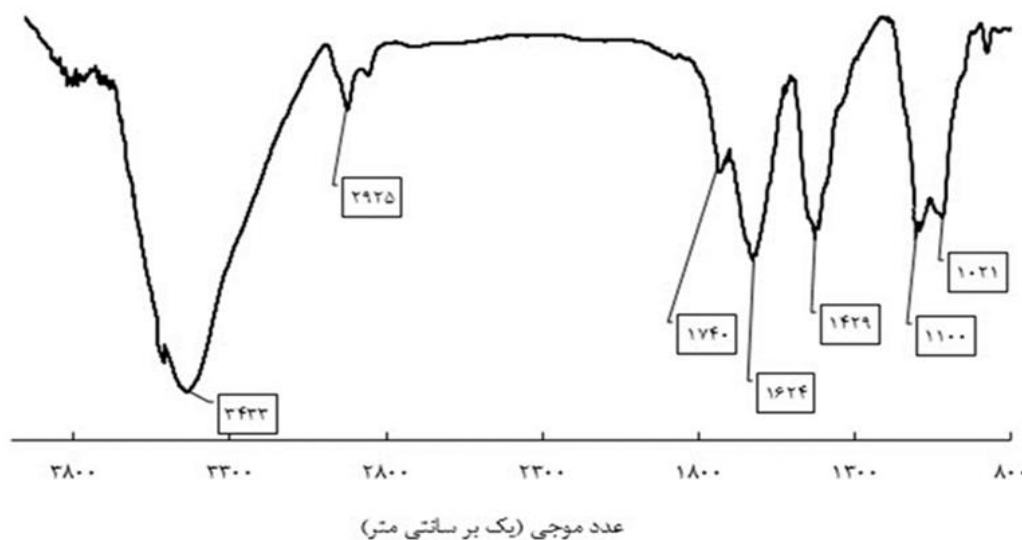
آمده نشان داد که فعالیت امولسیفایری پکتین استخراج شده به طور میانگین برابر ۵۶/۴ درصد می‌باشد. همچنین پایدارای امولسیون‌ها پس از یک روز در دمای ۴ و ۲۴ درجه سلسیوس، به ترتیب برابر با ۸۶/۹ و ۶۷/۱ درصد بوده است.

طیف FT-IR به دست آمده از پکتین پوست انار در شرایط بهینه استخراج (توان ۷۰۰ وات، زمان ۲ دقیقه و ۴۲ ثانیه و pH برابر با ۱/۵) در شکل ۲ نمایش داده شده است. پیک‌های بین 1300 تا 1000 cm^{-1} مربوط به وجود کربوهیدرات‌ها می‌باشد. حضور پیرانوز و فورانوز توسط پیک‌های موجود در بازه‌ی $1100-1010$ cm^{-1} ثابت شده است. پیک موجود در $144/50$ cm^{-1} توسط ارتعاشات کششی C-H ایجاد شده است. پیک‌های موجود در 1624 cm^{-1} و 1740 به ترتیب به گروه‌های کربوکسیل آزاد و کربوکسیل استری اختصاص یافته است (Grassino *et al.*, 2016).

بحث

جدول ۲- نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب درصدی از فعالیت ضد رادیکالی اسید اسکوربیک برای پکتین استخراج شده از پوست انار در شرایط بهینه استخراج پکتین

تیمار	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
غلظت پکتین (mg/ml)	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰
فعالیت آنتی‌اکسیدانی (%)	۳	۱۲	۱۹	۳۲	۴۴	۴۹	۵۵	۶۵	۸۵	۹۹	۱۰۷	۱۱۱



شکل ۲- طیف FT-IR به دست آمده از پکتین استخراج شده از پوست انار به روش مایکروویو

استریفیکاسیون در فرایند بهینه‌سازی استخراج پکتین، نتایج مشابهی مبنی بر کاهش این فاکتور طی کاهش pH به ویژه در نواحی اسیدی کمتر از ۲ مشاهده شده است (Bahramipour & Akbari-adergani, 2018).

بررسی میزان اسید گالاکتورونیک پکتین استخراج شده در مقایسه با گزارش‌های موجود برای سایر ضایعات کشاورزی قابل توجه و رقابتی بوده است. به عنوان نمونه، پژوهش‌های انجام شده توسط حسینی و همکاران (۱۳۹۵) میزان اسید گالاکتورونیک پکتین استخراج شده از پوست نارنج برابر با ۷۱ درصد بوده که قابل قیاس با میانگین تقریبی ۷۵ درصد برای پوست انار است. پکتین استخراج شده از پوست انار به روش مایکروویو از درجه خلوص بالایی برخوردار بوده و جزء پکتین‌های با درجه متوکسیلاسیون بالا دسته‌بندی می‌شود (Hosseini et al., 2016). در سایر پژوهش‌های گزارش شده که از روش‌های غیرمایکروویو نظیر استخراج با سیتریک اسید استفاده شده، میزان اسید گالاکتورونیک پکتین استخراجی از پوست موز بین ۵۳ تا ۸۶ درصد بوده است (Oliveira et al., 2015). اساساً WHC و OHC دو ویژگی عملکردی مهمی هستند که به ترتیب میزان ظرفیت نگهداری آب و روغن را در نمونه‌ها نشان می‌دهند. تحلیل نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان می‌دهد که ظرفیت نگهداری آب پکتین به دست آمده از پوست انار به مقدار چشم‌گیری از پکتین به دست آمده از ضایعات پلی‌ساکاریدهای محلول در آب پسته (۱/۴۶) و بادام (۱/۹۵) بیشتر بوده است (Sila et al., 2014). عوامل مختلف بیرونی و درونی مانند مقدار گروه‌های هیدروکسیل آزاد در ساختار شیمیایی، تخلخل پکتین، روش استخراج و pH می‌توانند بر روی WHC تاثیر بگذارند (Bayar et al., 2018). WHC بالای پکتین به دست آمده حاکی از آن است که این پکتین توانایی غلبه بر مشکلات آب‌اندازی در برخی از محصولات مانند ماست را دارا می‌باشد. از سوی دیگر مقدار OHC پکتین استخراج شده از پوست انار بالاتر از پکتین تجاری به دست آمده از مرکبات (۰/۹۳ گرم/گرم) بوده است (Bayar et al., 2018).

پکتین استخراجی، ویژگی مناسبی از آنتی‌اکسیدانی را در مقایسه با پکتین بدست آمده از سایر منابع از خود نشان داده

پیش‌بینی شده بود (جدول ۱). بنابراین این نتیجه نشان داد که مدل پیشنهادی شامل متغیرهای توان مایکروویو، زمان پرتودهی و pH برای استخراج کاملاً مناسب است. لازم به ذکر است که بکارگیری روش مایکروویو در مقایسه با سایر منابع استخراج پکتین مانند استخراج پکتین از پوست موز (Swamy and Muthukumarappan, 2017)، از پوست مرکبات (Maran et al., 2013) و پوست passion fruit (Seixas et al., 2014)، استخراج پکتین از پوست انار دارای عملکرد استخراج مناسبی بوده و راندمان استخراج تا ۲۰ درصد داشته است. به عنوان نمونه در تحقیق دیگری که از پوست موز و روش استخراجی سیتریک اسید برای استخراج پکتین استفاده شده، راندمان استخراج تنها ۱۴/۲ درصد بوده است (Oliveira et al., 2015). تحلیل نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس (ANOVA) در جدول ۳ نشان می‌دهد که اثر فاکتورهای مورد بررسی به صورت خطی، درجه دوم و اثر متقابل آنها برای راندمان استخراج پکتین معنی‌دار بوده است. بالاترین F-Value برای بازده استخراج برابر با ۱۸۵/۸۹، هم‌چنین مقدار P-Value برابر با (۰/۰۰۰۱) بوده است. مقادیر بدست آمده برای این پارامترهای آماری نشان می‌دهد که مدل‌های پیشنهادی صحیح بوده و بیش از ۹۹٪ پاسخ‌ها را می‌توان با آن توصیف کرد، زیرا ضریب همبستگی (R^2) محاسبه شده برای راندمان استخراج برابر با ۰/۹۹۷۰ می‌باشد (Maran et al., 2015). هم‌چنین میزان Lack of Fit به دست آمده (۰/۱۰۱) نشان می‌دهد که داده‌ها به درستی با هم منطبق شده و عدم برازشی بین آنها وجود ندارد (Jafari et al., 2017).

اساساً بکارگیری انواع پکتین در صنایع مختلف غذایی بر مبنای میزان درجه استریفیکاسیون آنها می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که pH بیشترین تاثیر را بر درجه استریفیکاسیون داشته است به طوری که با کاهش میزان pH، افزایش زمان پرتودهی و توان مایکروویو درجه استری شدن پکتین کاهش پیدا کرده است. کاهش میزان درجه استریفیکاسیون در شرایط نامطلوب (pH پایین، توان و زمان بالا) به دلیل جدا شدن استر (de-esterification) از زنجیره‌های گالاکتورونیک اسید می‌باشد (Pasandide et al., 2017). در سایر تحقیقات مربوط به اندازه‌گیری درجه

جدول ۳- نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) برای راندمان استخراج پکتین از پوست انار به کمک فرایند مایکروویو

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F-value	p-value
مدل	۹	۵۱۸/۳۴۷	۵۷/۵۹۴	۱۸۵/۸۹	۰/۰۰۰
خطی	۳	۳۳۶/۸۵۲	۱۱۲/۲۸۴	۳۶۲/۴۰	۰/۰۰۰
درجه دوم	۳	۱۶۹/۱۰۲	۵۶/۳۶۷	۱۸۱/۹۳	۰/۰۰۰
اثرات متقابل	۳	۱۲/۳۹۳	۴/۱۳۱	۱۳/۳۳	۰/۰۰۸
خطای باقیمانده	۵	۱/۵۴۹	۰/۳۱۰		
عدم برازش	۳	۱/۴۴۲	۰/۴۸۱	۹/۰۲	۰/۱۰۱
خطای خالص	۲	۰/۱۰۷	۰/۰۵۳		
کل	۱۴	۵۱۹/۸۹۶			
ضریب همبستگی			۰/۹۹۷۰		
ضریب همبستگی پیش بینی شده			۰/۹۹۱۷		

پوست برخی مرکبات (% ۴۶/۵) و پوست نارنج (% ۴۰/۷) بوده است (Pasandide et al., 2017; Hosseini et al., 2016). فعالیت امولسیفایری پکتین استخراجی از پوست انبه ویتنامی نیز بین ۱۱/۸ تا ۳۴/۲ درصد بوده که به مراتب از نتایج بدست آمده در این تحقیق کمتر است (Hoa et al., 2019). همچنین پایدارای امولسیون‌ها پس از یک روز نیز نشان داد که علیرغم کاهش نسبی و طبیعی پایدارای آن در دمای ۲۴ درجه در مقایسه با دمای ۴ درجه، همچنان بعد از گذشت ۳۰ روز، مقدار آن از ۸۶/۹ و ۶۷/۱ درصد به ۸۵/۶ و ۶۴/۷ درصد کاهش پیدا کرده است. می‌توان بیان داشت که پکتین استخراج شده از پوست انار دارای فعالیت امولسیفایری بسیار مطلوب می‌باشد و می‌تواند در انواع محصولات غذایی به عنوان امولسیفایر مورد استفاده قرار گیرد، همچنین پایدارای امولسیون‌ها در هر دو دمای مورد آزمایش مطلوب بوده اما امولسیون‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس مقداری پایدارتر بوده که مشابه همین نتایج در پکتین استخراج شده از غلاف نخود فرنگی به روش مایکروویو به دست آمده است (Bahrapour and Akbari-adergani, 2018).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه بهینه‌سازی استخراج پکتین از ضایعات پوست انار با استفاده از طرح باکس-بنکن انجام شد. بالاترین بازده راندمان استخراج پکتین از پوست انار در شرایط بهینه استخراج (شامل: استخراج به کمک امواج مایکروویو در توان مایکروویو ۷۰۰ وات، زمان پرتودهی ۱۶۲ ثانیه و pH برابر با ۱/۵) برابر با ۰/۱۹ ± ۲۰/۳۴ بوده است. نتایج به دست آمده نشان داد که درجه استریفیکاسیون در پکتین استخراج شده در شرایط بهینه استخراج برابر با ۲/۳۲ ± ۳۳/۲۴ درصد

است. تحقیق نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت پکتین از ۵ تا ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، فعالیت آنتی-اکسیدانی نمونه افزایش پیدا کرده تا جایی که در غلظت ۵۰ میلی‌گرم پکتین در میلی‌لیتر به بالاترین مقدار خود می‌رسد و این زمانی است که تقریباً به فعالیت ضد رادیکالی اسید آسکوربیک به عنوان نمونه استاندارد رسیده است (جدول ۲). همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی پکتین به دست آمده در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، بیشتر از مقدار به دست آمده از پکتین استخراج شده از نوعی کاکتوس (*Opuntia ficus indica*) بوده است (Bayar et al., 2017).

همچنین پایدارای امولسیون‌ها پس از یک روز در دمای ۴ و ۲۴ درجه سلسیوس، به ترتیب برابر با ۸۶/۹ و ۶۷/۱ درصد بوده و بعد از گذشت ۳۰ روز این مقدار به ۸۵/۶ و ۶۴/۷٪ کاهش پیدا کرده است. می‌توان بیان داشت که پکتین استخراج شده از پوست انار دارای فعالیت امولسیفایری بسیار مطلوب می‌باشد و می‌تواند در انواع محصولات غذایی به عنوان امولسیفایر مورد استفاده قرار گیرد، همچنین پایدارای امولسیون‌ها در هر دو دمای مورد آزمایش مطلوب بوده اما امولسیون‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس مقداری پایدارترند که مشابه همین نتایج در پکتین استخراج شده از غلاف نخود فرنگی به روش مایکروویو به دست آمده است (Bahrapour and Akbari-adergani, 2018).

نتایج این مطالعه نشان داد که در شرایط بهینه استخراج با مایکروویو، فعالیت امولسیفایری و پایدارای امولسیون پکتین استخراج شده قابل مقایسه با مقادیر متناظر آنها در سایر ضایعات کشاورزی بوده است. به عنوان نمونه فعالیت امولسیفایری پکتین استخراجی با ثبت مقدار میانگین ۵۶/۴ بالاتر از مقادیر آن برای پکتین به دست آمده از لایه میانی

Ultrasonic extraction of pectin from *Opuntia ficus indica* cladodes after mucilage removal: Optimization of experimental conditions and evaluation of chemical and functional properties. *Food Chemistry*, 235, 275-282.

Bayar, N., Friji, M. & Kammoun, R. (2018). Optimization of enzymatic extraction of pectin from *Opuntia ficus indica* cladodes after mucilage removal. *Food Chemistry*, 241, 127-134.

Betancur-Ancona, D., Peraza-Mercado, G., Moguel-Ordóñez, Y. & Fuertes-Blanco, S. (2004). Physicochemical characterization of lima bean (*Phaseolus lunatus*) and Jack bean (*Canavalia ensiformis*) fibrous residues. *Food Chemistry*, 84(2), 287-295.

Chan, S. & Choo, W. (2013). Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. *Food Chemistry*, 141(4), 3752-3758.

Chaouch, M. A., Hafsa, J., Rihouey, C., Le Cerf, D. & Majdoub, H. (2015). Depolymerization of polysaccharides from *Opuntia ficus indica*: Antioxidant and antiglycated activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79, 779-786.

Dalev, P. G. & Simeonova, L. S. (1995). Emulsifying properties of protein-pectin complexes and their use in oil-containing foodstuffs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 68(2), 203-206.

Fishman, M. L., Chau, H. K., Hoagland, P. & Ayyad, K. (2000). Characterization of pectin, flash-extracted from orange albedo by microwave heating, under pressure. *Carbohydrate Research*, 323(1-4), 126-138.

Fraeye, I., Duvetter, T., Doungra, E., Loey, A. V. & Hendrickx, M. (2010). Fine-tuning the properties of pectin-calcium gels by control of pectin fine structure, gel composition and environmental conditions. *Trends in Food Science & Technology*, 21(5), 219-228.

Garna, H., Mabon, N., Robert, C., Cornet, C., Nott, K., Legeros, H., Wathelet, B. & Paquot, M. (2007). Effect of extraction conditions on the yield and purity of apple pomace pectin precipitated but not washed by alcohol. *Journal of Food Science*, 72, C1-C9.

Grassino, A. N., Halambek, J., Djaković, S., Brnčić, S. R., Dent, M. & Grabarić, Z. (2016).

Utilization of tomato peel waste from canning factory as a potential source for pectin production and application as tin corrosion inhibitor. *Food Hydrocolloids*, 52, 265-274.

Hamed, F., Mohebbi, M., Shahidi, F. & Azarpazhooh, E. (2018). Ultrasound-assisted osmotic treatment of model food impregnated with pomegranate peel phenolic compounds: Mass transfer, texture, and phenolic evaluations. *Food and Bioprocess Technology*, 11(5), 1061-1074.

Hoa, H. D., Nguyen Ha, V. H., Nguyen Geoffrey, P. S. (2019). Properties of Pectin Extracted from Vietnamese Mango Peels. *Foods*, 8, 629; doi:10.3390/foods8120629.

بوده است. در خصوص فعالیت آنتی اکسیدانی، تنها بازای ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر پیتید استخراجی از پوست انار برابر با توان ضد رادیکالی ماده مرجع اسکوربیک اسید برابر بود. درصد گالاکتورونیک اسید پکتین استخراجی در شرایط بهینه استخراج نیز $1/15 \pm 75/35$ درصد بوده است. فعالیت امولسیفایری پکتین استخراجی در شرایط مذکور $56/4$ درصد بوده و همچنین پایداری امولسیون پکتین حاصل، در هر دو دمای ۴ و ۲۳ درجه سلسیوس مناسب بوده است. اما میزان پایداری امولسیون در دمای ۴ درجه بالاتر بود. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه در مقادیر ۱۵ میلی گرم بر لیتر برابر به ۹۵ درصد (اسید اسکوربیک) رسیده است. علاوه بر این ظرفیت نگهداری آب و روغن پکتین حاصل نیز به ترتیب برابر با $3/86$ و $2/13$ گرم/گرم می باشد. همچنین نوار ظاهر شده در طیف به دست آمده از آزمون FT-IR حضور پکتین استری شده را تایید می کند.

منابع

Al-Rawahi, A. S., Rahman, M. S., Guizani, N. & Essa, M. M. (2013). Chemical Composition, Water Sorption Isotherm, and Phenolic Contents in Fresh and Dried Pomegranate Peels. *Drying Technology. An International Journal*, 31, 257-263.

Akbarpour, V., Hemmati, K. & Sharifani, M. (2009). Physical and chemical properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit in maturation stage. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 6(4), 411-416.

Amirasgari, N. & Mirsaedghazi, H. (2014). Microfiltration of red beet juice using mixed cellulose ester membrane. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1745-4549.

Basanta, M. F., Ponce, N. M. A., Rojas, A. M. & Stortz, C. A. (2012). Effect of extraction time and temperature on the characteristics of loosely bound pectins from Japanese plum. *Carbohydrate Polymers*, 89(1), 230-235.

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(11-12), 1237-1243.

Bahramipour, M. & Akbari-adergani, B. (2018). Optimization of microwave-assisted extraction of pectin from peaspod by response surface method. *Journal of Food Science and Technology*, 80(15), 349-360 [In Persian].

Bayar, N., Bouallegue, T., Achour, M., Kriaa, M., Bougatef, A. & Kammoun, R. (2017).

- Hosseini, S. S., Khodaiyan, F. & Yarmand, M. S. (2016). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 140, 59-65.
- Jafari, F., Khodaiyan, F., Kiani, H. & Hosseini, S. S. (2017). Pectin from carrot pomace: Optimization of extraction and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1315-1322.
- Joye, D. D. & Luzio, G. A. (2000). Process for selective extraction of pectin's from plant material by differential pH. *Carbohydrate Polymer*, 43(4), 337-342.
- Kalopathy, U. & Proctor, A. (2001). Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin. *Food Chemistry*, 73(4), 393-396.
- Kazemi, M., Khodaiyan, F., Labbafi, M., Hosseini, S. S. & Hojjati, M. (2019). Pistachio green hull pectin: Optimization of microwave-assisted extraction and evaluation of its physicochemical, structural and functional properties. *Food Chemistry*, 271, 663-672.
- Lanrewaju, R. A., Ademola, A., Valérie, O. & Vijaya, R. (2017). Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: A review. *Food Hydrocolloids*, 62, 239-250.
- Minkov, S., Minchev, A. & Paev, K. (1996). Modeling of the hydrolysis and extraction of apple pectin. *Journal of Food Engineering*, 29(1), 107-113.
- Li, D., Jia, X., Wei, Z. & Liu, Z. (2012). Box- Behnken experimental design for investigation of microwave-assisted extracted sugar beet pulp pectin. *Carbohydrate Polymers*, 88(1), 342-346.
- Liu, W., Cui, S. W. & Kakuda, Y. (2006). Extraction, fractionation, structural and physical characterization of wheat β -D-glucans. *Carbohydrate Polymers*, 63(3), 408-416.
- 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.
- 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.
- Oliveira, T.S., Rosa, M.F., Cavalcante, F.L., Pereira, P.H.F., Moates, G.K., Wellner, N., Mazzetto, S.E., Waldron, K.W. Henriette M. C. Azeredo (2015). Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology. *Food Chemistry*, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.080>
- Pagan, J., Ibarz, A., Llorca, M., Pagan, A. & Barbosa-Canovas, G. V. (2001). Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. *Food Research International*, 34, 605-612.
- 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.
- Ptchikina, 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.
- Qiu, L., Zhao, G., Wu, H., Jiang, L., Li, X. & Liu, J. (2010). Investigation of combined effects of independent variables on extraction of pectin from banana peel using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 80(2), 326-331.
- 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.
- Seixas, F. L., Fukuda, D. L., Turbiani, F. R., Garcia, P. S., Carmen, L. d. O., Jagadevan, S. & Gimenes, M. L. (2014). Extraction of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) by microwave-induced heating. *Food Hydrocolloids*, 38, 186-192.
- Sila, A., Bayar, N., Ghazala, I., Bougatef, A., Ellouz-Ghorbel, R. & Ellouz-Chaabouni, S. (2014). Water-soluble polysaccharides from agro-industrial by-products: Functional and biological properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 236-243.
- Singh, B., Pal Singh, J., Paur, A., Kaur A. & Singh, N. (2019). Antimicrobial potential of pomegranate peel: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(4) 959-965.
- Swamy, G. J. & Muthukumarappan, K. (2017). Optimization of continuous and intermittent microwave extraction of pectin from banana peels. *Food Chemistry*, 220, 108-114.
- USP NF 21. (2003). The United States pharmacopeia - The national formulary. Rockville, MD: United States Pharmacopeia Convention, pp. 1401-1402.

Evaluation of Some Functional Properties of Extracted Pectin from Pomegranate Peel by Microwave Method

B. Akbari-Adergani ^{a*}, P. Zivari Shayesteh ^b, R. Pourahmad ^c

^a Professor, Food and Drug Laboratory Research Center, Food and Drug Administration, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran.

^b M.Sc. Student of the Department of Food Science and Technology, Faculty of Pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^c Associate Professor of the Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

Received: 29 January 2021

Accepted: 13 March 2021

Abstract

Introduction: Pectin is a complex mixture of polysaccharides in the cell wall of plants. The aim of this study was to evaluate the efficiency of pectin extraction from pomegranate peel using microwaves and to investigate some of its functional properties.

Materials and Methods: Some functional properties of pectin extracted from pomegranate peel including degree of esterification, galacturonic acid content, emulsifying properties, emulsion stability, water and oil storage capacity, antioxidant capacity and infrared spectrum behavior were investigated after optimization of extraction procedure. Extraction of pectin from pomegranate peel as an abundant and available source were performed for the first time by microwave at 120 °C in a certain ratio of solid to liquid under different pH conditions (1.5, 2.25 and 0.3), irradiating times (60, 120 and 180 seconds) and at three energy levels (300, 500 and 700 watts).

Results: Pectin extraction efficiency under optimal conditions (power 700 watts, time 120 seconds and pH of 1.5) was 20.42%. The degree of esterification of pectin was 33.24%, galacturonic acid content was 75.35% and its emulsifying activity was 56.4% and the emulsion obtained at 4 °C was more stable than the resulting emulsion at 24 °C. The storage capacity of water and oil per gram of extracted pectin was 3.86 and 2.13 gr, respectively.

Conclusion: The application of pectin extracted from pomegranate peel by microwave method has a good efficiency and due to its good functional properties can pave the way for its use in some food formulations.

Keywords: Degree of Esterification, Functional Properties, Microwave Extraction, Pectin, Pomegranate Peel.

* Corresponding Author: b.akbari@fda.gov.ir; analystchemist@yahoo.com