

تأثیر pH، دما و زمان استخراج اسیدی بر بازده و ویژگی‌های پکتین حاصل از ضایعات کدوی آجیلی

بهاره فتحی^{۱*}، یحیی مقصدلو^۲، محمد قربانی^۳ و مرتضی خمیری^۲

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۸/۲۸

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

^۲ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

^۳ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*مسئول مکاتبه: E-mail: fathibahar@gmail.com

چکیده

کدوی آجیلی محصولی است که برای استفاده از دانه‌های خوراکی آن به عنوان آجیل کشت می‌شود. بعد از خارج کردن دانه‌ها در زمان برداشت، مابقی کدو شامل پوست و گوشت میوه در مزرعه رها شده و موجب آلودگی محیط زیست می‌گردد. میزان این ضایعات بسیار زیاد بوده و می‌توان از آن به عنوان منبع پکتین استفاده نمود. پکتین یک جزء ساختاری مهم از دیواره سلولی گیاهان است و به طور گسترده‌ای به عنوان عامل ژل کننده، غلیظ کننده و پایدار کننده در صنایع غذایی استفاده می‌شود. در پژوهش حاضر، پکتین کدوی آجیلی در شرایط مختلف از نظر pH (۱، ۲، ۳ و ۴)، دما (۶۰، ۷۵ و ۹۰ درجه سانتیگراد) و زمان (۱، ۲ و ۳ ساعت) استخراج شد و بازده، درجه استریفیکاسیون و درصد گالاکتورنیک اسید پکتین‌های استخراج شده تعیین گردید. بازده پکتین در این تحقیق قابل توجه و پکتین استخراج شده جزو پکتین‌های با درجه استریفیکاسیون و خلوص بالا بود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که شرایط سخت‌تر استخراج اسیدی (pH کمتر، دما و زمان بیشتر)، بازده استخراج و میزان گالاکتورنیک اسید پکتین را افزایش داد در حالی که موجب کاهش درجه استریفیکاسیون پکتین شد. آنالیز واریانس نشان داد که دمای استخراج مؤثرترین فاکتور بر بازده پکتین بود، در حالی که pH بیشترین تأثیر را بر درجه استریفیکاسیون و درصد گالاکتورنیک اسید پکتین داشت.

واژه‌های کلیدی: کدوی آجیلی، پکتین متوکسیل بالا، استخراج اسیدی، درصد اسید گالاکتورنیک

Effect of pH, temperature and time of acidic extraction on the yield and characterization of pectin obtained from pumpkin waste

B Fathi^{1*}, Y Maghsoudlou², M Ghorbani³ and M Khomeiri²

Received: August 2, 2012 Accepted: November 18, 2012

¹MSc, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

²Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

³Assistant Professor Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

*Corresponding author: Email: fathibahar@gmail.com

Abstract

Seeded pumpkin is cultivated for its seeds to be used as snack. After removing seeds at harvest time, the residual including fruit peel and pulp are left in the field which causes pollution of the environment. The amount of wastage is considerable, thus it can be used as a pectin source. Pectin is an important structural constituent of plant cell wall. It is widely used as a gelling, thickening and stabilizing agent in food industries. In this study, pectin of seeded pumpkin was extracted under various conditions: pH (1, 2, 3 and 4), temperature (60, 75 and 90° C) and time (1, 2 and 3 hour). The extraction yield, degree of esterification and galacturonic acid of the extracted pectins were evaluated. In this study, yield of pectin was considerable and extracted pectins were high methoxyl pectins with high purity. The results showed that drastic condition of acidic extraction (lower pH, higher temperature and time) increased extraction yield and galacturonic acid content of pectin whereas it caused a decrease in the esterification degree of pectins. Analysis of variance showed that the temperature of extraction was the most significant factor on the pectin extraction yield while pH was the most influencing factor on the degree of esterification and galacturonic acid content of pectin.

Keywords: Seeded pumpkin, High methoxyl pectin, Acidic extraction, Galacturonic acid

مقدمه

تشکیل ژل، پایدارکننده، امولسیفایر و عامل اتصال‌دهنده کاتیون عمل کند. همچنین پکتین دارای فواید درمانی مثل کاهش میزان کلسترول خون، حذف یون‌های فلزی سنگین از بدن، تثبیت‌کننده فشار خون و تسهیل فعالیت روده‌ای می‌باشد (پتیچکینا و همکاران ۲۰۰۸) پکتین را می‌توان از مواد دیواره سلولی به وسیله آب داغ و یا سرد، محلول سرد و یا داغ عوامل شلاته‌کننده، اسیدهای داغ رقیق و هیدروکسید سدیم رقیق سرد استخراج نمود. معمولاً مقدار پکتین‌های قابل استخراج با آب کم است. عیب استخراج با عوامل شلاته‌کننده نیز این است که حذف بقایای عوامل شلاته‌کننده از پکتین

پکتین هتروپلی‌ساکارید دیواره سلولی گیاهان بوده و عمدتاً از گالاکتورونیک اسید تشکیل شده است. برخی از گروه‌های کربوکسیل واحدهای گالاکتورونیک اسید ممکن است با متانول استریفیه شده باشند که میزان استریفیه بودن پکتین را درجه استریفیکاسیون می‌گویند. بسته به درجه استریفیکاسیون، پکتین‌ها به دو دسته متوکسیل بالا ($DE > 50\%$) و متوکسیل پایین ($DE < 50\%$) تقسیم می‌شوند (تاکور ۱۹۹۷). پکتین دارای خواص عملکردی زیادی بوده و می‌تواند به عنوان غلیظ‌کننده، عامل

¹ Degree of Esterification

جهت جابه‌جایی از مزرعه در بردارد (مختارپور و عباسی ۱۳۷۳). با توجه به نبود مطالعات پژوهشی در زمینه کاربرد ضایعات کدوی آجیلی، در تحقیق حاضر پکتین از این ضایعات استخراج گردید و هدف از این تحقیق بررسی تأثیر پارامترهای فرآیند استخراج بر بازده و ویژگی‌های پکتین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها

کدوی آجیلی از رقم مشهدی (بومی) که بر اساس آمار جهاد کشاورزی (۱۳۸۸) بیشترین سطح زیر کشت را در کشور به خود اختصاص داده، انتخاب شد. نمونه‌ها از مزرعه‌ای حوالی شهرستان خوی (آذربایجان غربی) در اواخر شهریورماه (زمان برداشت جهت جمع‌آوری دانه‌ها) برداشت، میوه‌های سالم با شکل، رنگ و اندازه مشابه جمع‌آوری شده و سریعاً به کارخانه میوه خشک کنی در ارومیه منتقل شدند. پس از شستشو و خارج کردن دانه‌ها، باقیمانده توسط دستگاه به خلال‌های نازک خرد شده و سپس در دستگاه خشک‌کن با دمای 60°C به مدت ۸ ساعت خشک شدند. نمونه‌های خشک شده توسط آسیاب به پودر تبدیل و سپس از الک با مش ۶۰ عبور داده شد. پودر کدوی به دست آمده در کیسه‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی و در فریزر 18°C - نگهداری شد.

استخراج پکتین

پکتین به روش فروش و آشتیانی (۲۰۰۸) با کمی تغییرات از پودر کدو استخراج شد. برای استخراج پکتین، ۱۰ گرم پودر کدو با ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر اسیدی شده (توسط اسید کلریدریک) با pH مشخص (۱، ۲، ۳ و ۴) مخلوط شده و در حمام آب گرم با دمای ۶۰، ۷۵ و ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت مشخص (۱، ۲ و ۳ ساعت) حرارت داده شد (دامنه آزمایش برای هر فاکتور بر اساس نتایج آزمایشات اولیه انتخاب شد). در طول حرارت‌دهی، نمونه‌ها با میله شیشه‌ای هم‌زده

استخراج شده مشکل می‌باشد. استخراج قلیایی می‌تواند درجه متیل‌اسیون، استیل‌اسیون و طول زنجیره اصلی گالاکتورنیک اسید را کاهش دهد. معمولاً مناسب‌ترین شیوه برای استخراج صنعتی پکتین، استخراج اسیدی می‌باشد. در این شیوه نیز محققان شرایطی را انتخاب می‌کنند که مقدار بیشتری پکتین با ویژگی‌های مطلوب تولید شود. براساس نتایج تحقیقات سایرین دما، pH و زمان استخراج اسیدی مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر بر بازده استخراج و کیفیت پکتین تولیدی می‌باشد (لویگنه و همکاران ۲۰۰۲، یاپو و همکاران ۲۰۰۷، اماگا و همکاران ۲۰۰۸). روش دیگر استخراج پکتین، استفاده از آنزیم‌های سلولاز و همی‌سلولاز میکروبی می‌باشد که پکتین حاصله قادر به تشکیل ژل نبوده یا ژل ضعیفی ایجاد می‌کند (پتیچکینا و همکاران ۲۰۰۸). علی‌رغم استفاده از تفاله سیب و پوست پرتقال و لیمو به عنوان مواد اولیه اصلی برای تولید پکتین، به دلیل تقاضای روبه افزایش پکتین، دیگر ضایعات گیاهی مثل چغندر قند، آفتابگردان و کدوتنبل نیز به عنوان منابع گیاهی دیگر برای تولید آن پیشنهاد شده است که در این راستا فیبرهای سرشار از پکتین از پوست کدو تنبل و تفاله آن (بعد از استخراج آبمیوه) جداسازی شده است (کستالوف و همکاران ۲۰۱۰).

بر طبق آمار فائو در سال ۲۰۰۷ میزان تولید انواع کدو در ایران ۵۰۵ هزار تن بوده و از این لحاظ مقام نهم جهان را دارد (فائو ۲۰۰۷). در کشور ما سطح زیر کشت کدوی آجیلی بالاست و از دانه‌های آن برای مصارف خوراکی (آجیل) استفاده می‌شود. بعد از جمع‌آوری دانه‌ها، باقیمانده کدو شامل پوست، بخش گوشتی و الیاف داخل میوه قابلیت خوراکی نداشته و جزو ضایعات کشاورزی محسوب می‌شود (هاشمی و رزاق-زاده ۲۰۰۷). بیش از ۹۸٪ وزن کدوی آجیلی را ضایعات آن تشکیل می‌دهد که در بهترین حالت ممکن، بخشی از آن به مصرف دام می‌رسد و در غیر این صورت باعث آلودگی محیط زیست شده و یا هزینه‌ای را برای زارع

مرئی تعیین شد (دوان و همکاران ۲۰۰۸، ليو و همکاران ۲۰۱۰).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه آماری نتایج با استفاده از طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. تیمارها در سه تکرار انجام شده و نتایج به دست آمده با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) در سطح احتمال ۵٪ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ توسط نرم‌افزار SAS آنالیز شد.

نتایج و بحث

بازده استخراج

بازده کل فرآیند استخراج به عنوان بازده استخراج پکتین بیان می‌شود، هرچند که ناخالصی‌هایی نظیر پکتین‌های تجزیه شده و نشاسته نیز ممکن است در ماده استخراج شده وجود داشته باشد (ونگ وای و همکاران ۲۰۱۰). جدول ۱، بازده استخراج پکتین را در شرایط مختلف استخراج از نظر pH، دما و زمان نشان می‌دهد. با توجه به نتایج این جدول مشاهده می‌شود که شرایط متفاوت استخراج تأثیر قابل توجهی روی بازده پکتین دارد به طوری که بازده پکتین از ۵/۳٪ (در pH ۲، دمای C ۶۰ و زمان ۱ ساعت) تا ۱۲/۸٪ (در pH ۱، دمای C ۹۰ و زمان ۲ ساعت) تغییر کرد.

در pH و زمان‌های متفاوت استخراج با افزایش دما از C ۷۵ به C ۹۰، افزایش معنی‌دار در بازده پکتین مشاهده شد ($P < 0.05$) و تنها در pH ۱ و زمان استخراج ۳ ساعت، افزایش دما موجب افزایش معنی‌دار بازده پکتین نگردید ($P > 0.05$). همچنین در شرایط مختلف استخراج با افزایش زمان علی‌رغم افزایش بازده، این افزایش از لحاظ آماری در سطح ۵٪ معنی‌دار نبود اما در pH ۱ و دمای C ۹۰ با افزایش زمان استخراج از ۲ به ۳ ساعت بازده استخراج پکتین به طور معنی‌دار کاهش یافت.

می‌شدند. پس از طی زمان لازم جهت استخراج، نمونه‌ها از حمام آب گرم خارج و توسط پارچه، صاف و پرس شدند. عصاره صاف شده در rpm ۴۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. جهت جداسازی کامل ذرات جامد از عصاره، مایع رویی پس از سانتریفیوژ از کاغذ صافی شماره ۴۱ عبور داده شد. عصاره حاوی پکتین در یخچال گذاشته شده و پس از رسیدن به دمای C ۴، اتانول ۹۶٪ با نسبت ۱ به ۲ (عصاره/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 سانتریفیوژ در rpm ۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه از مایع جدا شد. مایع رویی را خارج کرده و رسوب باقیمانده جهت حذف ناخالصی‌ها با اتانول ۷۰٪ و سپس با اتانول ۹۶٪ شستشو داده شد. پس از هر مرحله شستشو با الکل، با سانتریفیوژ کردن در rpm ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، رسوب باقیمانده از مایع جدا گردید. در پایان نمونه‌های پکتین به دست آمده به روش انجمادی خشک شدند. پکتین خشک شده پس از توزین (جهت اندازه‌گیری بازده استخراج) تبدیل به پودر شده و در کیسه‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی و در یخچال نگهداری شد.

تعیین بازده استخراج، درجه استریفیکاسیون و

درصد گالاکتورنیک اسید پکتین تولید شده

بازده استخراج پکتین از طریق رابطه زیر محاسبه گردید (کولکارنی و ویجایاناند ۲۰۰۹):

$$100 * \text{وزن پکتین خشک شده (گرم)} = \frac{\text{بازده استخراج پکتین} \%}{\text{وزن کدوی خشک شده (گرم)}}$$

درجه استریفیکاسیون نمونه‌های پکتین به روش تیتراسیون با NaOH بر اساس گروه‌های کربوکسیل آزاد (بوچک و همکاران ۲۰۰۱) تعیین شد. میزان گالاکتورنیک اسید (درصد خلوص) به وسیله روش رنگ سنجی کربازول با استفاده از اسپکتروفتومتر فرابنفش-

در مورد اثر pH نیز مشاهده شد که در هر یک از دما و زمان‌های استخراج، کاهش pH محیط استخراج موجب افزایش قابل توجهی در بازده پکتین گردید.

جدول ۱- بازده استخراج پکتین از کدوی آجیلی در شرایط مختلف استخراج (pH، دما و زمان)

زمان pH	دما			۷۰			۹۰		
	۱	۲	۳	۱	۲	۳	۱	۲	۳
۱	۷/۷±۱	۷/۹±۱/۷	۱۰/۴±۱/۸	۸/۷±۱/۶	۹/۷±۱/۸	۱۱/۱±۱/۹	۱۱/۶±۲/۲	۱۲/۸±۱/۱	۹/۸±۰/۸
۲	۵/۳±۱/۱	۵/۶±۱/۳	۶±۱/۴	۶/۱±۱/۲	۶/۴±۱/۸	۶/۳±۱/۷	۸/۴±۱/۱	۱۰/۲±۰/۸	۱۰/۶±۱/۴
۳	۶/۷±۰/۶	۶/۴±۰/۸	۷/۹±۱	۶/۹±۰/۶	۶/۸±۰/۶	۸/۳±۰/۵	۱۱±۰/۸	۱۰/۹±۰/۹	۱۰/۴±۱
۴	۶/۱±۱/۹	۵/۸±۱/۲	۶/۳±۱/۹	۶/۲±۱/۹	۶/۳±۱/۶	۶/۸±۱/۸	۱۰/۴±۰/۷	۱۰/۲±۱/۷	۱۰/۷±۱

بازده را افزایش می‌دهد که مطابق با نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌باشد. با این وجود نتایج تحقیق حاضر با تحقیق کالاپاتی و پروکتور (۲۰۰۱) مطابقت نداشت. این محققین با استخراج پکتین از پوست سویا اظهار داشتند که دما و زمان کم موجب بازده کم می‌شود اما دما و زمان زیاد موجب بازده زیاد نمی‌گردد. همچنین یاپو و همکاران (۲۰۰۷) با استخراج پکتین از تفاله چغندر قند گزارش کردند که دما روی بازده پکتین اثر ندارد. این نتیجه احتمالاً به این دلیل است که در فرآیند استخراج از محدوده دمایی نزدیک (۸۰ و ۹۰ °C) استفاده شده است.

آنالیز واریانس به دست آمده از نتایج بازده پکتین تحقیق حاضر نشان داد که به ترتیب دما و pH استخراج بر بازده پکتین اثر معنی‌داری دارد. زمان نیز دارای تاثیر معنی‌دار کمتری (در سطح ۱۰٪) بر بازده استخراج پکتین است. آنالیز واریانس نشان داد که با کاهش دما، افزایش pH و کاهش زمان استخراج، بازده استخراج پکتین کاهش می‌یابد.

تحقیقات کمی در خصوص استخراج پکتین از انواع مختلف کدو انجام شده، در غالب این مطالعات، استخراج آنزیمی پکتین از تفاله حاصل از تولید آمیوه کدو تنبل

بازده پکتین در pH ۱ بیشتر از سایر pH ها بود و تنها در دمای ۹۰ °C و زمان ۳ ساعت، بازده کمتری در pH ۱ نسبت به سایر pH ها به دست آمد. افزایش بازده در اثر افزایش دما و کاهش pH را می‌توان چنین توضیح داد که با افزایش دما تا یک محدوده خاص، حلالیت پکتین استخراج شده و همچنین ضریب انتشار افزایش یافته و در نتیجه موجب افزایش بازده می‌گردد. در مورد اثر pH نیز گزارش شده که شرایط اسیدی مناسب موجب هیدرولیز ترکیبات نامحلول پکتین به پکتین محلول شده و بازیافت پکتین را افزایش می‌دهد (مسمودی و همکاران ۲۰۰۸، کیو و همکاران ۲۰۱۰). همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود بازده پکتین در شرایط سخت‌تر استخراج (pH ۱، دمای ۹۰ °C و زمان ۳ ساعت) کاهش یافت. کاهش بازده پکتین در زمان‌های طولانی‌تر در شرایط بالا می‌تواند به دلیل تجزیه پکتین استخراج شده در محیط در زمان‌های طولانی‌تر باشد (پاگان و همکاران ۲۰۰۱).

نتایج به دست آمده از مطالعه پاگان و همکاران (۲۰۰۱) بر روی پکتین تفاله هلو و کلیمان و همکاران (۲۰۰۹) روی پوست میوه پشنفروت نشان داد که غلظت بالای اسید موجب افزایش بازده شده و دما و زمان بالاتر نیز

درجه استریفیکاسیون

جدول ۲ نتایج تأثیر شرایط مختلف استخراج را بر درجه استریفیکاسیون پکتین کدوی آجیلی نشان می‌دهد. درجه استریفیکاسیون پکتین بازگوکننده ترکیب مولکولی و ویژگی‌های تشکیل ژل آن است. تصور می‌شود که درجه استریفیکاسیون بالا، نشان دهنده پکتین با آسیب کمتر می‌باشد زیرا پیوندهای استری نسبت به پیوندهای گلیکوزیدی آلفا ۱ و ۴ بین گالاکتورنیک اسید ها، مقاومت کمتری به هیدرولیز اسیدی دارند (اسکابیو و همکاران ۲۰۰۷).

بررسی شده است. ماتورا و همکاران (۱۹۹۵) پکتین را توسط محلول اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال در دمای $^{\circ}\text{C}$ ۶۰ و زمان ۱/۵ ساعت از تفاله کدوتنبل استخراج و بازده پکتین را ۹٪ گزارش کردند. در صورتی که بازده پکتین از ضایعات کدوی آجیلی در شرایط استخراج تقریباً مشابه در تحقیق حاضر کمتر از ۸٪ به دست آمد. پتیچکینا و همکاران (۲۰۰۸) با استخراج آنزیمی پکتین توسط *A. awamori* و *B. polymyxa* از تفاله کدوتنبل، بازده به ترتیب ۲۲٪ و ۱۴٪ گزارش کردند. بررسی این محققین نشان داد که بازده پکتین به روش استخراج آنزیمی بیشتر از روش اسیدی بوده اما قدرت تشکیل ژل آن پایین‌تر است.

جدول ۲- درجه استریفیکاسیون پکتین کدوی آجیلی در شرایط مختلف استخراج (pH، دما و زمان)

زمان pH	۶۰			۷۵			۹۰		
	۱	۲	۳	۱	۲	۳	۱	۲	۳
۱	۵۲±۰/۸	۵۲/۸±۲/۲	۵۱/۵±۱/۸	۵۲/۹±۳/۱	۵۰/۶±۱/۸	۴۹±۱/۴	۴۷/۵±۱/۷	۴۶/۲±۲/۱	۴۵/۲±۱/۱
۲	۷۵/۹±۱/۶	۷۶/۴±۲/۳	۷۴/۷±۲/۹	۷۲/۷±۱/۱	۷۳/۴±۱/۸	۷۱/۷±۰/۴	۷۱/۶±۲/۳	۷۱/۲±۱/۶	۶۹/۲±۲/۴
۳	۷۹/۸±۲/۵	۸۰±۲/۵	۸۱/۲±۲/۴	۷۷/۷±۰/۹	۷۶/۶±۱/۹	۷۸±۰/۵	۷۸/۸±۱/۱	۷۶/۷±۱/۸	۷۵/۴±۲/۱
۴	۸۲/۷±۲/۸	۸۱/۱±۲/۴	۸۲/۱±۰/۷	۷۹/۹±۱/۳	۸۰/۹±۲/۵	۷۹/۵±۱	۸۰/۸±۲	۸۱/۴±۱/۸	۷۸/۹±۲

معنی‌داری بر درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده نداشت.

در شرایط مختلف استخراج با کاهش pH محیط، درجه استریفیکاسیون پکتین به طور معنی‌داری کاهش یافت و در pH ۱ درجه استریفیکاسیون پکتین کاهش بسیار قابل توجهی داشت. بین pH ۳ و ۴ تفاوت چشمگیری مشاهده نشد.

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که به ترتیب اثر pH، دما، اثر متقابل دما-pH و اثر زمان بر درجه استریفیکاسیون پکتین معنی‌دار بود. با کاهش pH

در pH ۱ و ۲ در زمان‌های مختلف با افزایش دما کاهش معنی‌دار در درجه استریفیکاسیون پکتین مشاهده شد اما در pH ۳ تنها در زمان ۳ ساعت، افزایش دما موجب کاهش معنی‌دار در درجه استریفیکاسیون پکتین گردید. در pH ۴ در زمان‌های مختلف استخراج با افزایش دما تأثیر معنی‌داری بر درجه استریفیکاسیون پکتین مشاهده نشد. در مورد تأثیر زمان استخراج بر درجه استریفیکاسیون پکتین مشاهده شد که در هیچ یک از سطوح مختلف pH و دما، افزایش زمان استخراج تأثیر

استریفیکاسیون پکتین استخراج شده با روش اسیدی ۶۶٪ و به روش آنزیمی با استفاده از *B. polymyxa* را برابر با ۶۸٪ گزارش کردند. در حالی که در تحقیق حاضر در شرایط استخراج تقریباً مشابه با تحقیق مذکور درجه استریفیکاسیون پکتین حاصل از ضایعات کدوی آجیلی حدود ۵۲٪ به دست آمد. فیسور و همکاران (۲۰۰۹) پکتین را با استفاده از آنزیم‌های تجاری سلولاز و همی سلولاز از نوعی کدو موسوم به باترنات^۳ استخراج نمودند. درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده با آنزیم سلولاز ۵۴/۲٪ و همی سلولاز ۷۲/۶٪ به دست آمد. تفاوت در نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر با سایرین می‌تواند به دلیل تفاوت در ماده اولیه، عامل ژنتیکی، ارقام مختلف، شرایط کاشت، خاک، آب و هوا، مرحله بلوغ، اندازه ذرات، شرایط نگهداری و شرایط استخراج باشد (منصور ۲۰۰۵، سحری و همکاران ۲۰۰۸).

درصد گالاکتورنیک اسید

در بعضی از منابع علمی از پکتین به عنوان گالاکتورونانس یا رامنوگالاکتورونانس نام برده می‌شود به این دلیل که پکتین‌ها بیوپلیمرهای پیچیده‌ای هستند که به طور غالب متشکل از گالاکتورنیک اسیدهایی که به طور جزئی متیله شده‌اند می‌باشند (فروش و آشتیانی ۲۰۰۸). با توجه به این که گالاکتورنیک اسید ترکیب اصلی پکتین است، با تعیین مقدار آن می‌توان خلوص پکتین رسوب داده شده با الکل را تخمین زد (گارنا و همکاران ۲۰۰۷).

در جدول ۳ نتایج تأثیر شرایط استخراج بر درصد گالاکتورنیک اسید پکتین استخراج شده از پودر کدوی آجیلی نشان داده شده است. در شرایط مختلف استخراج بیشترین درصد گالاکتورنیک اسید در pH ۱، دمای ۷۵ °C و زمان ۱ ساعت برابر با ۸۴/۱٪ بود در حالی که کمترین درصد گالاکتورنیک اسید ۶۴/۴۳٪ در شرایط pH ۴ دمای ۷۵ °C و زمان ۱ ساعت به دست

افزایش دما و زمان استخراج علی‌رغم افزایش بازده، درجه استریفیکاسیون پکتین به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد که این کاهش DE می‌تواند به علت تجزیه پیوندهای استری و د-استریفیکاسیون پکتین در شرایط سخت هیدرولیز اسیدی می‌باشد (یاپو و همکاران ۲۰۰۷، اماگا و همکاران ۲۰۰۸). سایر محققین نیز گزارش کردند که شرایط سخت‌تر استخراج از نظر pH و دما-استریفیکاسیون زنجیره پلی گالاکتورنیک را افزایش می‌دهد (پاگان و همکاران ۲۰۰۱، یاپو و همکاران ۲۰۰۷، سگیانی و همکاران ۲۰۰۹، یاپو و همکاران ۲۰۰۹). در استخراج پکتین از پوست موز (اماگا و همکاران ۲۰۰۸) و پشنفروت (کولکاری و ویجایاناند ۲۰۰۹) علاوه بر تأثیر pH و دما، افزایش زمان استخراج نیز میزان متوکسیل پکتین را کاهش می‌دهد.

نتایج تحقیق حاضر با تحقیق گارنا و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت نداشت. این محققین با بررسی ویژگی‌های پکتین تفاله سیب گزارش کردند که درجه متیلاسیون با افزایش زمان و دمای استخراج کاهش یافت اما pH به ویژه در ۹۰°C اثر معنی‌دار روی درجه متیلاسیون نداشت. اثرات در pH ۲ قابل توجه‌تر از pH ۱/۵ بود. آنالیز آماری نشان داد که اختلاف قابل توجهی بین pH، دما و زمان استخراج روی DE پکتین وجود ندارد. در تحقیق دیگری نیز استخراج پکتین از پوست سویا نشان داد که قدرت اسید تاثیر معنی داری روی DE ندارد (کالاپاتی و پروکتور ۲۰۰۱).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پکتین کدوی آجیلی به علت داشتن درجه استریفیکاسیون بالا جزو پکتین‌های HM^۲ (با متوکسیل بالا) طبقه‌بندی می‌شود و تحت شرایط مختلف استخراج می‌توان انواع متفاوت پکتین از نظر درجه استریفیکاسیون، تندبند یا کندبند بودن و کاربرد در مواد غذایی به دست آورد. زمیچکین و همکاران (۱۹۹۵) استخراج پکتین به روش اسیدی و آنزیمی از تفاله کدوتنبل را با هم مقایسه کردند. درجه

³ Butternut

² High Methoxyl

نشد. در مورد اثر pH مشاهده شد که با کاهش pH استخراج، میزان گالاکتورنیک اسید پکتین استخراج شده به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. در غالب تیمارها اختلاف قابل توجهی میان pH ۲ و ۳ وجود نداشت. در دمای ۹۰°C از اختلاف بین pH ۱ با pH ۲ و ۳ کاسته شده و تفاوت معنی‌داری بین میزان گالاکتورنیک اسید پکتین استخراج شده در این pH ها وجود نداشت. از دلایلی که برای افزایش خلوص در اثر کاهش pH استخراج می‌توان ذکر کرد این است که هیدرولیز اساسی قندهای خنثی پکتین در pH کمتر از ۲ و دمای بالا اتفاق می‌افتد (یاپو ۲۰۰۹). همچنین کاهش خلوص پکتین در دمای ۹۰°C (pH=۱) احتمالاً ناشی از این است که محلول اسیدی قوی می‌تواند منجر به تجزیه پکتین با وزن مولکولی بالا به زنجیره پکتینی با وزن مولکولی پایین محلول در اثر هیدرولیز جزئی پکتین شود و این مولکول‌ها ممکن است با افزایش الکل رسوب ندهند (کالایاتی و پروکتور ۲۰۰۱)

آمد. در pH ۱ و زمان‌های مختلف با افزایش دما از ۶۰ به ۷۵°C افزایش معنی‌دار در میزان گالاکتورنیک اسید حاصل شد در حالی که افزایش دما از ۷۵ به ۹۰°C موجب کاهش معنی‌دار درصد گالاکتورنیک اسید گردید. در pH ۲ و زمان ۱ ساعت با افزایش دما اختلاف معنی‌داری در درصد گالاکتورنیک اسید حاصل نشد در حالی که در زمان ۲ ساعت با افزایش دما از ۶۰ به ۷۵°C افزایش معنی‌دار در میزان گالاکتورنیک اسید مشاهده گردید اما با افزایش دما از ۷۵ به ۹۰°C اختلاف معنی‌داری در نتایج وجود نداشت. در زمان ۳ ساعت با افزایش دما از ۶۰ به ۷۵°C افزایش معنی‌دار و با افزایش دما از ۷۵ به ۹۰°C کاهش معنی‌دار در درصد گالاکتورنیک اسید به دست آمد. در pH ۳ و ۴ در هر یک از زمان‌های استخراج با افزایش دما اختلاف معنی‌دار در نتایج خلوص پکتین مشاهده نشد. در شرایط مختلف با افزایش زمان استخراج تفاوت معنی‌داری در میزان گالاکتورنیک اسید پکتین مشاهده

جدول ۳- درصد گالاکتورنیک اسید پکتین کدوی آجیلی در شرایط مختلف استخراج (pH، دما و زمان)

زمان pH	۶۰			۷۵			۹۰		
	۱	۲	۳	۱	۲	۳	۱	۲	۳
۱	۷۴/۲±۱/۸	۷۶/۹±۱/۸	۷۶/۳±۲/۲	۸۴/۱±۲/۱	۸۳/۴±۱/۹	۸۲/۵±۱/۸	۷۷±۱/۴	۸۵±۱/۳	۷۴/۴±۲/۴
۲	۷۱/۲±۲/۱	۷۱/۵±۱/۵	۷۱/۷±۰/۸	۷۳/۶±۲/۷	۷۵/۹±۲/۴	۷۶/۱±۱/۷	۷۴/۱±۱/۵	۷۳/۲±۱/۸	۷۰/۶±۱/۱
۳	۷۰/۹±۱/۴	۷۰/۴±۰/۷	۷۱/۲±۱/۸	۷۲±۲/۲	۷۲/۱±۱/۹	۷۳/۵±۱/۶	۷۲/۶±۲/۴	۷۳/۱±۰/۹	۷۲/۳±۲/۶
۴	۶۴/۷±۱	۶۶/۱±۲/۶	۶۷±۱/۵	۶۴/۴±۱/۶	۶۶/۹±۱/۷	۶۶±۱/۹	۶۷±۲/۸	۶۸/۱±۱/۵	۶۷/۵±۱/۲

به دست آوردن خلوص بیشتر، مؤثرتر است. یاپو و همکاران (۲۰۰۷) پکتین را از چغندر قند در شرایط مختلف استخراج کرده و دریافتند که بالاترین درصد گالاکتورنیک اسید در شرایط سخت‌تر استخراج (pH پایین‌تر، دمای بالاتر و زمان طولانی‌تر) به دست آمد. pH مؤثرترین فاکتور بر درصد گالاکتورنیک اسید بوده

مطابق با تحقیق حاضر، تحقیق لویگنه و همکاران (۲۰۰۲) نشان داد که میزان گالاکتورنیک اسید ارتباطی با بازده استخراج نداشته و pH تأثیر متوسطی روی میزان گالاکتورنیک اسید دارد به طوری که pH پایین توانست گالاکتورنیک اسید بیشتری استخراج کند. استخراج پکتین در pH ۱ نسبت به pH های ۲ و ۳ جهت

گالاکتورنیک اسیدها، مقاومت کمتری به هیدرولیز اسیدی دارند (اسکابیو و همکاران ۲۰۰۷). مجموعه قوانین و مقررات مواد شیمیایی و غذایی (FCC)^۴ میزان حداقل مجاز درصد گالاکتورنیک اسید در پکتین‌های تجاری را ۶۵٪ اعلام کرده است (سگیانی و همکاران ۲۰۰۹). از این رو با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان اظهار داشت که میزان گالاکتورنیک اسید پکتین استخراج شده از کدوی آجیلی در محدوده مجاز پکتین‌های تجاری بوده و از خلوص بالایی برخوردار می‌باشد. بررسی منابع نشان داد که پکتین استخراج شده از تفاله کدوتنبل به روش اسیدی و با استفاده از *B. polymyxa* به ترتیب دارای میزان گالاکتورنیک اسید ۴۳٪ و ۶۵٪ بود (ماتورا و همکاران ۱۹۹۵) اما در تحقیق دیگری میزان خلوص پکتین استخراجی از تفاله کدوتنبل به روش اسیدی و آنزیمی (*B. polymyxa*) به ترتیب ۷۹ و ۶۶٪ به دست آمد (پتچیکینا و همکاران ۲۰۰۸) که طبق نظر گارنا و همکاران (۲۰۰۷) ساختار و ترکیب شیمیایی پکتین به منبع آن، روش تهیه بافت، شیوه استخراج، روش جداسازی پکتین‌های استخراجی از مواد محلول، نوع و میزان تخلیص قبل از آنالیز و روش‌های استفاده شده برای ارزیابی و بررسی خصوصیات پکتین بستگی دارد و این عوامل موجب اختلاف در کمیت و کیفیت پکتین می‌گردند. میزان گالاکتورنیک اسید و خلوص پکتین کدوی آجیلی در شرایط استخراج تقریباً مشابه در تحقیق حاضر حدود ۷۵٪ به دست آمد.

نتیجه گیری

جهت استخراج پکتین با راندمان بالا از کدوی آجیلی بدون توجه به درجه استریفیکاسیون آن می‌توان از pH ۱، دمای ۹۰ °C و زمان ۲ ساعت استفاده کرد. لیکن در صورت نیاز به پکتین با درجه استریفیکاسیون بالا، استخراج در pH ۳، دمای ۹۰ °C و زمان ۱ ساعت

و پکتین استخراج شده در pH ۱/۵ از پکتین استخراج شده در pH ۲ خالص‌تر بود. زمان و دما هم تأثیر متوسطی بر درصد گالاکتورنیک اسید دارد. برخلاف تحقیق حاضر، گارنا و همکاران (۲۰۰۷) با استخراج پکتین از سیب دریافتند که در pH ۲ بازده کمتر از pH ۱/۵ بوده اما میزان گالاکتورنیک اسید در pH ۲ بیشتر است. فرضیاتی که در مورد تأثیر pH بر روی خلوص عنوان می‌شود شامل (۱) در pH ۱/۵ پکتین کمتری استخراج می‌شود (۲) ترکیبات دیگری غیر از مواد پکتیکی در pH ۱/۵ از دیواره سلولی حل شده و با الکل رسوب کرده‌اند (۳) در کم‌ترین pH پکتین استخراج شده به ترکیبات با وزن مولکولی کم تجزیه شده که با اتانول رسوب نمی‌کنند. اماگا و همکاران (۲۰۰۸) با استخراج پکتین از پوست موز در مورد اثر pH بر میزان گالاکتورنیک اسید به نتیجه مشابه گارنا و همکاران (۲۰۰۷) رسیدند. همچنین مشاهده نمودند که درصد گالاکتورنیک اسید تحت تأثیر زمان و دمای استخراج قرار نگرفت.

آنالیز واریانس داده‌های درصد گالاکتورنیک اسید پکتین کدوی آجیلی در شرایط مختلف نشان داد که pH، دما و اثر متقابل دما-pH دارای تأثیر معنی‌دار بر درصد گالاکتورنیک اسید بوده و زمان دارای تأثیر معنی‌دار نیست. میزان خلوص در pH‌های پایین و در دمای ۷۵ °C افزایش می‌یابد. با کاهش pH میزان خلوص پکتین افزایش می‌یابد. با افزایش دما تا ۷۵ °C در pH‌های اسیدی‌تر خلوص پکتین افزایش داشته اما در ۹۰ °C به دلیل تجزیه پکتین خلوص کاهش می‌یابد.

با مقایسه نتایج درجه استریفیکاسیون و درصد گالاکتورنیک اسید در تحقیق حاضر مشاهده می‌شود که DE به شرایط استخراج حساس‌تر بوده و میزان تغییرات آن بیشتر از تغییرات درصد گالاکتورنیک اسید می‌باشد. این نتیجه با نتیجه اماگا و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت داشت. احتمالاً به این دلیل که پیوندهای استری نسبت به پیوندهای گلیکوزیدی آلفا ۱ و ۴ بین

^۴ Food Chemical Codex

بدن و نیز کاهش فعالیت سلول‌های سرطانی کاربرد دارد، در حالی که از پکتین‌های با درجه استریفیکاسیون بالاتر برای کاهش میزان کلسترول خون استفاده می‌شود (پتیچکینا و همکاران ۲۰۰۸). تحقیق حاضر نشان داد که بازده استخراج پکتین از کدوی آجیلی قابل توجه بوده و این پکتین جزو پکتین‌های HM و با خلوص بالا مورد نیاز صنایع غذایی می‌باشد. با استفاده از ضایعات کدوی آجیلی جهت تولید پکتین با ویژگی‌های مناسب می‌توان علاوه بر ایجاد ارزش افزوده، مشکلات زیستی از به جای ماندن این ضایعات در مزارع را بر طرف نمود.

سپاسگزاری

بدین وسیله نگارندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از جناب آقای مهندس آغاسی به جهت مساعدت ایشان در مراحل برداشت نمونه اعلام می‌دارند.

مناسب‌تر است. استفاده از pH ۳ به دلیل مصرف کمتر اسید موجب کاهش هزینه می‌شود. همچنین با توجه به این که زمان تأثیر مثبتی در کمیت و کیفیت پکتین استخراج شده ندارد، با زمان‌های کوتاه‌تر (۱ یا ۲ ساعت) جهت استخراج می‌توان در زمان و انرژی صرفه‌جویی نموده و از آسیب‌هایی که ممکن است در شرایط سخت اسیدی در زمان‌های طولانی بر ساختار و ویژگی‌های پکتین وارد آید، جلوگیری نمود. در صنعت برای تهیه مرباهای معمول از پکتین با درجه استریفیکاسیون بالای ۷۰٪ (پکتین تندبند) استفاده می‌شود در حالی که پکتین‌های متوکسیل بالا با درجه استریفیکاسیون کمتر از ۶۸٪ (کندبند) در فرمولاسیون مربای میوه‌های بسیار اسیدی و ژله‌ها به کار می‌روند. از این رو پکتین‌های استخراج شده از کدوی آجیلی در pH ۱ به دلیل DE پایین می‌تواند در محصولات غذایی متفاوت با پکتین‌های استخراج شده در pH های ۲، ۳ و ۴ به کار رود. همچنین پکتین‌های با درجه استریفیکاسیون پایین‌تر برای حذف فلزات سنگین از

منابع مورد استفاده

- مختارپورغ و عباسی آ، ۱۳۷۳. انتخاب بهترین روش تهیه سیلوی بقایای کدوی آجیلی، گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام گرگان و دشت.
- Bocek A M, Zabivalova N M, Petropavlovskii G A, 2001. Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 74: 796-799.
- Duan X, Cheng G, Yang E, Yi C, Ruenroengklin N, Lu W, Luo Y, Jiang Y, 2008. Modification of pectin polysaccharides during ripening of postharvest banana fruit. *Food Chemistry*, 111: 144-149.
- 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: 463-471.
- FAO, 2007. Statistical database. Available on <http://www.fao.org/>.
- Faravash R S, Ashtiani F Z, 2008. The influence of acid volume, ethanol to extract ratio and acid washing time on the yield of pectic substances extraction from peach pomace. *Food Hydrocolloids*, 22: 196-202.
- Fissore E N, Ponce N M, Wider E A, Stortz C A, Gerschenson L N, 2009. Commercial cell wall hydrolytic enzymes for producing pectin-enriched products from butternut (*Cucurbita moschata*, Duchesne ex Poiret). *Journal of Food Engineering*, 93: 293-301.
- 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*, 27: C1-C9.
- Hashemi A and Razzaghzadeh S, 2007. Investigation on the possibility of ensiling cucurbit (*cucurbita pepo*) residues and determination of best silage formula. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6: 1450-1452.

- Kalapathy U, Proctor A, 2001. Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin. *Food Chemistry*, 73: 393-396.
- Kliemann E, Simas K N, Amante E, Prudencio E S, Teofilo R, Ferreira M, Amboni R, 2009. Optimization of pectin acid extraction from passion fruit peel using response surface methodology. *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 476-483.
- Kostalova Z, Hromadkova Z, Ebringerova A, 2010. Isolation and characterization of pectic polysaccharides from the seeded fruit of oil pumpkin (*Cucurbita pepo* L. var. *Styriaca*). *Industrial Crops and Products*, 31: 370- 377.
- Kulkarni S G, Vijayanand P, 2009. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peels. *LWT*, 43(7):026-1031.
- Levigne S, Ralet M C, Thibault J F, 2002. Characterization of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using an experimental design. *Carbohydrate Polymers*, 49: 145-153.
- 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: 3268-3273.
- Masmoudi M, Besbes S, Chaabouni M, Robert C, Paquot M, Blecker C, Attia H, 2008. Optimization of pectin extraction from lemon by-product with acidified date juice using response surface methodology. *Carbohydrate Polymer*, 74: 185-192.
- Matora A, Korshunova V, Shkodina O, Zhemerichkin D, Ptitchkina N, Morris E, 1995. The application of bacterial enzymes for extraction of pectin from pumpkin and sugar beet. *Food Hydrocolloids*, 9(1):43-46
- Monsoor M A, 2005. Effect of drying methods on the functional preoperties of soy hull pectin. *Carbohydrate Polymers*, 61: 362-367.
- Pagan J, Ibarz A, Liorca M, Pagan A, Canovas GB, 2001. Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. *Food Research International*, 34: 605-612.
- Ptichkina N M, Markina O A, Rumyantseva G N, 2008. Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes. *Food Hydrocolloids*, 22: 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: 326-331.
- Sahari M, Akbarian A, Hamed M, 2003. Effect of variety and acid washing method on extraction yield and quality of sunflower head pectin. *Food Chemistry*, 83: 43-47.
- Scabio A, Fertoni H C, Schemin M H, 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
- Seggiani M, Puccini M, Pierini M, Giovando S, Forneris C, 2009. Effect of different extraction and precipitation methods on yield and quality of pectin. *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 574-580.
- Thakur B.R, 1997. Chemistry and uses of pectin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(1):47-73 .
- Wengwai W, Alkarkhi A F, Easa A M, 2010. Effect of extraction conditions on yield and degree of esterification of durian rind pectin: An experimental design. *Food and Bioproducts Processing*, 88:209-214.
- Yapo B, Robert C, Etienne I, Wathelet B, Paquot M, 2007. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, 100: 1356-1364.
- Yapo B M, 2009. Lemon juice improves the extractability and quality characteristics of pectin from yellow passion fruit by products as compared with commercial citric acid extractant. *Bioresource Technology*, 100(12): 3147-3151.
- Zhemerichkin D A, Ptitchkina N M, 1995. The composition and properties of pumpkin and sugar beet pectins. *Food Hydrocolloids*, 9: 147-149.