

مقایسه روشهای مختلف استخراج و جداسازی پکتین از میوه گیاه دارابی
(*Citrus decumana* Murry)

محمد آزادبخت¹، محمدحسین طبائی²، الهام ثابت عهدجهرمی³

تاریخ پذیرش 81/12/20

Title: The comparison of various methods for extraction and isolation of pectin from citrus decumana Murry.

Authors: Azadbakht M.¹, Tabaeey M.H.², Sabet Ahd Jahromi A.³,

Abstract: Pectin, a purified carbohydrate, can be obtained from the dilute acid extract of the inner portion of the rind of citrus fruits or from apple pomace. This carbohydrate mainly consists of partially methoxylated polygalacturonic acids. Purified pectin should produce not less than 6.7 percent of methoxy group and 74 percent of galacturonic acid on the basis of dried material. In this research, several different methods of isolation of pectin from *Citrus decumana* Murry were compared. Extraction methods are included: extraction by HCL, extraction by EDTA, extraction by water, extraction by ammonium oxalate. The methods used for precipitation are included: precipitation by ethanol, precipitation by copper sulfate. The percent of methoxy groups and galacturonic acid have been discussed. Identification of produced pectin have been on the basis of United States Pharmacopeia. The results of IR spectra of standard and extracted pectin were also compared. The highest percentage of obtained pectin was 17.62% which was extracted by HCl and precipitated by ethanol. The percent of methoxy groups was about 6.58 to 7.79 and the percent of galacturonic acid was about 72.99 to 79.98.

Key words: Pectin extraction, Citrus fruits, *Citrus decumana* Murry.

1- دانشیار دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی ساری. Associate professor, School of Pharmacy, Sari University of Medical Sciences.

2- دانشیار دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز. Associate professor, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences.

3- Pharm.D.

3- دکتر داروساز.

چکیده

پکتین کربوهیدراتی است که از عصاره اسیدی قسمت داخلی پوست میوه مرکبات و یا از قسمت گوشتی سیب تهیه می‌گردد. این کربوهیدرات از واحدهای گالاکتورونیک اسید که تا حدی متوکسیله شده‌اند تشکیل شده‌اند بطوری که پکتین دارویی پس از هیدرولیز نباید کمتر از 6/7 درصد گروه متوکسیل و 74 درصد گالاکتورونیک اسید براساس وزن خشک تولید نماید. در این تحقیق روش های مختلف استخراج و جداسازی پکتین از گیاه دارایی با نام علمی *Citrus decumana* Murry از تیره مرکبات (Rutaceae) مورد مقایسه قرار گرفته است. روش های استخراج مورد بررسی عبارت از: استخراج با محلول اسید کلریدریک (HCL)، با محلول ادتات سدیم (EDTA)، با آب، و با اگزالات آمونیوم و روشهای رسوبگیری عبارت از استفاده از اتانول و استفاده از محلول سولفات مس بودند. جهت شناسائی پکتین از روشهای USP و تهیه طیف IR و مقایسه با استاندارد استفاده شد. بیشترین بازده در این روش ها مربوط به استخراج با HCL و رسوبگیری با اتانول بود که 17/62 درصد می‌باشد. میزان گروه های متوکسیل از 6/58 تا 7/79 درصد و میزان گروه های گالاکتورونیک اسید از 72/99 تا 79/98 درصد بود.

گل واژه گان: پکتین، دارایی، مرکبات، گالاکتورونیک اسید.

مقدمه

پکتین پلی ساکاریدی است که در دیواره سلولی همه بافتهای گیاهی وجود دارد. و در ترکیب با مواد سلولزی به عنوان ماده بین سلولی عمل می‌کند. مهمترین جزء این گروه - D - گالاکتورونان خطی است که گروههای کربوکسیل زیادی دارد و این گروهها با متانول استریفیه شده‌اند. سایر اجزاء شامل L-آرابینان و D - گالاکتان می‌باشند که حدود 20% کل ترکیب را شامل میشوند (1 و 2).

امروزه ماده خام اصلی برای تهیه پکتین، پوست میوه‌های جنس سیتروس است و پکتین جزء اصلی قسمت سفید و اسفنجی داخل پوست میوه است. پوستی که جهت تولید پکتین بکار می‌رود از صنایع آب‌میوه‌گیری بدست می‌آید که بدون آب و اسانس است و معمولاً شسته میشود تا مواد محلول اضافی آن خارج شود و اگر قرار باشد که برای مدت طولانی انبار شود و انتقال یابد خشک می‌گردد. از نظر کیفیت پکتین لازم است که پوست بصورت تازه استفاده شود

و یا اینکه بگونه مناسبی عمل شود تا آنزیم‌های پکتناز که در مدت نسبتاً کوتاهی تغییرات نامطلوبی در پکتین ایجاد می‌کنند غیرفعال شوند. پوست پس از استخراج عصاره (آب میوه‌گیری) دارای 4 - 2% پکتین و در شکل خشک دارای 40 - 20% پکتین است (3).

جنس سیتروس (مرکبات) دارای 12 گونه است که تا کنون از گونه‌هایی همچون *C. lemon* و *C. aurantium* جهت تهیه پکتین استفاده میشده است (4). گونه *C. decumana* با نام دارایی بصورت درخت به ارتفاع 4 - 2 متر است این گیاه دارای برگهای قلبی شکل، کامل و متناوب و مرکب از سه برگچه بوده که به مرور زمان دو برگچه تحتانی هر برگ از بین رفته و بصورت دو بال کوچک در قاعده برگچه انتهایی در می‌آید. میوه آن گرد و فشرده است. پوست آن صاف و رنگ گوشت آن زرد است. طعم آن ترش و شیرین است. وزن تقریبی هر میوه

است. بیشترین مصرف پکتین در صنایع صمغ سازی، ژله سازی و داروسازی است (6).

پرونده های استخراج و رسوب دادن مهمترین مراحل جهت تولید پکتین از میوه گیاهان جنس سیتروس می باشند که در این تحقیق این پرونده ها با یکدیگر مقایسه شده اند.

مواد و روش کار

مواد دستگانه ها: مواد شامل اسید کلریدریک، آمونیاک، ادتات سدیم، اگزالات آمونیوم، اتانول، سولفات مس، از نوع مرک تهیه شده است.

دستگاه شامل: FT-IR کارخانه Perkin Elmer (USA)، Rotary evaporator از نوع Heidolph (Germany) و سانتریفوژ Sigma (USA) بوده است.

تهیه نمونه گیاهی: جمع آوری میوه در ماه های آبان و آذر سال 1378 صورت گرفت. نمونه از باغ های مرکبات جهرم جمع آوری گردید. میوه ها ابتدا توزین شده و سپس پوست کنده شده بطوریکه قسمت سفید و اسفنجی پوست میوه باقی بماند. پس از آن قسمت آبدار (مغز) میوه را در آورده و پریکارت بدست آمده به قطعات کوچک بریده شد. این قطعات به مدت 20 دقیقه در اتانول مطلق جوشان جوشانده شد و سپس فشرده شد تا اتانول اضافی آن خارج شود و بعد در آون با دمای 60°C به مدت یکساعت خشک گردید و توسط آسیاب بصورت قطعات ریزتر درآمده تا سطح تماس آن با حلال بیشتر شود برای یکنواخت کردن اندازه ذرات از الک شماره 14 استفاده شد.

استخراج با محلول اسید کلریدریک: از مقدار 10 گرم پودر پریکارپ خشک به مدت 4 ساعت در دمای 90°C و در 250 میلی لیتر محلول HCl با pH برابر با 2، پکتین استخراج گردید. حاصل جوشاندن در یک

آن 400-350 گرم است که حدود 20% وزن آن و 1/3 حجم آنرا پریکارپ میوه تشکیل میدهد (5).

منبع مهم دیگر برای پکتین، قسمت درونی سیب (گوشت سیب) است که بصورت تفاله پس از فشردن سیب جهت بدست آوردن آب سیب باقی میماند. گوشت سیب نیز مانند پوست سیتروس می تواند بصورت تازه یا خشک یکار رود اما فصل کوتاه سیب این ضرورت را ایجاد می کند که گوشت سیب خشک گردد. مقدار پکتین در گوشت سیب خشک از 10 تا 20% تغییر می کند.

منابع دیگری برای پکتین یافت شده است که برخی از آنها در مقادیر صنعتی نیز آزمایش شده اند. در طول جنگ جهانی دوم برای تولید پکتین در اروپا از تفاله چغندر قند استفاده می شد. پکتین حاصل از این راه با پکتین حاصل از سیتروس و سیب متفاوت بوده چون گروه های استیل استر بیشتری داشت و اصولاً برای تولید پکتین با گروه متوکسیل کمتر مناسب بود.

از پکتین در داروسازی در فرآورده های ضد اسهال استفاده شده است. همچنین پکتین در ترکیب با ژلاتین بعنوان عامل انکپسوله کننده در فرآورده های آهسته رهش بکار می رود. پکتین بصورت خوراکی در کاهش سطح کلسترول خون موثر است. پکتین زمان انعقاد خون را کوتاه می کند. پکتین با گروه های متوکسیل بالا برای تهیه آسپیرین آهسته رهش بکار می رود و فرآورده های حاوی پکتین با متوکسیل کم در درمان زخم های معده و دوازدهه بکار رفته اند. پکتین بعنوان یک عامل امولسیون کننده در امولسیون های آب در روغن استفاده می شود (3).

در شروع قرن قبلی، پکتین بصورت عصاره مایع خام به بازار عرضه میشد. اما در حال حاضر بصورت پودر شده با درجه خلوص بالا تولید میشود. پکتین همواره بعنوان یک ماده طبیعی در غذای انسان یافت شده

ریخته شد و درب آن محکم بسته و دور از نور نگهداری گردید.

جداسازی با استفاده از محلول سولفات مس
غلظتهای 0/01، 0/1، 1/10 درصد محلول سولفات مس ساخته شد. آزمایش برای هر غلظت تکرار گردید. مشخص شد که محلول 1% آن بهترین کارایی را دارد 50 میلی لیتر از هر عصاره برداشته و با محلول سولفات مس 1% رسوب داده شد. رسوبها توسط قیف بوخنر و پمپ خلاء جدا گردید و بوسیله محلول اسیدی الکل 10-7 بار شسته شدند تا رنگ سبز مربوط به سولفات مس از بین رفته و رسوب حاصل رنگ سفید به خود بگیرد.

رسوبهای خشک شده در آن با دمای 60°C به مدت 4 ساعت خشک گردید. رسوبهای خشک شده، در هاون بصورت پودر نرم درآمده و در شیشه‌های کوچک جمع‌آوری گردید و با درب بسته دور از نور نگهداری شد.

شناسایی پکتین تهیه شده با روش USP
روشهای تولید ژل سفت و نیم‌ژل به روش USP انجام شد (8).

شناسایی پکتین تهیه شده با طیف IR
1 میلی‌گرم از نمونه با حدود 0/08 گرم KBr خالص و خشک مخلوط شده و بصورت پودر نرم و یکنواخت در آورده شد و با فشار خیلی زیاد در قالبهای مخصوص به صورت قرص نازک و شفاف درآمد. پس از تهیه و آماده‌سازی نمونه، با استفاده از طیف IR طیف نمونه‌ها گرفته شد. همین عملیات بر روی نمونه استاندارد نیز صورت گرفت و نتایج با هم مقایسه گردید (9).

پارچه با منافذ ظریف صاف گردید. حجم عصاره به 100 میلی لیتر رسانده شد (7).

استخراج با محلول ادتات سدیم (EDTA): مقدار 10 گرم پودر پریکارپ خشک به مدت 1 ساعت در دمای 90°C در 250 میلی لیتر محلول 0/5 درصد EDTA (اتیلن دی‌آمین تتراستیک اسید) جوشانده شد و عصاره در یک پارچه با منافذ ظریف صاف گردید. حجم عصاره به 100 میلی لیتر رسانده شد.

استخراج با محلول اگزالات آمونیوم: مقدار 10 گرم پودر پریکارپ خشک به مدت 1 ساعت در دمای 90°C در 250 میلی لیتر محلول 0/25 درصد اگزالات آمونیوم که pH آن توسط اسیدکلریدریک غلیظ به 3/5 رسانده شده بود جوشانده شد. عصاره در یک پارچه با منافذ ظریف صاف شد. حجم عصاره به 100 میلی لیتر رسانده شد.

استخراج با آب: مقدار 10 گرم پودر پریکارپ خشک با 250 میلی لیتر آب جوش به مدت 0/5 ساعت استخراج گردید و عصاره در یک پارچه با منافذ ریز صاف شد. pH عصاره بوسیله محلول آمونیاک یک مولار به 6/5 رسانده شد و در خلاء تبخیر گردید تا حجم عصاره به 100 میلی لیتر رسید.

جداسازی با استفاده از اتانول

50 میلی لیتر از هر عصاره برداشته و با اتانول 96 درجه رسوب داده شد. اتانول اندک اندک افزوده شد تا جایی که رسوب کامل گردید حجم اتانول مصرفی برابر با حجم عصاره بود. رسوبهای بدست آمده توسط قیف بوخنر و خلاء جدا گردید و سپس در آن با دمای 60°C به مدت 4 ساعت خشک گردید.

رسوبهای خشک شده جمع‌آوری شد و در هاون کوبیده شد تا بصورت پودر نرم درآمد. پودرهای بدست آمده توزین گردید و در شیشه‌های کوچک

0/5N در تیترا صابونی شدن معادل 15/52 میلی گرم از OCH_3 - است. (8)

ب) تعیین گالاکتورونیک اسید: هر میلی لیتر از سدیم هیدروکسید 0/5N که در تیترا کل (تیترا صابونی شدن + تیترا اولیه) استفاده می شود برابر 97/07 میلی گرم از $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7$ می باشد. (8)

روش آماری: آزمایش های مختلف هر کدام حداقل 3 بار تکرار شده و تست آماری مورد استفاده Student - t test بوده و نتایج با احتمال $p > 0/05$ ارائه شده اند.

نتایج

نتایج میزان پکتین های بدست آمده از 5 گرم پودر پریکارپ خشک در روش های مختلف بکار رفته جهت استخراج و رسوب گیری در سه سری آزمایش در جدول شماره یک ارائه شده است.

نتایج شناسایی با روش USP

کلیه آزمایشات شناسایی پکتین روی نمونه استاندارد و نمونه تهیه شده انجام شد. نتایج بدست آمده نشان داد که دو نمونه با هم مطابقت دارند.

نتایج شناسایی با طیف IR

پیکهای مربوط به گروه های عاملی (Functional group) شاخص پکتین، در طیف پکتین استاندارد و نمونه استخراج شده یکسان بوده است.

میانگین و میزان انحراف معیار براساس میانگین میزان پکتین های بدست آمده در روش های مختلف بکار رفته جهت استخراج و رسوب گیری در سه سری آزمایش انجام شده در جدول شماره دو ارائه شده است.

تعیین گروه های متوکسیل و گالاکتورونیک اسید: به روش USP میزان گروه های متوکسیل و گالاکتورونیک اسید هر یک از پکتین ها اندازه گیری شد.

الف) تعیین گروه متوکسیل: 5 گرم از پکتین به یک بشر مناسب منتقل شد و با مخلوطی از 5 میلی لیتر اسید کلریدریک و 100 میلی لیتر الکل 60% برای 10 دقیقه به هم زده شد. سپس به یک قیف بوختر متصل به پمپ خلاء منتقل گردید و 6 بار با 15 میلی لیتر مخلوط اتانول 60% و HCl شسته شد. سپس با الکل 60% شسته شد تا جایی که محلول زیر صافی دیگر یون کلراید نداشته باشد. برای تعیین نقطه پایان از محلول AgNO_3 (نیترا تره) استفاده شد که در حضور یون کلراید واکنش داده و رسوب AgCl ظاهر می شود. نهایتاً با 20 میلی لیتر الکل شسته شد برای 1 ساعت در 150°C خشک گردیده سرد شد و توزین گردید. دقیقاً 0/1 وزن کل رسوب برداشته و به یک ارلن 250 منتقل شد و با الکل خیس گردید. 100ml آب عاری از CO_2 به آن اضافه شد و آنقدر تکان داده شد تا پکتین کاملاً حل گردید. 5 قطره فنل فتالین به آن اضافه شده و با سدیم هیدروکسید 0/5N تیترا گردید و نتیجه تحت عنوان تیترا اولیه یادداشت شد. (8)

20 میلی لیتر سدیم هیدروکسید 0/5N به محلول بدست آمده اضافه شد و پس از تکان دادن برای 20 دقیقه به حال خود گذاشته شد. 20 میلی لیتر اسید کلریدریک 0/5N به آن اضافه شد و تا ناپدید شدن رنگ صورتی تکان داده شد. فنل فتالین اضافه گردید و با سدیم هیدروکسید 0/5N تیترا گردید تا رنگ صورتی ظاهر شود به طوری که که پس از تکان دادن ثابت بماند. این تیترا تحت عنوان تیترا صابونی شدن یادداشت شد. هر میلی لیتر از سدیم هیدروکسید

جدول شماره 1: نتایج میزان پکتین‌های بدست آمده از 5 گرم پودر پریکارپ خشک میوه دارابی در روشهای مختلف استخراج و جداسازی

سری آزمایش	استخراج		محلول HCL	محلول EDTA	محلول اگزالات آمونیم	آب
	رسوب‌گیری	اتانول 50%				
آزمایش سری اول	رسوب‌گیری	اتانول 50%	0/8795	غیر قابل خشک کردن	0/4525	0/8380
	محلول سولفات مس		0/6445	رسوب ندارد	0/3822	0/6173
آزمایش سری دوم	رسوب‌گیری	اتانول 50%	0/8625	غیر قابل خشک کردن	0/4503	0/7925
	محلول سولفات مس		0/6326	رسوب ندارد	0/3912	0/5925
آزمایش سری سوم	رسوب‌گیری	اتانول 50%	0/9015	غیر قابل خشک کردن	0/4632	0/8195
	محلول سولفات مس		0/6750	رسوب ندارد	0/3857	0/5972

نتایج 6/58 درصد تا حداکثر 7/48 درصد بوده است. نتایج میزان بازده استخراج پکتین و رسوب‌گیری آن از عصاره به روشهای مختلف در جدول شماره سه ارائه شده است.

نتایج میزان گروه‌های متوکسیل و گالاکتورونیک اسید: میزان گالاکتورونیک اسید در پکتین‌های تهیه شده به روشهای مختلف از حداقل 72/99 درصد تا حداکثر 79/79 درصد و میزان متوکسیل از حداقل

جدول شماره 2: میانگین و میزان انحراف معیار میزان پکتین‌های بدست آمده از میوه دارابی در روشهای مختلف استخراج و جداسازی

میانگین و انحراف معیار	استخراج		محلول HCL	محلول EDTA	محلول اگزالات آمونیم	آب
	رسوب‌گیری	اتانول 50%				
میانگین	رسوب‌گیری	اتانول 50%	0/8812	-	0/4553	0/8175
	محلول سولفات مس		0/6507	-	0/3864	0/6023
انحراف معیار	رسوب‌گیری	اتانول 50%	0/0195	-	0/0066	0/00214
	محلول سولفات مس		0/0218	-	0/0045	0/0368

جدول شماره 3: بازده وزنی / وزنی استخراج و جداسازی پکتین به روشهای مختلف از میوه دارابی

رسوب‌گیری	استخراج		محلول EDTA	محلول اگزالات آمونیم	آب
	HCL	اتانول 50%			
رسوب‌گیری	HCL	اتانول 50%	-	9/11%	16/35%
محلول سولفات مس	HCL	اتانول 50%	-	7/73%	12/05%

اسیدکلریدریک با pH بین 1/5 تا 2 و دمای بین 90 - 80 درجه سانتی‌گراد برای 2 تا 4 ساعت مورد استخراج قرار گرفت و بوسیله اتانول رسوب‌گیری شد در حدود 8/4 - 2/4 درصد بود و حداکثر بازده (8/4 درصد) پکتین در استخراج با اسیدکلریدریک مربوط به شرایط دمای 90°C، زمان 4 ساعت و pH برابر با 2 بوده است. در دمای مشخص با طولانی کردن زمان استخراج، بازده افزایش می‌یافت و این افزایش مثلاً در دمای 80°C بیشتر از 90°C است و

بحث

استخراج پکتین از میوه دارابی - Citrus decumana M. برای اولین بار در این تحقیق انجام شده است. همچنین در این تحقیق روشهای مختلف استخراج و جداسازی برای اولین بار با یکدیگر مقایسه شده‌اند.

در تحقیقی در سال 1993 در هند توسط بهلا و همکاران از سیب جهت استخراج پکتین استفاده شد. بازده پکتین وقتی که گوشت سیب بوسیله محلول

نروژ، با استفاده از محلول داغ اگزالات آمونیوم، پکتین را از کلم استخراج کردند که میزان بازده 12% بود (10).

روش چهارم برای استخراج پکتین از میوه دارابی استفاده از آب بود (11). استخراج آب جوش و به مدت نیم ساعت صورت گرفت و سپس pH عصاره توسط آمونیاک 1 مولار به 6/5 رسانده شد و در خلاء تبخیر گردید. در استخراج پکتین از کلم نیز از آب داغ استفاده شد که در رسوب گیری با اتانول میزان بازده 13 درصد بود (10). در حالیکه میزان بازده از میوه دارابی در این تحقیق 15/35 درصد بود.

همانطوریکه ذکر شد روشهای رسوب گیری در تحقیق حاضر استفاده از اتانول 50% و محلول 1% سولفات مس بود. از بررسی جدول شماره 3 این نتیجه بدست می آید که استفاده از اتانول جهت رسوب گیری بازده بیشتری نسبت به محلول سولفات مس 1% بدست می دهد.

نتایج میزان گروههای متوکسیل و گالاکتورونیک اسید با معیار USP مطابقت دارد. براساس فارماکوپه USP میزان گروههای متوکسیل و گالاکتورونیک اسید به ترتیب کمتر از 6/7 و 74 درصد نمی باشد (8).

نتیجه گیری

نتیجه کلی این است که بیشترین بازده در استخراج پکتین از میوه دارابی در حالتی بدست می آید که محلول اسید کلریدریک با pH برابر 2 و دمای 50% استفاده شود در این حالت بازده نسبت به وزن خشک پریکارپ 17/62 درصد است که میزان قابل توجهی می باشد.

این نشان می دهد که پکتین در دمای 90°C بیشتر و راحت تر استخراج می شود. با توجه به این مطلب می توان نتیجه گرفت که در استخراج پکتین از سیب، دما از زمان استخراج مهم تر است (7).

در تحقیق حاضر میزان بازده پکتین از دارابی 17/62 درصد بوده است که بسیار بیشتر از بازده 8/4 درصد تحقیق بالا است.

در مطالعه دیگری در سال 1971 در کشور غنا، پکتین بوسیله اسید از پوست میوه کاکائو استخراج گردید. در این تحقیق از اسید کلریدریک 0/05N و از اسید استیک 0/2N استفاده شد که میزان بازده 11 - 8 درصد بود (6).

روش دیگری که در استخراج پکتین از میوه دارابی در این تحقیق بکار گرفته شد استفاده از محلول EDTA (اتیلن دی آمین تترا استات سدیم - ادنات سدیم) با غلظت 0/5 درصد بود (2). عصاره حاصل کاملاً ویسکوز و شفاف بود اما روشهای رسوب گیری مورد بررسی، تهیه پکتین خشک از این عصاره ممکن نگردید. در استفاده از اتانول برای رسوب گیری، ژله ای و غیر قابل جداسازی ایجاد گردید که هنگام خشک کردن کاملاً به کاغذ صافی مورد استفاده می چسبید و قابل خشک کردن نبود. در استفاده از محلول سولفات مس برای رسوب گیری هیچگونه رسوبی حاصل نشد. دلیل آن ممکن است تشکیل کمپلکس مس و EDTA باشد.

روش سوم برای استخراج پکتین از میوه دارابی استفاده از محلول 0/25 درصد اگزالات آمونیوم بود. در تحقیقات متفاوتی برای استخراج پکتین از کاکائو، تنباکو، و کلم از اگزالات آمونیوم استفاده شده است (6 و 7). در سال 1983 استیونس و همکاران در

References:

- 1- Kalapathy u., proctor A.: Effect of extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of hull pectin, food chemistry , 2001 , 73 , (4) , 393 – 396.
- 2- Joye D. D., luzio G. A.: process for selective extractive of pectin from plant material by different PH , carbohydrate polymers , 2000 , 43 , (4) , 337 – 342.
- 3- Whistler R.L., Bemiller J.N.: Industrial gums , Poly saccharides and their derivatives , 2 th. Ed. , 1989 , 429 – 461.
- 4- Trease G.E., Evans W.C.: Trease and Evan's pharnacognosy , 15 th. Ed. ,1998 , 343.
- 5- ثابتی حبیب... ، جنگلها ، درختان و درختچه‌های ایران ، انتشارات دانشگاه یزد ، 232 – 231 – (1374).
- 6- Adomako D.: Cocoa pod husk pectin , phytochemistry , 1971 , 71 , 45 – 48.
- 7- Bhalla T.C., joshi M., Agrawal H.o.: Evaluation of some methods for isolation of pectin from apple pomace , Natl. Acad. Sci. lett. (India) , 1993 , 16 (5 – 6) , 157 – 9.
- 8- United states pharmacopeia , 23 , NF. 18 , 1995 , 1161.
- 9- Kamnev A. A., Colina M., Rodriguez J.: Comparative spectroscopic characterication of different pectins and their sources , food hydrocoloids ,1998 , 12 (3) 263 – 271.
- 10- Stevens B. J.H., selvendran R.R.: pectic poly-saccharides of cabbage (Brassica oleracea) , phytochemistry , 1983 , 107–115.
- 11- Levigne S., palet M – C., thibaut J. F.: Characterization of pectins extracted from fresh suger beet under different condition, polymers, 2002 , 40 (2) 145 – 153.