

بهینه‌سازی شرایط استخراج پکتین از برگ گیاه آلوئه‌ورا

لیلا ناطقی^{a*}^a دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۲/۲۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۱/۱۶

<https://dorl.net/dor/20.1001.1.20080123.1400.18.4.7.7>

چکیده

۹۵

مقدمه: ژل آلوئه‌ورا کاربردهای فراوانی در صنایع دارویی و غذایی دارد. برگ گیاه آلوئه‌ورا که دارای مواد با ارزشی مانند پکتین است هنگام استحصال ژل از گیاه آلوئه‌ورا بعنوان فرآورده جانبی دور ریخته می‌شود. استخراج پکتین از محصولات جانبی گیاه آلوئه‌ورا، می‌تواند هم از جنبه اقتصادی و هم زیست محیطی سودمند باشد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تأثیر دما (۳۵، ۶۵ و ۹۵)، زمان (۴۰، ۱۲۰ و ۲۰۰) و pH (۱، ۲ و ۳)، بر میزان بازدهی، درصد گالاکتورونیک اسید و درجه استریفیکاسیون و پایداری امولسیون پکتین استخراج شده از برگ گیاه آلوئه‌ورا و بهینه‌سازی شرایط استخراج مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین بدست آمده آزمون‌های پایداری امولسیون و FT-IR انجام گردید. **یافته‌ها:** مطابق با نتایج، بالاترین بازدهی استخراج از برگ آلوئه‌ورا، ۶/۹ درصد در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۲۰ دقیقه و pH ۱ مشاهده گردید. بالاترین میزان درصد گالاکتورونیک اسید پکتین استخراجی از برگ آلوئه‌ورا، ۷۸/۴۸ درصد در شرایط دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۲۰۰ دقیقه و pH ۱ مشاهده گردید. بالاترین درجه استریفیکاسیون پکتین از برگ آلوئه‌ورا، ۵۳/۴۱۰ درصد در شرایط دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۲۰ دقیقه و pH برابر ۳/۰۰ بود. بیشترین پایداری امولسیون پکتین حاصل از برگ آلوئه‌ورا در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در روز اول تولید، به مراتب بیشتر از دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد بوده است. نتایج FT-IR نیز نشان داد که جذب قوی در ناحیه $3500-3200\text{ cm}^{-1}$ در نمونه پکتین استخراج شده مربوط به لرزش داخل و خارج سلولی باند هیدروژنی در پلیمر گالاکتورونیک اسید بوده است. پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا با وزن مولکولی ۱۲۷ کیلودالتون پس از ۳۰ روز نگهداری در دمای ۴ و ۲۳ درجه سانتی‌گراد به ترتیب دارای پایداری امولسیفایری ۷۵ و ۶۳ درصد بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد می‌توان پکتین استخراج شده از ضایعات برگ گیاه آلوئه‌ورا را به عنوان یک منبع پکتین قابل عرضه به بازار معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: استخراج پکتین، برگ آلوئه‌ورا، درجه استریفیکاسیون (DE)، گالاکتورونیک اسید

مقدمه

پکتین پلی‌ساکارید پیچیده‌ای است. پکتین به‌عنوان عامل پیوند بین سلول‌های گیاهی عمل می‌کند یک پلیمر اشتقاقی قندی-اسیدی است که از ساختارهای ژلاتینی گیاهی موجود در میوه‌جات و سبزیجات به دست می‌آید. حداکثر پکتین موجود در میوه‌های نارس یافت می‌شود که پس از فرارسیدن مرحله رسیدن میزان و حتی کیفیت پکتین استحصال شده کاهش می‌یابد. اسید گالاکتورونیک اصلی‌ترین بلوک سازنده شیمیایی پکتین موجود در میوه و سبزی می‌باشد که خود جزو گروه پلیمرهای اسید انهدرو گالاکتورونیک می‌باشد. اسیدهای موجود در پلیمر ممکن است به‌صورت اسیدهای متیل شده دربیابند یا به شکل اسیدهای آزاد مثل پروتوپکتین، اسید ژلاتینی، اسید پکتینی و پکتین در بیاید. منابع اصلی پکتین در جهان، بخش سفیدرنگ داخلی پوست مرکبات و نیز تفاله سیب می‌باشد اما در سایر منابع گیاهی همچون ضایعات گیاه آفتاب‌گردان، هویج و آلوئه‌ورا وجود دارد (Kratchanova et al., 2012). در صنایع غذایی پکتین به‌عنوان عامل ژله‌ای کننده مخصوصا در تولید ژله‌ها و مرباها به کار برده می‌شود. پکتین همچنین در پرکننده‌ها، داروها، شیرینی‌جات، به‌عنوان تثبیت‌کننده در آبمیوه‌ها و نوشیدنی‌های شیری و همچنین به‌عنوان فیبر رژیمی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (Sharma, 2006).

از منابع استخراج پکتین به‌صورت صنعتی می‌توان به مرکبات در حدود ۲۵ درصد، سیب ۱۲ درصد، نیشکر و آفتاب‌گردان ۱۰-۲۰ درصد اشاره نمود (Ebrahim Zadeh & Azad Bakht, 1996). Nateghi و همکاران (2017) از کلاهدک بادمجان، Nateghi و Ansari (2017) از ضایعات پوست بادمجان، Fathi و همکاران (2012) از ضایعات کدوی آجیلی، Hosseini و همکاران (2016) از پوست نارنج، Mosayebi و همکاران (2017) با روش غرقابی از تفاله شاه توت، Azadbakht و همکاران (2003) از میوه گیاه دارایی و Keramat و همکاران (2002) از ضایعات کنستانتره آب پرتقال پکتین استخراج نمودند.

آلوئه‌ورا (*Miller Barbadensis Aloe*) با نام علمی *Vera Aloe* متعلق به تیره سوسن (Liliaceae) و جنس آلوئه‌ورا بوده و به دلیل خواص آن در طب سنتی مورد توجه

است. این گیاه دارای دو بخش ژل و شیرابه بوده و رطوبت آن بیش از ۹۸ درصد می‌باشد و حاوی ترکیبات پلی‌ساکاریدی مختلف از جمله پکتین، سلولز، همی سلولز و گلوکومانان، آسمانان و مانوز می‌باشد که با توجه به خواص این گیاه بعنوان پوشش خوراکی بر پایه کربوهیدرات امروزه در فرآوری مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Langmead et al., 2004; Sosa et al., 2007). برگ گیاه آلوئه‌ورا که دارای مواد با ارزشی مانند پکتین است هنگام استحصال ژل از گیاه آلوئه‌ورا بعنوان فرآورده جانبی دور ریخته می‌شود. استخراج پکتین از محصولات جانبی گیاه آلوئه‌ورا، می‌تواند هم از جنبه اقتصادی و همزیست محیطی سودمند باشد (Kratchanova et al., 2012). برای استخراج پکتین از ضایعات محصولات کشاورزی در داخل و خارج کشور، تاکنون تحقیقات متعددی انجام شده است که از بین آنها می‌توان به استخراج به روش آنزیمی (Aimukhamedova, 1988; Sakamoto et al., 1995; Shelukhina, 1990) استفاده از ترکیبات چگالی‌دهنده چون سدیم هگزا متافسفات، آمونیوم اگزالات، و اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA)، Salomov (2002) Esmaili (-Haji, 1991; et al.) و روش اسیدی اشاره کرد.

استفاده از محلول اسیدی برای استخراج پکتین از روش‌های سنتی و پرکاربرد تولید این فرآورده می‌باشد. این فرآیند با استخراج به‌وسیله محلول حاوی اسیدهای معدنی شروع شده و به‌وسیله بازیافت رسوب با الکل ادامه می‌یابد (Ma et al., 2013; Santos et al., 2013). به‌طور کلی از اسیدهای معدنی مختلفی چون سولفوریک، فسفریک، نیتریک و هیدروکلریک اسید برای استخراج پکتین از منابع مختلف استفاده می‌شود (Xu et al., 2014). Molle و همکاران (2007) پکتین را با استفاده از محلول اسیدی شده با هیدروکلریک اسید در pH ۲/۵ از پوست کاکائو استخراج کردند.

در روش اسیدی پارامترهای زیادی بر استخراج پکتین موثر است. pH، دما، زمان و نسبت مایع به ماده خشک اولیه استخراج از عوامل موثر بر بازده استخراج پکتین است (Chen et al., 2014). در این مطالعه تلاش شد تا از ضایعات برگ آلوئه‌ورا در جهت استخراج پکتین که ماده‌ای ارزشمند در صنایع غذایی می‌باشد، استفاده گردد. لذا هدف

بالاترین درجه استخراج، پکتین به روش زیر استخراج شد. برای استخراج پکتین از روش Fathi و همکاران (2012) با اندکی تغییر به شرح زیر استفاده شد. ابتدا ۳ گرم نمونه پودر خشک شده برگ آلوئه‌ورا را در ارلن ریخته و با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر اسیدی شده با اسیدسیتریک با pH های مشخص (۱ تا ۳) مخلوط کرده و در حمام آب گرم با دماهای (۳۵ تا ۹۵) درجه سانتی‌گراد به مدت مشخص (۴۰، ۲۰۰) دقیقه توسط همزن مغناطیسی (Genius، آلمان) هم‌زده و حرارت داده شد (دامنه آزمایش برای هر فاکتور بر اساس نتایج آزمایشات اولیه انتخاب گردید) (جدول ۱). پس از طی زمان لازم برای استخراج نمونه‌ها از حمام آب گرم خارج و محلول ۲ مرتبه با پارچه متقال صاف شد و برای جداسازی ذرات معلق باقیمانده، محلول حاصل در rpm ۴۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ (۳۲۰ Universal، آلمان) شد. برای جداسازی ذرات جامد از عصاره مایع رویی پس از سانتریفوژ از کاغذ صافی شماره ۴۱ عبور داده و عصاره حاوی پکتین در یخچال گذاشته شد و پس از رسیدن به دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، اتانول ۹۶ درصد با نسبت ۱ به ۲ (عصاره به الکل) جهت ترسیب پکتین به آن اضافه گردید و یک شب در یخچال نگهداری شد تا کاملاً پکتین رسوب کرده و تعادل برقرار شود. سپس رسوب پکتین توسط سانتریفوژ rpm ۴۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه از مایع جدا شد. مایع رویی خارج و رسوب باقیمانده جهت حذف ناخالصی‌ها با اتانول ۷۰ درصد و سپس با اتانول ۹۶ درصد شستشو داده شد. پس از هر مرحله شستشو با الکل، با سانتریفوژ کردن در rpm ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، رسوب باقی‌مانده از مایع جدا شد. در پایان نمونه‌های پکتین به دست آمده به روش انجمادی خشک) تجهیزات سازان پیش‌تاز، ایران) شدند. پکتین خشک شده پس از توزین (جهت اندازه‌گیری بازده استخراج) تبدیل به پودر و در کیسه‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی و در یخچال نگهداری شد.^۲

- بازدهی تولید پکتین

برای بدست آوردن بازده تولید پکتین از معادله (۱) استفاده گردید (Fathi et al., 2012).

$$\text{معادله ۱: } 100 \times \frac{\text{وزن پکتین خالص}}{\text{وزن ماده اولیه}} = \text{بازده تولید پکتین (\%)}$$

اصلی از این پژوهش بررسی اثر شرایط فرآیند استخراج (دما، زمان و pH) بر روی میزان بازدهی، درصد گالاکتورونیک اسید، درجه استریفیکاسیون، خصوصیات امولسیفایری و طیف FT-IR پکتین از برگ ضایعات برگ آلوئه‌ورا بود.

مواد و روش‌ها

- مواد مصرفی

برگ آلوئه‌ورا از عطاری در تهران، ایران تهیه شد و در پژوهشکده گیاهان دارویی نام علمی آن تحت عنوان *Miller Barbadosis Aloe* متعلق به تیره سوسن (Liliaceae) و جنس آلوئه‌ورا^۱ تایید گردید. مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش شامل اسیدسیتریک، اسید نیتریک، اسید فسفریک، اسید سولفوریک، اتانول، معرف متاهیدروکسی دی فنیل، تترا بورات سدیم، سدیم هیدروکسید، فنل فتالئین، سود ۰/۱ نرمال، هیدروکلریک اسید ۰/۱ نرمال، سدیم آزید، مولار استات سدیم، مولار سدیم کلراید بود که از شرکت مرک، آلمان خریداری شدند.

- آماده سازی برگ آلوئه‌ورا

برگ آلوئه‌ورا به خوبی با آب شستشو داده شد. سپس نوک، انتها و لبه برگ‌ها بریده، و ژل از بافت پوششی پایینی توسط چاقو جدا گردید. در مرحله بعد برای تعیین وزن خشک، نمونه‌ها در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان ثابت شدن وزن قرار گرفتند. سپس با استفاده از آسیاب (پارس خزر، ایران) پودر شده و با مش ۶۰ الک گردید پودر تولیدی برای مصارف بعدی در ظرف پلی‌اتیلنی و در جای خشک و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Fathi et al., 2012).

- استخراج پکتین

در مرحله اول به‌عنوان مطالعه اولیه و تعیین نوع اسید مناسب برای استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا اثر اسید سیتریک، اسید نیتریک، اسید فسفریک و اسید سولفوریک را بر بازدهی استخراج پکتین در ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه در آب اسیدی شده در pH برابر ۲/۵ مورد بررسی قرار گرفت. پس از تعیین مناسب‌ترین اسید با

^۱ Aloe Vera

جدول ۱- تیمارهای مورد مطالعه با متغیرهای مستقل (زمان (X1)، دما (X2)، pH (X3) به روش سطح پاسخ (باکس بنکن)

Table 1. Treatments with independent variables (time (X1), temperature (X2), pH (X3) by response surface method (Box-Behnken))

Treatment	pH	Time (Min)	Temperature (°C)
1	3	120	35
2	1	40	65
3	1	120	35
4	2	40	35
5	1	200	65
6	2	200	35
7	2	200	95
8	2	120	65
9	2	120	65
10	2	40	95
11	2	120	65
12	1	120	95
13	3	40	65
14	3	200	65
15	3	120	95

۱۵ دقیقه باقی و سپس جذب محتویات هر لوله در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی کالیبراسیون با اندازه‌گیری جذب محلول‌های استاندارد گالاتورونیک اسید در محدوده غلظت‌های استاندارد ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در ۵۲۰ نانومتر تهیه و غلظت گالاتورونیک اسید در هر نمونه پکتین با استفاده معادله رگرسیون خطی منحنی کالیبراسیون و بر اساس وزن خشک پکتین، محاسبه شد.

- درجه استریفیکاسیون (DE)

درجه استریفیکاسیون پکتین با استفاده از روش تیتراسیون با اندکی تغییرات اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۰/۲ گرم از نمونه پکتین خشک شده با ۲ میلی‌لیتر اتانل ۹۸ درصد مرطوب و سپس ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه به آن اضافه تا حل شدن کامل در دما ۴۰ درجه سانتی‌گراد بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. بعد از حل شدن کامل نمونه، ۲ قطره فنل‌فتالین به آن اضافه شد. و با سود ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ صورتی کم‌رنگ تیتراژ شد. حجم سود مصرف شده به‌عنوان V1 ثبت شد. به محلول خنثی شده در مرحله اول تیتراسیون ۱۰ میلی‌لیتر سود ۰/۱ مولار اضافه و به مدت ۲ ساعت بر روی همزن مغناطیسی به هم‌زده تا پکتین صابونی شود. ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید ۰/۱ نرمال به آن اضافه و بهم زده شد تا رنگ صورتی از بین رفت. اسید اضافی با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به همان

- اندازه‌گیری گالاتورونیک اسید

میزان اسید گالاتورونیک مطابق با روش Mosayebi و همکاران (2017) اندازه‌گیری شد. درصد گالاتورونیک اسید پکتین استخراج‌شده از آلوئه‌ورا با روش رنگ سنجی با استفاده از معرف متاهیدروکسی دی فنیل با استفاده از اسپکتروفتومتر ماوراء بنفش مرئی (CE ۲۵۰۲ انگلستان) اندازه‌گیری شد. ۰/۰۵ گرم از نمونه پکتین‌های استخراج شده در یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری با آب مقطر دیونیزه به حجم رسانده شد. مخلوط توسط همزن مغناطیسی هم‌زده تا کاملاً حل شود. ۱ میلی‌لیتر از این محلول رقیق حاوی پکتین به ۳ لوله آزمایش شیشه‌ای که یک لوله آزمایش برای اندازه‌گیری جذب نمونه شاهد و دو لوله نمونه برای اندازه‌گیری جذب نمونه پکتین در داخل مخلوط آب یخ غوطه‌ور بودند، منتقل شد. سپس ۶ میلی‌لیتر از محلول تترا بورات سدیم که از قبل آماده شده، را به هر کدام از لوله آزمایش‌ها اضافه و لوله‌ها ورتکس شدند تا محتویات آن‌ها کاملاً مخلوط شود. محتویات داخل لوله‌ها را در حمام آب جوش ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ دقیقه حرارت داده و بعد از گذراندن مدت زمان قیدشده، فوراً تا درجه حرارت اتاق سرد شود. به دو لوله آزمایش حاوی نمونه پکتین ۰/۱ میلی‌لیتر معرف متا دی هیدروکسی دی فنیل و به لوله آزمایش حاوی نمونه شاهد ۰/۱ میلی‌لیتر محلول سدیم هیدروکسید ۰/۵ درصد اضافه و محتویات هر لوله کاملاً مخلوط شد. لوله‌های آزمایش در درجه حرارت اتاق به مدت

پکتین از طریق ترسیم نمودار غلظت پکتین در محور افقی در برابر لگاریتم طبیعی ویسکوزیته نسبی تقسیم بر غلظت (معادله Keramer) و ویسکوزیته ویژه تقسیم بر غلظت (معادله Huggins) در محور عمودی برآورده شد (Pegan *et al.*, 2001).

$$\text{معادله (۴): } (\ln \eta_{rel})/C = [\eta] + K[\eta]^2 \quad (\text{Keramer})$$

$$\text{معادله (۵): } (\eta_{sp}/C) = [\eta] + K[\eta]^2 C \quad (\text{Huggins})$$

میانگین نقطه تلاقی این دو نمودار با محور عمودی به عنوان ویسکوزیته ذاتی پکتین بر حسب دسی لیتر بر گرم قلمداد شد. در نهایت وزن مولکولی متوسط پکتین از معادله Mark Houwink Sakurada که در آن K و N اعداد ثابتی هستند که هر دو به دما و مشخصات حل شونده و حلال بستگی دارند (Mosayebi *et al.*, 2017).

$$\text{معادله (۶): } [\eta] = KM_v^a \text{rk Houwink Sakurada}$$

- تجزیه و تحلیل آماری

طراحی تیمارها به روش سطح پاسخ (باکس بنکن) انجام شد بنابراین ۱۵ تیمار طراحی شد. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های بازدهی، درجه استریفیکاسیون و گالاتورونیک اسید و آنالیز شرایط بهینه آن‌ها از روش باکس بنکن استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های بخش پایداری امولسیون و تعیین اسید مناسب با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (دانکن) در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار مینی تب ۱۶ انجام شد.

یافته‌ها

- تعیین اسید مناسب برای استخراج پکتین

نتایج تعیین اسید مناسب برای استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا در جدول (۲) گزارش شده است. همانطور که مشاهده می‌شود نوع اسید اثر معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بر میزان استخراج پکتین داشته است. بطوری که بیشترین میزان استخراج پکتین (۶/۵۳٪) با اسید سیتریک بوده است و کمترین میزان پکتین (۶/۳۷٪) به دست آمده مربوط به اسید فسفریک بوده است. بالا بودن میزان استخراج پکتین با اسید سیتریک به دلیل خاصیت چلاته‌کنندگی که دارد و

نقطه پایانی تیتراژ شد، حجم سود مصرفی به عنوان V2 یادداشت شد. درصد استری با توجه به معادله (۲) محاسبه شد (Santos *et al.*, 2013).

$$\text{معادله (۲): } DE (\%) = V2 / (V1 + V2) \times 100$$

- بررسی پایداری امولسیون

برای تخمین فعالیت امولسیفایری و ثبات امولسیون پکتین استخراج شده در شرایط بهینه با کمی تغییر روی نمونه‌های تولیدشده، در روز ۱ و ۳۰ در هر یک از دماهای ۲۳°C و ۴°C نگهداری به شرح زیر انجام شد.

برای تهیه امولسیون ۵ میلی لیتر ژل آلوئه‌ورا به ۵ میلی لیتر محلول پکتین ۵ درصد حجمی/وزنی (شامل ۰/۲ درصد سدیم آزید به عنوان ضد باکتری) اضافه شد. در مرحله بعد، نمونه‌ها با هموژنایزر در ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۴ دقیقه مخلوط شدند. سپس، امولسیون‌ها در شرایط دور ۴۰۰۰×g به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق سانتیفریوژ شدند (Dalev and Simeonova, 1995). فعالیت امولسیفایری با توجه به معادله (۳) محاسبه شد:

$$\text{معادله (۳): } \text{فعالیت امولسیفایری (درصد)} = (\text{حجم کل نمونه} / \text{حجم لایه امولسیون شده}) \times 100$$

- طیف FT-IR

طیف FT-IR با دقت ۴ بر سانتی متر و به وسیله اسپکترومتر FT-IR (پرکین المر، Perkin Elmer Co., MA, USA) با استفاده از روش صفحه KBr در دامنه ۴۰۰ تا ۴۵۰ بر سانتی متر رسم شد (Santos *et al.*, 2013).

- وزن مولکولی پکتین

در ابتدا برای اندازه‌گیری ویسکوزیته ذاتی ($[\eta]$) پکتین، غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۴ از پکتین در محلول آبی حاوی ۵ مولار استات سدیم و ۰/۱ مولار سدیم کلراید و ۰/۴ درصد سدیم از ید آماده سازی شد. محلول پکتین با صافی غشایی ۰/۴۵ میکرون صاف شد و زمان جریان آنها با استفاده از ویسکومتر لوله موین شماره ۵۱۸/۱۰ اندازه‌گیری شد. درجه حرارت محلول با غوطه‌ور کردن ویسکومتر در یک حمام آبی با دمای کنترل شده در ۲۵ درجه سانتی‌گراد ثابت نگه داشته شد. ویسکوزیته ذاتی

معنی‌داری ($P \leq 0.05$) در افزایش بازده پکتین داشت. به طوری که بالاترین راندمان در شرایط استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا ۶/۹ درصد در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۲۰ دقیقه و pH ۱ به دست آمد و کمترین راندمان ۵/۲ درصد در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۲۰ دقیقه و pH ۳ به دست آمد. نتایج نشان داد با افزایش دما، زمان استخراج و کاهش pH بازدهی پکتین به صورت معنی‌داری ($P \leq 0.05$) افزایش یافت.

مدل چند جمله‌ای استخراج پکتین در جدول ۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌گردد مقدار ضریب تبیین بازدهی پکتین (R^2)، ۹۹/۸۷ درصد و ضریب تبیین اصلاح شده آن (R^2 -adj)، ۹۹/۶۴ درصد بدست آمد که نشان‌دهنده برازش خوب مدل به داده‌های آزمایشی است. بر طبق جدول ۵، اثرات خطی هر سه متغیر زمان، دما و pH، اثرات مربعی دما، زمان و pH استخراج و نیز اثر متقابل بین دما \times pH و دما \times زمان بر بازدهی پکتین معنی‌دار ($P \leq 0.05$) بود. بطوریکه با افزایش دما و زمان و کاهش pH میزان استخراج به شکل معنی‌داری افزایش نشان داد. ضمناً اثرات متقابل زمان \times pH بر بازدهی پکتین معنی‌دار ($P > 0.05$) نبود. همچنین دمای استخراج موثرترین فاکتور بر بازده پکتین بود.

حضور ترکیبات جاذب الرطوبه در آن نسبت به سایر اسیدها در استخراج پکتین موثرتر عمل نمود (Raji et al., 2017).

جدول ۲- تعیین اسید مناسب برای استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا (تأثیر اسید سیتریک، اسید نیتریک، اسید فسفریک و اسید سولفوریک)

Table 2. Determination of suitable acid for pectin extraction from aloe vera leaves (effect of citric acid, nitric acid, phosphoric acid and sulfuric acid)

Type of acid	Pectin extraction (%)
Citric acid	6.535±0.022 ^a
Nitric acid	6.395±0.021 ^{bc}
Phosphoric acid	6.375±0.035 ^c
sulfuric acid	6.485±0.023 ^{ab}

- بازدهی استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا

بازدهی استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا و مقادیر پیش‌بینی شده در شرایط مختلف بازدهی استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا در جدول (۳)، گزارش شده است. همانطور که مشاهده می‌شود شرایط متفاوت استخراج تأثیر قابل توجهی روی بازده پکتین دارد ($P \leq 0.05$). به طوری که بازده تولید از ۵/۲ درصد تا ۶/۹ درصد متغیر بود. نتایج نشان داد با افزایش دما (از ۳۵ به ۹۵ درجه سانتی‌گراد)، زمان استخراج (از ۴۰ به ۱۲۰ دقیقه) و کاهش pH (از ۳ به ۱) اثر

۱۰۰

جدول ۳- مقایسه بین میزان بازدهی، گالاکتورونیک اسید و درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی از برگ آلوئه‌ورا آزمون شده با پیش‌بینی شده در شرایط مختلف

Table 3. Comparison between yield, galacturonic acid and degree of pectin extraction extracted from aloe vera leaves tested and predicted in different conditions

Treatment	Pectin yield (%)		Galacturonic acid (%)		Degree of esterification (%)	
	Tested	Predicted	Tested	Predicted	Tested	Predicted
1	5.21	5.215	56.27	55.32	52.465	53.41
2	5.90	5.894	60.14	60.554	46.326	47.20
3	5.50	5.482	56.35	59.267	46.038	45.47
4	5.36	5.384	62.17	58.839	49.506	49.20
5	6.00	6.029	78.48	74.199	42.511	43.15
6	5.40	5.389	64.41	65.774	46.871	46.80
7	6.70	6.676	70.49	73.821	43.394	43.70
8	5.83	5.83	71.15	70.87	47.503	47.70
9	5.81	5.83	70.38	70.87	47.503	47.31
10	6.40	6.411	67.15	65.786	45.199	45.27
11	5.85	5.830	71.08	70.87	47.503	47.5
12	6.90	6.895	70.15	71.1	41.465	40.52
13	5.40	5.371	54.15	58.431	51.839	51.20
14	5.50	5.506	60.17	59.756	51.214	50.34
15	6.10	6.117	61.40	58.482	49.253	49.82

جدول ۴- مدل سطح پاسخ استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا

Table 4. Response surface model of pectin extraction from aloe vera leaves

Source	Model	R ²	R ² -adj
Pectin extraction yield (%)	5.830 + 0.57875 A + 0.0675 B - 0.26125 C + 0.18125 A ² - 0.04625 B ² - 0.08375 C ² + 0.065 AB - 0.1275 AC	99.87	99.64
Galacturonic acid (%)	70.87 + 3.7488 A + 3.7425 B - 4.1413C - 3.5037 A ² - 1.3113B ² - 6.3237C ² + 0.275 AB - 2.1675AC - 3.08 BC	78.99	66.37
Degree of esterification (%)	47.5033 - 1.9462 A - 1.1100 B + 3.5538 C - 0.9642 A ² - 0.2967 B ² + 0.7658 C ² + 0.2075 AB + 0.3400 AC + 0.7975 BC	96.76	93.90

A: Temperature, B: time, C: pH

جدول ۵- نتایج آنالیز رگرسیون مدل سطح پاسخ استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا

Table 5. Results of regression analysis of the response surface model of pectin extraction from aloe vera leaves

Source of changes	Pectin yield (%)		Galacturonic acid (%)		Degree of esterification (%)	
	P-value	F-value	P-value	F-value	P-value	F-value
regression	0.000*	426.39	0.068	4.07	0.003*	16.59
Linear effects	0.000*	1188.37	0.028*	7.34	0.000*	46.63
Temperature (A)	0.000*	2928.54	0.047*	6.85	0.003*	30.02
Time (B)	0.000*	39.84	0.048*	6.82	0.026*	9.77
pH (C)	0.000*	596.73	0.034*	8.36	0.000*	100.1
Square effects	0.000*	60.95	0.096	3.71	0.219	2.1
Temperature × Temperature (A ²)	0.000*	132.57	0.158	2.76	0.124	3.4
Time × Time (B ²)	0.032*	8.63	0.561	0.39	0.595	0.32
pH × pH (C ²)	0.003*	28.3	0.030*	8.99	0.203	2.15
Interaction effect	0.001*	29.85	0.412	1.16	0.447	1.05
Temperature × Time (A × B)	0.008*	18.47	0.020*	0.02	0.697	0.17
Temperature × pH (A × C)	0.032*	71.07	0.334	1.14	0.529	0.46
Time × pH (A × C)	1.000	0	0.189	2.31	0.173	2.52
Lack of fit	0.250	3.15	0.007	150.29	0.023	43.57

۱۰۱

آلوئه‌ورا معنی‌دار ($P \leq 0.05$) بود. با افزایش دمای استخراج و کاهش pH میزان بازدهی افزایش پیدا نمود. به طوری که میزان بازدهی ۶/۶ و بالاتر از آن در دماهای بالای ۸۷ درجه سانتی‌گراد و pH محدود ۱ تا ۱/۸ در زمان ثابت ۱۲۰ دقیقه مشاهده گردید.

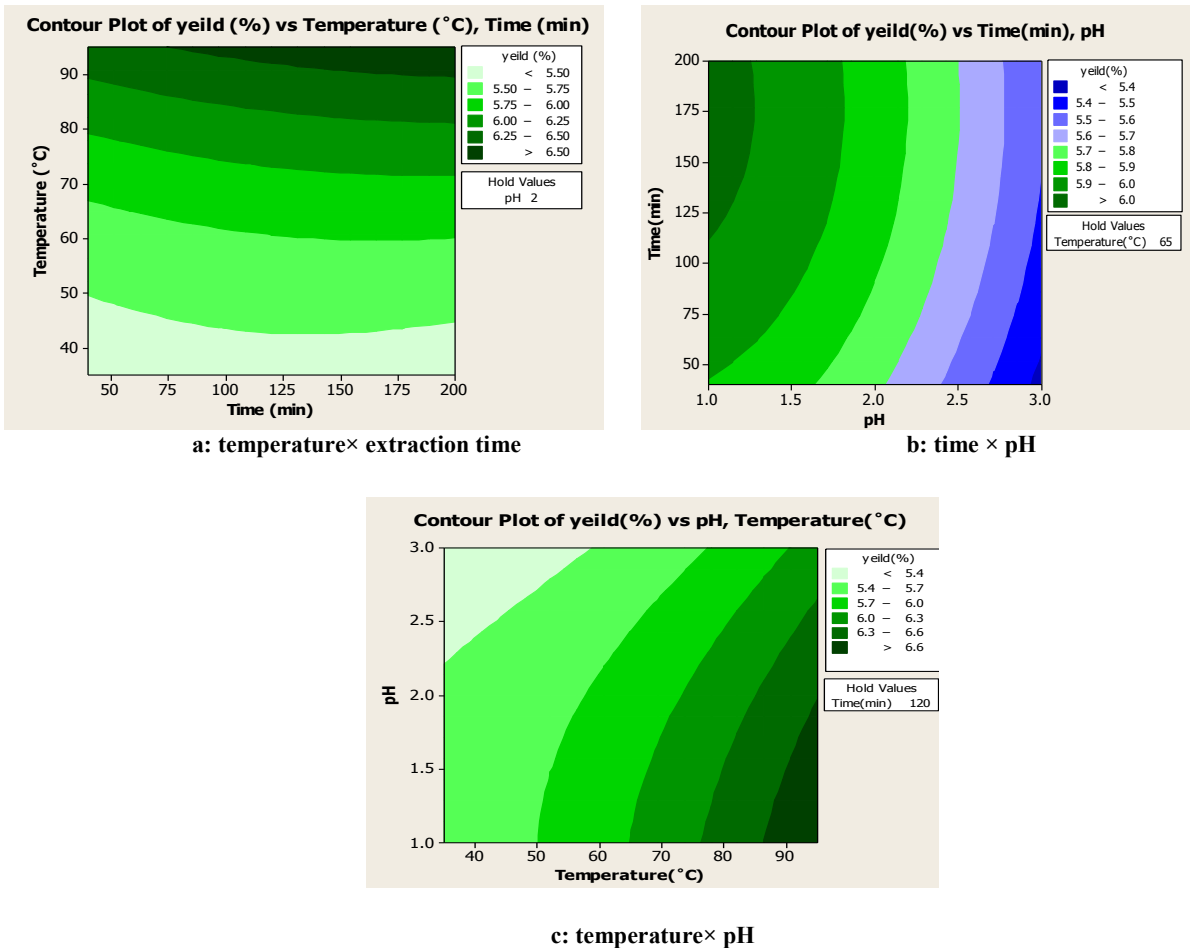
شرایط بهینه بازدهی استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا

مطابق با شکل ۲ پیش‌بینی شد حداکثر بازدهی یا میزان پکتین استخراجی از برگ آلوئه‌ورا ۶/۹۸ درصد با ۱۰۰ درصد مطلوبیت متعلق به دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۲۰۰ دقیقه و pH برابر ۱ می‌باشد. نتایج پیش‌بینی شده توسط آزمایشات تاییدی با دو بار تکرار انجام شد و اختلاف معنی‌داری بین مقادیر پیش‌بینی شده و واقعی مشاهده نگردید. Jafari و همکاران (2016) گزارش کردند در شرایط بهینه استخراج پکتین از تفاله هویج (pH برابر ۱/۳، دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۷۹/۸ دقیقه و نسبت مایع به جامد ۲۳/۳ حجمی/وزنی) میزان بازدهی ۱۵/۶

تاثیر شرایط استخراج بر روی راندمان بازدهی پکتین

نتایج اثرات متقابل بر بازدهی استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که در شکل a مشاهده می‌شود اثرات متقابل دما × زمان بر تغییرات بازدهی پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا معنی‌دار ($P \leq 0.05$) بود. با افزایش زمان و دمای استخراج میزان بازدهی افزایش پیدا کرد به طوری که میزان بازدهی ۶/۵ و بالاتر از آن در دماهای ۹۰ درجه سانتی‌گراد و بالاتر از آن و زمان‌های بین ۸۰ تا ۲۰۰ دقیقه در شرایط ثابت pH=۲ مشاهده گردید. مطابق با شکل b، اثرات متقابل pH × زمان بر تغییرات بازدهی پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا معنی‌دار ($P > 0.05$) نبود. با افزایش زمان و کاهش pH میزان بازدهی افزایش پیدا نمود. به طوری که میزان بازدهی ۶ و بالاتر از آن در زمان ۱۱۰ تا ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و pH ۱ تا ۳/۱ در دمای ثابت ۶۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید. مطابق با شکل c، اثرات متقابل دما × pH بر تغییرات بازدهی پکتین استخراج شده از برگ

درصد بود که نزدیک به میزان پیش‌بینی شده (۱۶ درصد) بود.



۱۰۲

Figure 1. Interactions on the efficiency of pectin extraction from aloe vera leaves. a) Extraction temperature and time, b) Extraction time and pH, c) Extraction temperature and pH.

شکل ۱- اثرات متقابل بر بازدهی استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا می‌باشند. (a) درجه حرارت و زمان استخراج، (b) زمان و (c) pH استخراج

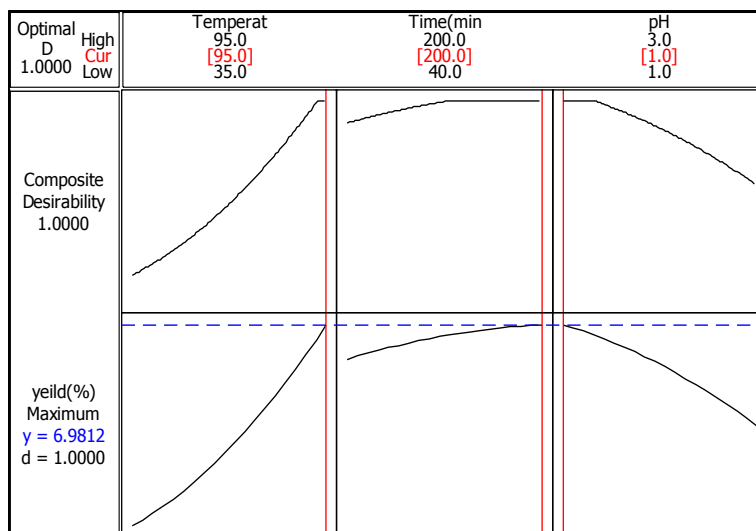


Figure 2. Optimal conditions for extracting pectin from aloe vera leaves

شکل ۲- شرایط بهینه برای استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا

درصد گالاکتورونیک اسید افزایش یافت به طوری که گالاکتورونیک اسید در مقادیر ۷۲/۵ و بالاتر در زمان‌های بالاتر از ۱۲۵ دقیقه و دمای بالاتر از ۶۰ درجه سانتی‌گراد در نقطه ثابت $pH=2$ مشاهده گردید. مطابق با شکل b، اثرات متقابل $pH \times$ زمان بر میزان گالاکتورونیک اسید پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا معنی‌دار ($p > 0.05$) نبود. با افزایش زمان استخراج و کاهش pH میزان گالاکتورونیک اسید افزایش داشته است به طوری که بالاترین میزان گالاکتورونیک اسید یعنی ۷۵ درصد و بالاتر در زمان‌های بالاتر از ۱۸۵ دقیقه و pH محدوده ۱/۲ تا ۱/۵ در دمای ثابت ۶۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید. مطابق با شکل c، اثرات متقابل دما $\times pH$ بر میزان گالاکتورونیک اسید پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا معنی‌دار ($p > 0.05$) نبود. با افزایش دمای استخراج و کاهش pH میزان استخراج پکتین افزایش داشته است به طوری که بالاترین میزان استخراج یعنی ۷۲ درصد و بالاتر در دمای ۶۸ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد و pH محدوده ۲-۱/۲ در زمان ثابت ۱۲۰ دقیقه مشاهده شد.

۱۰۳ - شرایط بهینه گالاکتورونیک اسید استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا

مطابق با شکل ۴ نمودار نقطه بهینه درصد گالاکتورونیک اسید در پکتین استخراجی از برگ آلوئه‌ورا پیش‌بینی شد حداکثر گالاکتورونیک اسید در میزان پکتین استخراجی از برگ آلوئه‌ورا ۷۷/۴۴ درصد با ۹۵ درصد مطلوبیت متعلق به دمای ۸۸/۹۳ درجه سانتی‌گراد، زمان ۲۰۰ دقیقه و pH برابر با ۱/۲۸ بود. نتایج پیش‌بینی شده توسط آزمایشات تأییدی با دو بار تکرار انجام شد و اختلاف معنی‌داری بین مقادیر پیش‌بینی شده و واقعی مشاهده نگردید. Hosseini و همکاران (۲۰۱۶) میزان گالاکتورونیک اسید در پکتین استخراجی از پوست نارنج در شرایط بهینه با کمک امواج مایکروویو را ۷۱ درصد گزارش نمودند.

- درجه استریفیکاسیون برگ آلوئه‌ورا

به واکنش یک کربوکسیلیک اسید (گروه عاملی -COOH) با یک الکل (گروه عاملی -OH) که طی آن

- میزان گالاکتورونیک اسید برگ آلوئه‌ورا

در بعضی از منابع علمی از پکتین به‌عنوان گالاکتورونان^۱ نام برده می‌شود، به این دلیل که پکتین‌ها زیست بسیار پیچیده‌ای هستند که به طور غالب متشکل از گالاکتورونیک اسیدهایی که به طور جزئی متیله شده‌اند می‌باشند. با توجه به اینکه گالاکتورونیک اسید ترکیب اصلی پکتین است با تعیین مقدار آن می‌توان خلوص پکتین رسوب داده شده با الکل را تخمین زد (Garna et al., 2007). با توجه به جدول ۳، در pH و دماهای متفاوت استخراج با افزایش دما از ۳۵ به ۶۵ درجه سانتی‌گراد، افزایش زمان از ۴۰ به ۲۰۰ دقیقه و کاهش pH از ۳ به ۱ درصد گالاکتورونیک اسید به شکل معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین درصد گالاکتورونیک اسید برای برگ آلوئه‌ورا در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۲۰۰ دقیقه و pH ۱ برابر با ۷۸/۴۸ درصد بوده است در حالی که کمترین درصد گالاکتورونیک اسید برای پکتین استخراج شده ۵۴/۱۵ درصد در شرایط دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۴۰ دقیقه و pH برابر با ۱ بوده است.

مدل چند جمله‌ای پیش‌بینی شده گالاکتورونیک اسید در جدول ۴ نشان داده شده است. همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود ضریب تبیین این مدل (R^2)، ۷۸/۹۹ درصد و ضریب تبیین اصلاح شده آن (R^2 -adj) ۶۶/۳۷ درصد بدست آمد که نشان‌دهنده برازش خوب مدل به داده‌های آزمایشی است. بر طبق جدول (۵) اثرات خطی درجه حرارت (A)، زمان (B) و pH (C) و اثر مربعی $pH \times$ اثرات متقابل دما \times زمان بر تغییرات میزان گالاکتورونیک اسید معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود. نتایج نشان داد با افزایش دما و کاهش pH میزان گالاکتورونیک اسید به شکل معنی‌داری افزایش یافت.

- تاثیر شرایط استخراج بر روی گالاکتورونیک اسید

نتایج اثرات متقابل بر گالاکتورونیک اسید استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا در شکل ۳ نشان داده شده است. با توجه به شکل a اثرات متقابل دما \times زمان بر میزان گالاکتورونیک اسید پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا معنی‌دار ($p > 0.05$) بود. با افزایش دما و زمان استخراج

¹ Galacturonan

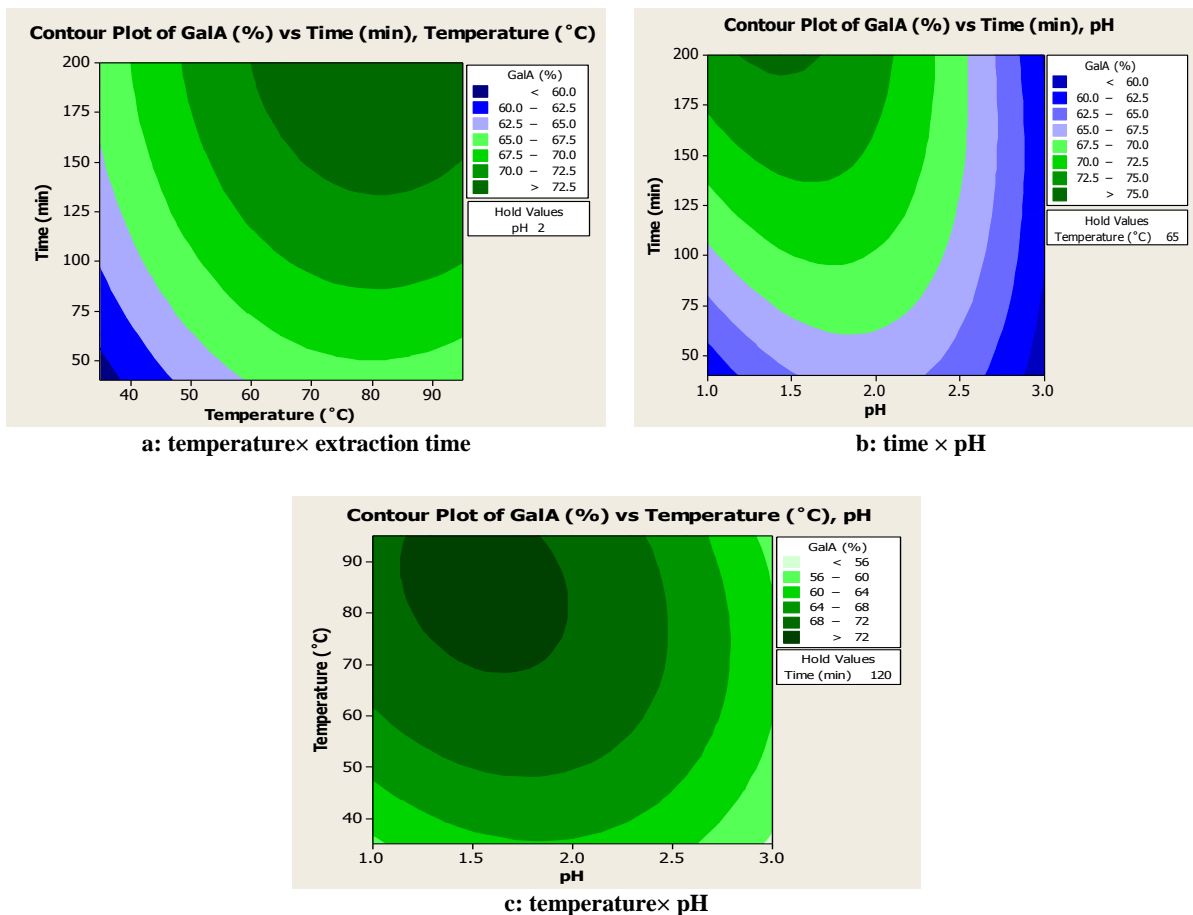


Figure 3. Interactions effect of galacturonic acid percentage of pectin extracted from aloe vera leaves, a) extraction temperature and time, b) extraction time and pH, c) extraction temperature and pH.

شکل ۳ - اثرات متقابل درصد گالاکتورونیک اسید پکتین استخراجی از برگ آلوئه‌ورا، (a) درجه حرارت و زمان استخراج، (b) زمان و pH و (c) درجه حرارت و pH استخراج

۱۰۴

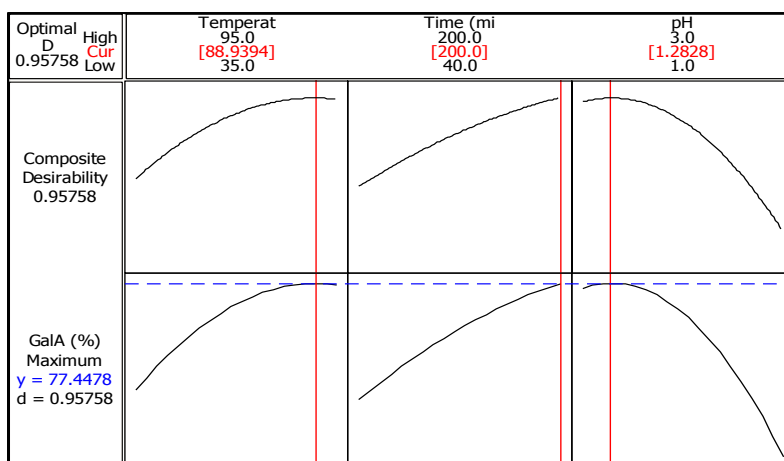


Figure 4. Optimal condition for galacturonic acid content of pectin extraction from aloe vera leaves

شکل ۴ - شرایط بهینه برای درصد گالاکتورونیک اسید استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا

استری شدن یک واکنش تعادلی بوده که در حضور کاتالیزگر مناسبی (مانند H_2SO_4) انجام می‌پذیرد. درجه استریفیکاسیون پکتین، یکی از مهمترین پارامترها برای

یک استر و آب بدست می‌آید، واکنش استری شدن می‌گویند. در این واکنش بر اساس ساز و کار آن OH از اسید و H از الکل کننده شده و آب تولید می‌شود. واکنش

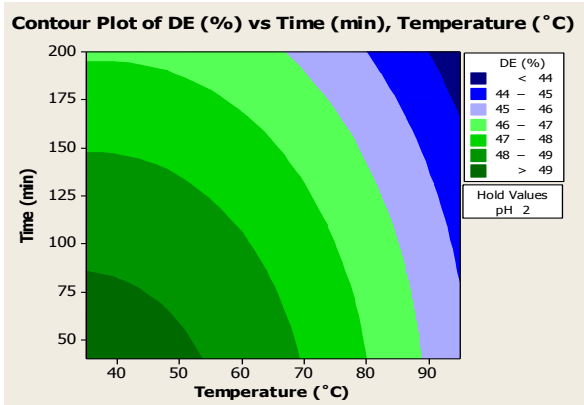
(R^2-adj) ، ۹۳/۹۰ درصد بدست آمد که نشان دهنده برازش خوب مدل به داده‌های آزمایشی است. بر طبق جدول (۵)، اثرات خطی درجه حرارت (A)، زمان (B) و pH (C)، عبارتهای معنی‌دار ($p \leq 0.05$) در این مدل بودند. اثرات مربعی درجه حرارت، زمان و pH و اثرات متقابل دما × زمان، دما × pH، pH × زمان معنی‌دار نبودند.

تاثیر شرایط استخراج بر روی درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا

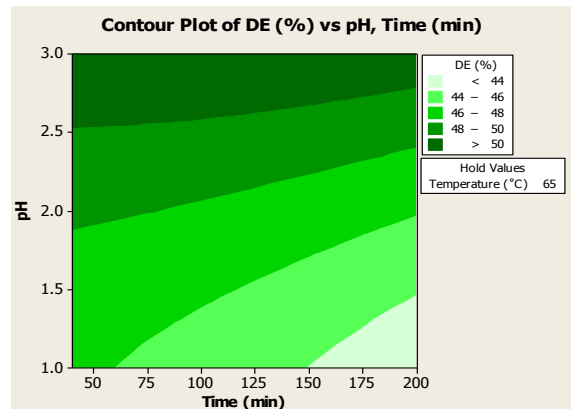
نتایج اثرات متقابل بر درجه استریفیکاسیون استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا در شکل ۵ نشان داده شده است.

شناسایی کاربرد آن است، که بنا به تعریف نشانگر تعداد مول‌های متانول به ازای ۱۰۰ مول گالاکتورونیک اسید است (Santos *et al.*, 2013). با توجه به نتایج جدول (۳)، بیشترین مقدار استریفیکاسیون برای پکتین استخراج شده از برگ آلوئه ۵۳/۴۱۰ درصد در درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۲۰ دقیقه و pH برابر ۳/۰۰ بود. کمترین مقدار درجه استریفیکاسیون برای پکتین ۴۳/۱۵۰ درصد در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۲۰۰ دقیقه و pH برابر با ۱ حاصل گردید.

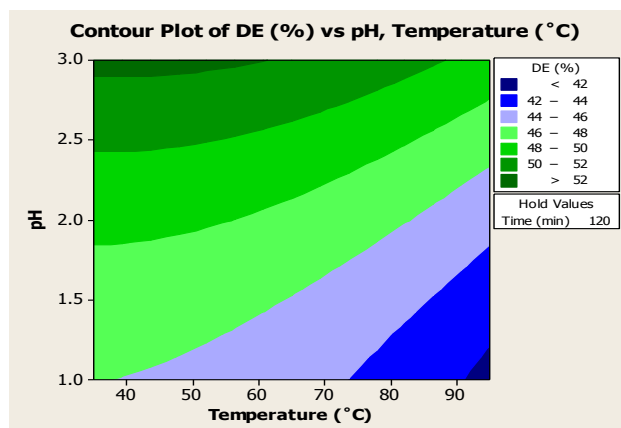
مدل چندجمله‌ای پیش بینی شده درجه استریفیکاسیون در جدول ۴ نشان داده شده است. مقدار ضریب تبیین این مدل (R^2)، ۹۶/۷۶ درصد و ضریب تبیین اصلاح شده آن



a: temperature × extraction time



b: time × pH



c: temperature × pH

Figure 5. Interactions effect of the degree of sterification of pectin extracted from aloe vera leaves, a) extraction temperature and time, b) extraction time and pH, c) extraction temperature and pH.

شکل ۵- اثرات متقابل درصد درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی از برگ آلوئه‌ورا، (a) درجه حرارت و زمان استخراج، (b) زمان و pH، (c) درجه حرارت و pH استخراج

۱۰۵

مشاهده نگردید. Hoseini و همکاران (۲۰۱۶)، شرایط بهینه استخراج پکتین از پوست نارنج را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند محدوده درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی ۱۷ درصد تا ۳۰/۵ درصد درجه بوده است و پکتین مذکور در گروه پکتین با استریفیکاسیون پایین طبقه‌بندی گردیده است.

– بهینه‌سازی همزمان شرایط استخراج پکتین روی درصد بازدهی، درصد گالاتورونیک اسید و درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی از برگ آلوئه‌ورا
 شکل ۷ نمودار بهینه یا اپتیمم بازده، درصد گالاتورونیک اسید و درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی از برگ آلوئه‌ورا را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، پیش‌بینی شد شرایط بهینه استخراج برای دستیابی به حداکثر میزان بازدهی، گالاتورونیک اسید با ۹۷ درصد مطلوبیت در دمای ۹۴/۳۹ درجه سانتی‌گراد، زمان ۲۰۰ دقیقه و pH برابر ۱/۲۴ که بازدهی در آن ۶/۹ درصد، گالاتورونیک اسید ۷۷/۳۳ درصد به دست آمده بود. نتایج به پیش‌بینی شده توسط آزمایشات تأییدی با دو بار تکرار انجام شد و اختلاف معنی‌داری بین مقادیر پیش‌بینی شده و واقعی مشاهده نگردید. راجی و همکاران (۲۰۱۷)، نیز شرایط بهینه دما، زمان، pH، نسبت حلال به نمونه را برای استخراج پکتین از پوست خربزه به روش اسیدی مورد ارزیابی قرار دادند و گزارش کردند بالاترین میزان بازدهی استخراج پکتین از پوست خربزه ۲۹/۴۸ درصد بود که در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، زمان استخراج ۲۰۰ دقیقه، pH و نسبت حلال به نمونه ۱۰ وزنی/حجمی بدست آمد.

مطابق با شکل a اثرات متقابل دما × زمان بر درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا معنی‌دار ($p > 0.05$) نبود. بالاترین میزان درجه استریفیکاسیون (بالای ۴۹ درصد) در دمای ۳۵ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد و زمان ۴۵ تا ۸۰ دقیقه در pH ثابت ۲ مشاهده گردید. مطابق با شکل b اثرات متقابل pH × زمان بر درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا معنی‌دار ($p > 0.05$) نبود. درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا در مقادیر ۵۰ درصد و بالاتر در محدوده زمانی ۴۵ تا ۲۰۰ دقیقه در pH ۲/۵ تا ۳ در دمای ثابت ۶۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید. مطابق با شکل c اثرات متقابل دما × pH بر درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا معنی‌دار ($p > 0.05$) نبود. درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا در مقادیر ۵۲ درصد و بالاتر از آن در محدوده دمایی ۳۵ تا ۶ درجه سانتی‌گراد و pH ۲/۸ تا ۳ با زمان ثابت ۱۲۰ دقیقه مشاهده گردید.

– شرایط بهینه درجه استریفیکاسیون استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا

۱۰۶

مطابق با شکل ۶ نمودار بهینه درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی از برگ آلوئه‌ورا پیش‌بینی شد حداکثر درجه استریفیکاسیون از برگ آلوئه‌ورا ۵۲/۶۹ درصد با ۹۳ درصد مطلوبیت متعلق به دمای ۳۷/۴۲ درجه سانتی‌گراد، زمان ۵۲/۹۲ دقیقه و pH برابر با ۳ می‌باشد. نتایج پیش‌بینی شده توسط آزمایشات تأییدی با دو بار تکرار انجام شد و اختلاف معنی‌داری بین مقادیر پیش‌بینی شده و واقعی

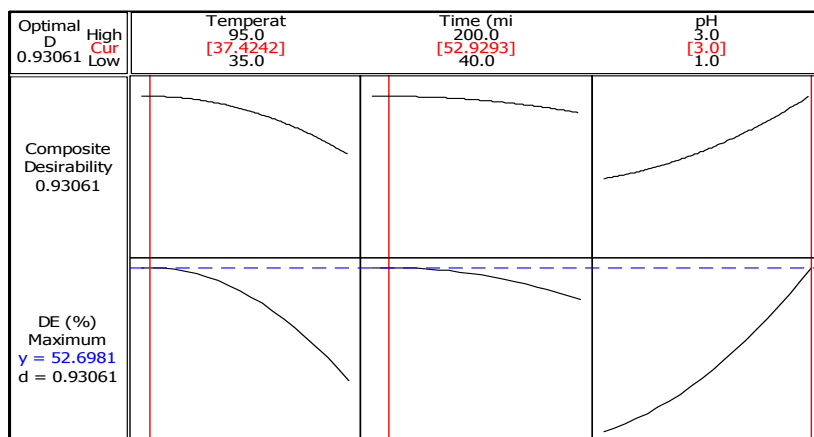


Figure 6. Optimal conditions for the degree of esterification of pectin extraction from aloe vera leaves

شکل ۶- شرایط بهینه برای درجه استریفیکاسیون استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا

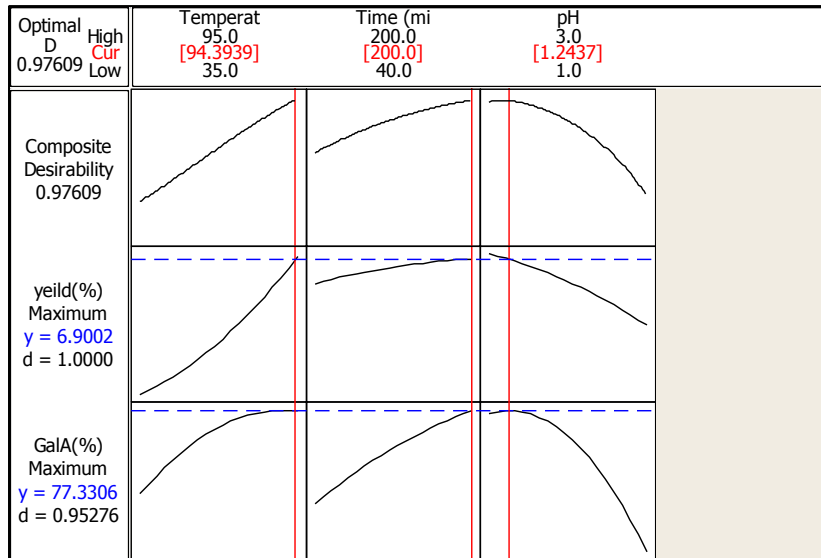


Figure 7: Simultaneous optimal diagram, yield and percentage of galacturonic acid extracted from aloe vera leaves

شکل ۷- نمودار بهینه همزمان، بازده و درصد گالاکتورونیک اسید استخراجی از برگ آلوئه‌ورا

– اندازه‌گیری پایداری امولسیون

پایداری امولسیفایری و ثبات امولسیون پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا در شرایط بهینه با استفاده از محلول ۰/۵ درصد وزنی/وزنی پکتین در آب مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۶) بعد از سانتریفیوژ کردن امولسیون‌ها ۳ فاز قابل تشخیص در محیط مشاهده شد. فاز روغنی با چگالی کمتر در بالا، فاز امولسیونی به علت چگالی متوسط در وسط و فاز آبی با چگالی بالاتر در پایین بودند. همان‌طور که مشاهده می‌شود پایداری امولسیفایری بعد از ۳۰ روز برابر با ۶۳ درصد بوده است، و همچنین پایداری امولسیون در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد بعد از یک روز برابر با ۷۴ درصد بود. نتایج نشان می‌دهد پایداری امولسیون پکتین حاصل از برگ آلوئه‌ورا در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مراتب بیشتر از دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

– طیف FT-IR پکتین حاصل از برگ آلوئه‌ورا در شرایط بهینه

شکل (۸)، نشان‌دهنده طیف FT-IR پکتین حاصل از برگ آلوئه‌ورا در شرایط بهینه می‌باشد. با توجه به شکل (۸)، ناحیه جذب قوی بین ۳۲۰۰-۳۵۰۰ OH می‌باشد، مربوط به لرزش باندهای هیدروژنی داخل و خارج مولکولی است.

– وزن مولکولی پکتین

وزن مولکولی پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا در شرایط بهینه ۱۲۷ کیلو دالتون بود. با توجه به وزن مولکولی پکتین‌های تجاری که بین ۵۰ تا ۱۵۰ کیلو دالتون می‌باشد، بنابراین پکتین استخراج شده در این تحقیق در محدوده پکتین‌های تجاری می‌باشد.

بحث

در این تحقیق ۴ اسید مختلف شامل اسید سیتریک، اسید فسفریک، اسید نیتریک و سولفوریک استفاده شد. لازم به ذکر است که از لحاظ بهداشتی اسید نیتریک ممکن است یون نیترات را در پکتین باقی‌گذارد که ممکن است در سیستم گوارشی انسان به نیتريت تبدیل شود و تولید نیتروزآمین و نیروزآمید کند که از ترکیبات جهش‌زا شناخته شده است. اسید سولفوریک هم می‌تواند یون گوگرد بر جای گذارد و موجب آلرژی و تنگی نفس شود. از این بین اسیدسیتریک و اسید فسفریک نسبت به دو اسید دیگر مضرات کمتری دارد (Keramat et al., 2002).

Jamsazzadeh Kermani و همکاران (2014) در نتیجه مطالعاتشان گزارش کردند اسید سیتریک قابلیت استخراج میزان بالاتری پکتین نسبت به اسید کلریدریک و اسید سولفوریک را دارد. آنها علت آن را نیز مربوط به خاصیت چلاته‌کنندگی (باندکنندگی) اسید سیتریک بیان

جدول ۶- پایداری امولسیفایری (%) پکتین استخراج شده از برگ آلوئه‌ورا در شرایط بهینه و مقایسه آن با پکتین تجاری

Table 6. Emulsification stability (%) of pectin extracted from aloe vera leaves under optimal conditions and comparison with commercial pectin

Temperature (°C)	DAY 1		DAY 30	
	23	4	23	4
Pectin extracted from aloe vera leaves	74	87	63	75

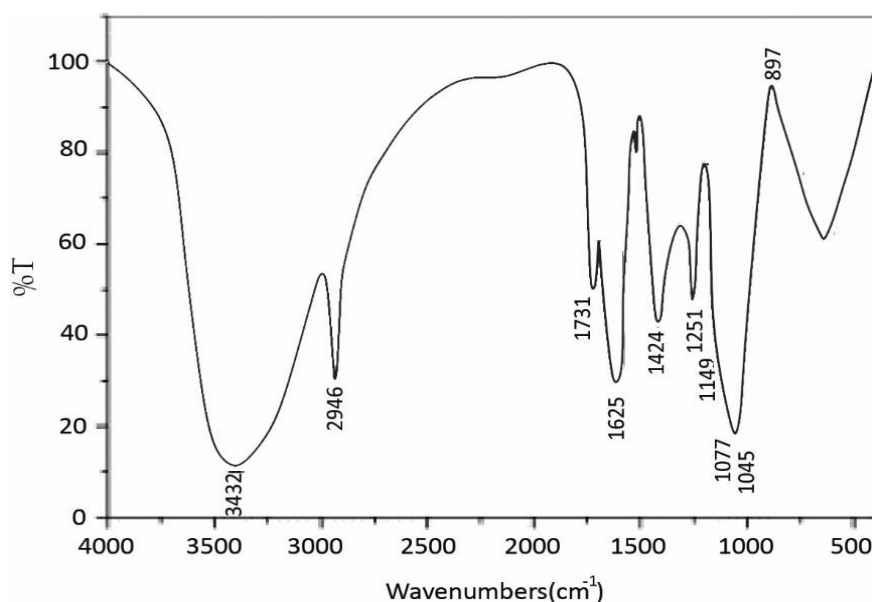


Figure 8. FT-IR spectrum of pectin from aloe vera leaves

شکل ۸- طیف FT-IR پکتین حاصل از برگ آلوئه‌ورا

(1996) توانستند توسط هیدروکلریک اسید پکتین را با بازده ۲۱/۸ درصد از پوست گریپفروت استخراج کنند. پس از استخراج با اسید رسوب گذاری پکتین و خالص سازی آن را با استفاده از اتانول انجام داده‌اند. از طرفی کرامت و همکاران (۱۳۸۱) با سه اسید مختلف شامل اسید نیتریک، سولفوریک و هیدروکلریک پکتین موجود در تفاله مرکبات را استخراج کردند و گزارش کردند که بیشترین راندمان استخراج مربوط به سولفوریک اسید بوده است.

علت افزایش بازدهی با افزایش زمان استخراج می‌تواند به دلیل افزایش زمان مورد نیاز برای رهایش کامل پکتین به درون محلول اسیدی باشد (Mosayebi *et al.*, 2017). بسیاری از محققین گزارش کرده‌اند دمای بالا موجب افزایش بازدهی استخراج می‌شود (Ye *et al.*, 2011; Vinogradov *et al.*, 2003). افزایش بازدهی با افزایش دمای استخراج می‌تواند به این دلیل باشد که افزایش حرارت باعث افزایش حلالیت پکتین شده و همچنین ضریب انتشار بیشتر می‌شود و در نتیجه سرعت استخراج

داشتند. اسید سیتریک می‌تواند میزان بیشتری از پکتین‌های محلول را باند و سپس استخراج کند. بنابراین بازدهی استخراج پکتین با اسید سیتریک نسبت به دو اسید دیگر که ماهیت چلاته‌کنندگی ندارند بالاتر می‌رود.

Azadbakht و همکاران (2003) گزارش کردند آن بهترین نتیجه استخراج و جداسازی پکتین از میوه گیاه دارایی استخراج استفاده از اسیدکلریدریک و جداسازی با اتانل بوده است.

Lin و همکاران (1978) اعلام کردند که افزودن مقادیر کمی هیدروکلریک اسید به رسوب پکتین سیب درختی موجب خالص سازی بهتر پکتین با اتانول می‌گردد. همچنین این محققین حلال‌های متفاوتی را برای استخراج پکتین در حرارت‌های ۳۶ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به کار بردند و اعلام کردند بیشترین بازده استخراج به ترتیب توسط هیدروکلریک اسید، سولفوریک اسید، اگزالات آمونیوم و سدیم‌هگزامتافسفات و در حرارت‌های ۶۰ و ۳۶ درجه سانتی‌گراد به دست آمده است. Arsalan & Togrul,

شد و اثر دما (۳۵-۹۵ درجه سانتی‌گراد)، زمان (۲۰۰-۲۰۰ میکروگرم)، pH (۱-۳) بررسی شد. بیشترین عملکرد استخراج (۱/۷ ± ۲۹/۴۸) در شرایط بهینه (pH ۱، دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و پس از ۲۰۰ دقیقه) به دست آمد. Abid و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی خواص پکتین استخراج شده از پوست انار توسط اسید سیتریک پرداختند. مطابق با نتایج، بالاترین راندمان استخراج از پوست انار، بین ۶/۸ و ۱۰/۱ درصد در شرایط دمای ۸۶ درجه سانتی‌گراد، زمان ۸۰ دقیقه و pH ۱/۵ مشاهده گردید. در واقع علت اینکه با افزایش زمان محتوای گالاکتورونیک اسید استخراجی پکتین بیشتر می‌شود مربوط به جدا شدن ترکیبات غیر پکتینی است چرا که سایر پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی مثل سلولز، همی سلولز، آرابان، گالاکتان‌ها هم استخراج می‌شوند. علت دیگر افزایش محتوای گالاکتورونیک اسید استخراجی پکتین با گذشت زمان افزایش هیدرولیز زنجیره‌های جانبی قندهای خنثی متعلق به ساختار خود پکتین است. این زنجیره‌های جانبی که جزئی از ساختار خود پکتین است و با پیوند کووالانسی به بخش زنجیره خطی آن متصل شده‌اند در ناحیه رامنوگالاکتورونان ۱ عمدتاً از آرابینان و گالاکتان تشکیل شده است و به ناحیه رامنوگالاکتورونان ۲ نیز ۴ زنجیره جانبی با ۱۱ نوع قند مختلف از جمله آپیزو استخلاف شده است با افزایش زمان استخراج این زنجیره‌های جانبی بیشتر جدا می‌شوند (Mosayebi et al., 2017). Nateghi و همکاران (2017) به بررسی بازده و خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین استخراجی از ضایعات پوست بادمجان پرداختند. بالاترین راندمان استخراج از پوست بادمجان، ۳۰/۲۸ درصد در شرایط شدید استخراج دما ۹۰ °C، زمان ۱۵۰ min و pH ۱/۵، مشاهده گردید. آنالیز واریانس نشان داد که دمای استخراج مؤثرترین فاکتور بر بازده و درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده بود. Chaharbaghi و همکاران (2017) شرایط استخراج پکتین موجود در پوسته سبز پسته را مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که بیشترین راندمان استخراج پکتین شرایط دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، pH برابر ۰/۵ و زمان ۳۰ دقیقه بوده است. مطابق نتایج جدول ۲، اختلاف معنی‌داری بین مقادیر تجربی و میزان عددی پیش‌بینی شده بازدهی استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا در این تحقیق مشاهده نگردید. در مطالعه Raji و همکاران (۲۰۱۷) استخراج اسید (اسید سیتریک) برای استخراج پکتین از پوسته هندوانه استفاده

افزایش می‌یابد و همچنین افزایش انتقال جرم از ماده به محلول گزارش کرده‌اند (Sohair et al., 1987; Li et al., 2006). همچنین افزایش بیش از حد ماده جامد خود باعث کاهش راندمان استخراج شده زیرا باعث تعادل دینامیکی بین ماده جامد و محلول و کاهش میزان انتقال جرم می‌گردد (Prakash Maran et al., 2013). از طرفی با افزایش درجه حرارت ضریب نفوذ افزایش یافته و از این رو سرعت انتشار تقویت خواهد گردید (Masmoudi et al., 2008). علت رابطه‌ی افزایش بازدهی با کاهش pH مربوط به تأثیر اسید بر دیواره سلولی محصول اولیه و آزادسازی پکتین در محلول استخراج گردیده بود. لذا هرچه اسید قوی‌تر باشد، تخریب دیواره سلولی بیشتر و متعاقب آن، آزادسازی و در نتیجه تولید پکتین نیز بیشتر خواهد بود (Chen et al., 2014; Ma et al., 2013).

به عبارت دیگر در تایید نتایج تحقیق حاضر حلال بایستی اول به درون بافت تفاله خشک نفوذ کرده، پکتین را در خود حل کند و متعاقباً آن را به بیرون از بافت تفاله تراوش کند (Methacanon et al., 2014).

Nateghi و همکاران (2017) به بررسی بازده و خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین استخراجی از ضایعات پوست بادمجان پرداختند. این محققین بیان نمودند جهت بررسی خصوصی فیزیکوشیمیایی پکتین حاصله نیز آزمون پایداری امولسیون در روزها و دماهای مختلف، بررسی رفتار جریان در غلظت‌های متفاوت انجام شد. مطابق با نتایج، بالاترین راندمان استخراج از پوست بادمجان، ۳۰/۲۸ درصد در شرایط شدید استخراج دما ۹۰ °C، زمان ۱۵۰ min و pH ۱/۵، مشاهده گردید. آنالیز واریانس نشان داد که دمای استخراج مؤثرترین فاکتور بر بازده و درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده بود. Chaharbaghi و همکاران (2017) شرایط استخراج پکتین موجود در پوسته سبز پسته را مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که بیشترین راندمان استخراج پکتین شرایط دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، pH برابر ۰/۵ و زمان ۳۰ دقیقه بوده است. مطابق نتایج جدول ۲، اختلاف معنی‌داری بین مقادیر تجربی و میزان عددی پیش‌بینی شده بازدهی استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا در این تحقیق مشاهده نگردید. در مطالعه Raji و همکاران (۲۰۱۷) استخراج اسید (اسید سیتریک) برای استخراج پکتین از پوسته هندوانه استفاده

درجه استریکاسیون پکتین استخراجی از پوست بادمجان ۸۳/۲۰۰ درصد در شرایط دمای 60°C ، زمان ۵۰ min و $\text{pH}=3$ بود.

Nateghi و همکاران (2017) به بررسی بازده و خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین استخراجی از ضایعات پوست بادمجان پرداختند. بیشترین پایداری امولسیون پکتین پوست بادمجان در دما ۴ درجه سانتی‌گراد و روز اول بوده است. با افزایش غلظت نمونه‌های پکتین از (۱ تا ۲ درصد) ضریب قوام آن‌ها افزایش یافته و رفتار تمام نمونه‌ها نیوتنی بود. Ma و همکاران (2013)، خواص امولسیفایری پکتین حاصل از چغندرقد را مورد بررسی قرار دادند و به نتایج مشابهی دست یافتند. این پژوهشگران بیان داشتند که دامنه پایداری امولسیون حاصل از پکتین بدست آمده توسط اسیدهای مختلف در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بعد از یک روز بین $79/4 - 74/3$ درصد و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد بعد از یک روز بین $69/3 - 62/1$ درصد بوده است. همچنین این فاکتور بعد از ۳۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بین $79/3 - 74/2$ درصد و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد بین $69/2 - 62/1$ درصد بود. در نتیجه می‌توان بیان داشت که پایداری امولسیون در دماهای مختلف متفاوت بوده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مراتب بیشتر از ۲۳ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. Raji و همکاران (2017)، نیز اعلام داشتند پکتین استخراجی از پوست خربزه به روش اسیدی در غلظت ۱ درصد وزنی/حجمی ژل ضعیفی تولید نمود و پایداری امولسیون مذکور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد از ۲۳ درجه سانتی‌گراد بیشتر بود. Jafari و همکاران (۲۰۱۷)، از تفاله هویج پکتین استخراج نمودند و اعلام داشتند پکتین استخراجی از تفاله هویج در گروه پکتین با درجه استریفیکاسیون پایین طبقه‌بندی شده است و پایداری بالایی در دو دمای نگهداری ۴ و ۲۳ درجه سانتی‌گراد نشان داده است. باندهای کششی OH در دامنه‌ای از فرکانس اتفاق می‌افتند و نشان‌دهنده اجزای مختلفی، شامل باندهای کششی حاصل از گروه‌های کربوکسیل آزاد در فاز بخار و همچنین باندهای خمشی موجود در گروه‌های کربوکسیلیک اسید می‌باشند. در نمونه پکتین نیز ناحیه مذکور مربوط به لرزش داخل و خارج سلولی باند هیدروژنی در پلیمر گالاتکتورونیک اسید می‌باشد.

زمان ۵۰ درجه بوده است. Yapo و همکاران (2007) پکتین را از چغندرقد در شرایط مختلف استخراج کرده و دریافتند که pH مؤثرترین فاکتور بر درصد گالاتکتورونیک اسید بوده و پکتین استخراج‌شده در pH برابر با ۱/۵ از پکتین استخراج‌شده در pH برابر با ۲ خالص‌تر بود. دما هم تأثیر متوسطی بر درصد گالاتکتورونیک اسید دارد. در واقع با کاهش pH ، افزایش دما و زمان استخراج علی‌رغم افزایش بازده، درجه استریفیکاسیون پکتین به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد که این کاهش می‌تواند به علت تجزیه پیوندهای استری پکتین در شرایط سخت هیدرولیز اسیدی باشد. Yapo و همکاران (2007) نیز گزارش کردند که شرایط سخت‌تر استخراج از نظر pH و دما، داستریفیکاسیون زنجیره پلی‌گالاتکتورونیک را افزایش می‌دهد. تصور می‌شود که درجه استریفیکاسیون بالا نشان‌دهنده پکتین با آسیب کمتر می‌باشد زیرا پیوندهای استری نسبت به پیوندهای گلیکوزیدی آلفا ۱ و ۴ بین گالاتکتورونیک اسیدها، مقاومت کمتری به هیدرولیز اسیدی دارند (Scabio *et al.*, 2007). همچنین مشاهده گردید که درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی در شرایط بهینه از نظر راندمان (دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، زمان ۹۰ دقیقه و pH برابر با ۱/۵)، برابر با ۲۴/۶ درصد است (Seixas *et al.*, 2014). Emaga و همکاران (2008) در استخراج پکتین از پوست موز گزارش کردند که علاوه بر تأثیر pH و دما، افزایش زمان استخراج نیز میزان متوکسیل پکتین را کاهش می‌دهد. Zhemerichkin و همکاران (2006) استخراج پکتین به روش اسیدی و آنزیمی از تفاله کدو تنبل را با هم مقایسه و درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده با روش اسیدی ۶۶ درصد و به روش آنزیمی را برابر با ۶۸ درصد گزارش کردند. Raji و همکاران (۲۰۱۷) از اسیدسیتریک برای استخراج پکتین از پوسته هندوانه استفاده کردند و اثر دما (۳۵-۹۵ درجه سانتی‌گراد)، زمان (۲۰۰-۲۰۰ میکروگرم)، pH (۱-۳) و نسبت حلال به نسبت نمونه (۵۰-۱۰ v/w) بر درجه استریفیکاسیون استفاده شد. نتایج نشان داد که درجه استریفیکاسیون از ۱/۳۳ تا ۲۹/۳۳ درصد بود. Nateghi و همکاران (2017) به بررسی بازده و خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین استخراجی از ضایعات پوست بادمجان پرداختند. بالاترین

نتیجه گیری

این پژوهش با هدف بررسی شرایط استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا به روش اسیدی با اسید سیتریک تحت شرایط مختلف دما، زمان و pH انجام گردید. بر اساس نتایج به دست آمده بازدهی پکتین از برگ آلوئه‌ورا در مجموع از ۵/۲ تا ۶/۹ درصد، درصد گالاتورونیک اسید از ۵۴/۱۵ تا ۵۳/۴۱ درصد و ۷۸/۴۸ درصد و درجه استری شدن از ۴۳/۱۵ تا ۵۳/۴۱ درصد در ۱۵ تیمار استخراجی متغیر بود. تحقیق حاضر نشان داد بالاترین بازدهی برای برگ آلوئه‌ورا (۶/۹ درصد) در شدیدترین شرایط استخراج یعنی در دمای ۹۴/۳۹ درجه سانتی‌گراد، زمان ۲۰۰ دقیقه و pH برابر ۱/۲۴ بدست آمد که درصد گالاتورونیک اسید و درجه استری شدن پکتین در برگ آلوئه‌ورا در همین شرایط به ترتیب برابر ۷۷/۳۳ درصد و ۴۳/۱۵ درصد بود. بر اساس نتایج آنالیز واریانس دما، زمان و pH اثرات معنی‌داری بر استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا داشت. مطابق با قوانین و مقررات مواد شیمیایی و غذایی میزان حداقل مجاز اسید گالاتورونیک پکتین‌های تجاری ۶۵ درصد می‌باشد، بنابراین پکتین تولید شده در این تحقیق می‌تواند به‌عنوان یک منبع قابل عرضه به بازار معرفی شود. ضمن این که از ضایعات هم می‌توان به شکل مطلوبی استفاده نمود. در نهایت استفاده از اسید سیتریک به عنوان مناسبترین اسید برای استخراج پکتین از برگ آلوئه‌ورا انتخاب گردید.

منابع

- Abid, M., Cheikhrouhou, S., Renard, C. M., Bureau, S., Cuvelier, G., Attia, H. & Ayadi, M. A. (2017). Characterization of pectins extracted from pomegranate peel and their gelling properties. *Food Chemistry*, 215, 318–325.
- Arslan, N. & Togrul, H. (1996). Filtration of pectin extract from grape fruit peel and viscosity of pectin solution. *Journal Food Engineering*, 27, 97-201.
- Aimukhamedova, M. B. (1988). Methods of pectin extraction from beet pulp. *Pishchevaya Promyshlennost. USSR No. 5*, 19-20.
- Azadbakht, M., Tabaey, M. H. & Sabet Ahd Jahromi, A. (2003). The comparison of various methods for extraction and isolation of

پیک موجود در محدوده $2800-3000 \text{ cm}^{-1}$ برای نمونه مربوطه به حالت لرزشی CH شامل لرزش‌های کششی و خمشی CH_2 ، CH_3 و CH می‌باشد (Santos *et al.*, 2013). پیک‌های بین $1411-1750 \text{ cm}^{-1}$ به گروه‌ها کربوکسیل آزاد و متیل استرهای کربوکسیلیک نسبت داده شده. مطالعات محققین گذشته نشان داده است که شدت نسبی این پیک‌ها می‌تواند با درجه متوکسیل پکتین مرتبط باشد (Raji *et al.*, 2014). بنابراین درجه استریفیکاسیون با افزایش شدت نسبی باندهای استری و کاهش شدت نسبی گروه‌های کربوکسیلیک افزایش می‌یابد. پیک‌های بین $800-1200 \text{ cm}^{-1}$ یک اثر انگشت منحصر به فرد از ترکیبات موجود در پکتین استخراج شده است که تفسیر آن کار بسیار دشواری است.

وزن مولکولی پکتین بسته به ماده اولیه و روش استخراج بسیار متغیر می‌باشد. هر چه وزن مولکولی پکتین‌های استخراجی بیشتر باشد ژل قویتر و منسجم‌تری تشکیل می‌دهند (Bagherian *et al.*, 2011). Mosayebi و همکاران (2017) به بهینه‌سازی شرایط استخراج پکتین به کمک امواج اولتراسونیک از تفاله شاه توت پرداختند. نتایج مطالعه آنها نشان داد وزن مولکولی پکتین استخراجی $50/03$ کیلو دالتون بود. Bagherian و همکاران (2011)، وزن مولکولی پکتین استخراج شده از گریپ فروت را بین $56/4$ تا $84/4$ کیلو دالتون گزارش کردند. از طرفی Chen و همکاران (2009)، وزن مولکولی پکتین استخراج شده از چقدر قند را $89/4$ کیلو دالتون گزارش کردند. خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی پکتین استخراج شده از آفتابگردان را به‌وسیله محلول سدیم هگزا متافسفات و به دنبال آن رسوب دادن با الکل و یا با محلول هیدروکلریک اسید، اندازه‌گیری و پکتین‌های تجاری متوکسیل پایین، مورد مقایسه قرار دادند. وزن مولکولی متوسط محاسبه شده بر اساس اندازه‌گیری ویسکوزیته ذاتی پکتین، دامنه‌های 39500 تا 52000 دالتون را شامل می‌شد. همچنین این محققین گزارش نمودند که پکتین آفتابگردان در درجه حرارت‌های بالا و در حضور یون‌های کلسیم فوراً تشکیل ژل می‌دهد (Iglesias and 2004, Lozano).

pectin from citrus decumana Murry. Journal of Tabriz University of Medical Sciences, 1, 21-28 [In Persian].

Bagherian, H., Zokae Ashtiani, F., 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.

Belafi-Bako, K., Cserjesi, P., Beszedes, S., Csanadi, Z. & Hodur, C. (2012). Berry pectins: microwave-assisted extraction and rheological properties. Journal of Food Bioprocess Technology, 5, 1100-1105.

Chen, Y., Xiong, Y. F., Wen, Z. Y., Jiang, L. H., Zhu, H. F. & Wang, D. N. (2009). Research advances on pectin extraction technology. China Food Additives, 3, 017.

Chen, Y., Zhang, J. G., un, H. J. & Wei, J. (2014). Pectin from Abelmoschus esculentus: optimization of extraction and rheological properties. International Journal of Biological Macromolecules, 70, 498-505.

Chaharbaghi, E., Khodaiyan, F. & Hosseini, S. S. (2017). Optimization of pectin extraction from pistachio green hull as a new source. Carbohydr Polym, 173, 107-113 [In Persian].

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.

Ebrahim Zadeh, M. A. & Azad Bakht, M. (1996). Extraction of pectin and comparison of yield and degree of esterification and percentage of galacturonic acid in the skin of some citrus. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 16(54), 52-59.

Emaga, T. H., Ronkart, S. N., Robert, C., Wathelet, B. & Paquot, M. (2008). Characterization of pectins extracted from banana peels under different conditions using an experimental design. Food Chemistry, 108(2), 436-471.

Fathi, B., Maghsoudlou, Y., Ghorbani, M. & Khamiri, M. (2012). Effect of pH, temperature and time of acidic extraction on the yield and characterization of pectin obtained from pumpkin waste. Journal of Food Industry Research, 22(4), 465-475 [In Persian].

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 Food Science, 72(1), C001-C009.

Haji Esmaili, F. (2002). Extraction of pectin from sugar beet pulp. M. Sc. Thesis. Science and Research Branch. Islamic Azad University. Iran [In Persian].

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 Polymer, 140, 59-65 [In Persian].

Iglesias, M. I. & Lozano, J. E. (2004). Extraction and characterization of sunflower pectin. Journal Food Engineering, 62(3), 215-223.

Jamsazzadeh Kermani, Z., Shpigelman, A., Kyomugasho, C., Van Buggenhout, S., Ramezani, M., VanLoey, A. M. & Hendrickx, M. E. (2014). The impact of extraction with a chelating agent under acidic conditions on the cell wall polymers of mango peel. Food chemistry, 15(161): 199-207.

Jafari, F., Khodaiyan, H., Kiani, S. & Hosseini, S. S. (2016). Pectin from carrot pomace: optimization of extraction and physicochemical properties. Carbohydrate Polymer, 157, 1315-1322 [In Persian].

Keramat, J., Kabir, G. M. & Ghenati, B. (2002). Qualitative and quantitative study of pectins extracted from the orange juice concentrate production process waste. Agricultural science and technology and natural resources, 6(4), 141-148 [In Persian].

Kratchanova, M., Pavlova, E., Panchev, I. & Kratchanov, C. (2012). Influence of microwave pretreatment of fresh orange peels on pectin extraction. Progress in Biotechnology, 14, 941-946.

Lin, M. J. Y., Sosulski, F. & Houmbert, E. S. (1978). Extraction of pectin from sunflower heads. Journal Food Science Technology, 9(70), 1340-1342.

Langmead, L., Makins, R. J. & Rampton, D. S. (2004). Anti-inflammatory effects of Aloe Vera gel in human colorectal mucosa *in vitro*. Alimentary Pharmacology and Therapeutic, 19, 521-527.

Li, W., Cui, S. W. & Kakuda, Y. (2006). Extraction, Fractionation, Structural and physical characterization of wheat β -D-glucans. Carbohydrate polymers, 63(3), 408-416.

Mollea, C., Chiampo, F. & Conti, R. (2007). Extraction and characterization of pectins from cocoa husks: A preliminary study. *Food Chemistry*, 107, 1353-1356.

Masmoudi, M., Besbes, S., Chaabouni, M., Robert, C., Paquot, M. & Blecker, C. (2008). Optimization of pectin extraction from lemon by-product with acidified date juice using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 74(2), 185-192.

Ma, S., Yu, S., Zheng, X., Wang, X., Bao, Q. D. & Guo, X. (2013). Extraction, characterization and spontaneous emulsifying properties of pectin from sugar beet pulp. *Carbohydrate polymers*, 98(1), 750-3.

Methacanon, P., Krongsin, J. & Gamonpilas, C. (2014). Pomelo (*Citrus maxima*) pectin: Effects of extraction parameters and its properties. *Journal of Food Hydrocolloids*, 35, 383-391.

Mosayebi, V., Emam-Djomeh, Z. & Tabatabaei Yazdi, F. (2017). Optimization of extraction conditions of pectin by conventional method from black mulberry pomace. *Quarterly Journal of Food Science and Technology*, 62(14), 341-356 [In Persian].

Nateghi, L., Ansari, S. & Shahab Lavasani, A. R. (2017). Investigation of yield and physicochemical properties of pectin extracted from eggplant peel. *Food Science and Technology*, 73(14), 13- 30 [In Persian].

Nateghi, L. & Ansari, S. (2017). Investigation of yield and physicochemical properties of pectin extracted from eggplant cap. *Journal of Modern Food Technologies*, 5(2), 219-239 [In Persian].

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.

Prakashmaran, J., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K. & Sridhar, R. (2013). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydrate polymers*, 97(2), 703-9.

Raji, Z., Khodaiyan, F., Rezaei, K., Kiani, H. & Hosseini, S.S. (2017). Extraction optimization and physicochemical properties of pectin from melon peel. *International Journal of Biol Macromol*, 98, 709-716.

Sohair, A., El-Nawawi, S. A. & Shehata, F. R. (1987). Extraction of pectin from Egyptian orange peel, factors effecting the extraction. *Journal of Biological Wastes*, 20, 281-290.

Shelukhina, N. P. (1990). Methods of pectin extraction. *Pishchevaya Promyshlennost. USSR No. 5*, 11- 12.

Salomov, K. h. T. & Yusupov, A. M. (1991). Intensified extraction of pectin. *Pishchevaya Promyshlennost*, 9, 21-22.

Sakamoto, T., Hours, R. A. & Sakai, T. (1995). Enzyme pectin extraction from protopectins using microbial protopectinases. *Process Biochemistry*, 30(5), 403-409.

Sharma, M. A. (2006). Effect of variety and acid washing method on extraction yield and quality of sunflower head pectin. *Food Chemistry*, 83(1), 43-47.

Sosa, S., Morelli, C. F., Tubaro, A., Cairoli, P., Speranza, G. & Manitto, P. (2007). Antiinflammatory activity of *Maytenus senegalensis* root extracts and of maytenoic acid. *Phytomedicine*, 14, 109-14.

Scabio, A., Fertinani, H. C., Schemin, M. H 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. B., Garcia, P. S., Carmen, L. de 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.

Vinogradov, E. V., Brade, L., Brade, H. & Holst, O. (2003). Structural and serological characterisation of the O-antigenic polysaccharide of the lipopolysaccharide from *Acinetobacter baumannii* strain 24. *Carbohydrate Research*, 338(23), 2751-2756.

Xu, Y., Zhang, L., Bailina, Y., Ge, Z., Ding, T., Ye, X. & Liu, D. (2014). Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel. *Journal of Food Engineering*, 126, 72-81.

Yapo, B., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B. & Paquot, M. (2007), Petkowicz, C. O., Carneiro, E. B., Nogueira, A., & Wosiachi G. (2007). A model for pectin extraction from apple pomace. *Brazilian Journal of Food Technology*, 10(4), 259-265.

). Effect of Extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, 100(4), 1356-1364.

Ye, C. L. & Jiang, C. J. (2011). Optimization of extraction process of crude polysaccharides from *Plantago asiatica* L. by

response surface methodology. Carbohydrate Polymers, 84(1), 495-502.

Zhemerichkin, D. A. & Ptitchkina, N. M. (2006). The composition and properties of

pumpkin and sugar beet pectins. Food Hydrocoll, 9(2), 147-149.

Optimization of Extraction Conditions of Pectin from Aloe Vera Leaf

L. Nateghi^{a*}

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

Received: 4 April 2020

Accepted: 12 May 2020

Abstract

Introduction: Aloe vera gel has many applications in the pharmaceutical and food industries. Aloe vera leaf contains valuable materials such as pectin which its extraction can be beneficial from economic and environmental aspects.

Materials and Methods: The overall objective of this study was to evaluate the effect of three variable temperatures (35, 65 and 95), time (40, 120 and 200) and pH (1, 2 and 3) on the yield, the galacturonic acid content and esterification degree of aloe vera leaf pectin. In order to study the physicochemical properties of the pectin, emulsion stability tests and FT-IR were applied.

Results: According to the results, high pectin extraction yield from aloe vera leaf was 6.9% which was obtained at temperature of 95°C, time of 120 min and pH of 1. The highest galacturonic acid content of the extracted pectin of aloe vera leaf was 78.48%, at temperature of 65°C, time of 200 min and pH of 1, The highest esterification degree of extracted pectin of aloe vera leaf was 53.410%, which was observed at temperature of 35°C, time of 120 min and pH of 3. The highest emulsion stability of aloe vera leaf pectin was at 4 °C on the first day of production. FT-IR results also showed that the strong absorption in the area 3200-3500 cm⁻¹ in the extracted pectin samples was related to intra-and extracellular vibration of the hydrogen bond in the galacturonic acid polymer. The pectin extracted from aloe vera leaf with molecular weight of 127 kDa after 30 days storage at 4 and 23 °C had 75% and 63% emulsification stability respectively.

Conclusion: The results of this study showed that pectin extracted from leaf lesions of aloe vera could be introduced as a marketable pectin source.

Keywords: *Aloe Vera Leaf, Extraction Pectin, Esterification Degree, Galacturonic Acid.*

* Corresponding Author: l.nateghi@iauvaramin.ac.ir, leylanateghi@yahoo.com