



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی ویژگی‌های پکتین استخراج شده از کنجاله کلزا در روش هیدرولیز آنزیمی با استفاده از استخراج به کمک مایکروویو

نیما مباهی^{*}، سید هادی رضوی^۱، زهرا امام جمعه^۳

- ۱- دانشجوی دوره دکتری تخصصی رشته علوم و مهندسی صنایع غذایی، آزمایشگاه مهندسی فرآیندهای بیوتکنولوژی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
- ۲- دکتری علوم و صنایع غذایی، آزمایشگاه مهندسی فرآیندهای بیوتکنولوژی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
- ۳- دکتری علوم و صنایع غذایی، آزمایشگاه مهندسی فرآیندهای بیوتکنولوژی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۰

کلمات کلیدی:

کنجاله کلزا،

پکتین،

هیدرولیز آنزیمی،

فرآیند کمکی مایکروویو،

راندمان استخراج،

فعالیت امولسیون کننده

DOI:10.22034/FSCT.22.159.251.

* مسئول مکاتبات:

n.mobahi@ut.ac.ir

پکتین به عنوان هیدروکلوئید که در دیواره سلولی گیاهان قرار دارد می‌تواند یک محصول ثانویه در فراوری صنایع غذایی باشد. کلزا پس از روغنکشی دارای مقادیر بالایی از پکتین است. برای استخراج پکتین از کنجاله کلزا از روش مقایسه استخراج هیدرولیز آنزیمی با حضور و عدم حضور به کمک مایکروویو (با قدرت ۶۰۰ وات در چهار زمان صفر، ۱، ۳ و ۵ دقیقه) مورد استفاده قرار گرفت. بررسی تأثیر زمان تابش مایکروویو بر عملکرد استخراج و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و رئولوژیکی پکتین استخراج شده انجام شد. ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی و شیمیایی نشان دادند که حضور فرآیند مایکروویو منجر شد تا خواص عملکردی پکتین استخراج شده بهبود یابد و فرآیند استخراج را تسهیل کرد ($p < 0/05$). بالاترین بازده استخراج پکتین ۹/۱٪ (وزنی/وزنی) در ۵ دقیقه تابش پرتو با قدرت ۶۰۰ وات در فرایند کمکی مایکروویو با قدرت ۶۰۰ وات بود. این فرآیند کمکی بر درجه استری شدن و محتوای اسید گالاکترونیک پکتین تأثیر گذاشت تا توانایی تشکیل ژل در حضور مقادیر قند کم را داشته باشد و در محصولات رژیمی مناسب باشد. محتوای اسید گالاکترونیک در تمام نمونه‌ها بالاتر از ۶۰٪ بود که نشان از ظرفیت تشکیل ژل بالا است. پکتین استخراجی در زمان ۵ دقیقه تابش مایکروویو با قدرت ۶۰۰ وات بهترین ویژگی‌ها را با حداکثر محتوای اسید گالاکترونیک (۷۶/۵۱٪)، بالاترین فعالیت امولسیون کنندگی (۵۸/۰۱٪) و پایداری امولسیون (۹۵/۰۳٪) را ارائه داد. حضور فرآیند کمکی مایکروویو مقادیر کشش سطحی محلول آبی پکتین را کاهش داد (۴۳/۱۱٪ در ۵ دقیقه تابش) و ظرفیت ایجاد کف پکتین (بیشترین مقدار در ۵ دقیقه تابش ۸۴/۱۳٪) آن را تحت تأثیر قرار داده، بهبود بخشید. تابش پرتو در طول زمان مایکروویو باعث تغییرات قابل توجهی در ویژگی‌های پکتین، مانند ویسکوزیته ذاتی، میانگین ویسکوزیته، ظرفیت نگهداری آب شد تا ژلی با کیفیت بالاتر را تشکیل دهد.

۱- مقدمه

توان در مناطق معتدل جهان کشت کرد. هر دو شکل بهاره و زمستانی این گیاه وجود دارد، اما این شکل بهاره است که در تولید آمریکای شمالی، اروپا و مناطق سردسیر ایران مانند اردبیل، آذربایجان شرقی و گلستان غالب است. روغن کانولا محصول اصلی این گیاه است و حدود ۴۵٪ وزن دانه را تشکیل می‌دهد. این روغن در صنایع گوناگونی مانند روغن پخت و پز، روغن تولید انواع شکلات، صنایع بیسکویت و شیرینی پزی و غیره کاربرد فراوان دارد [۹، ۱۰]. کنجاله کلزا امروزه به عنوان غذای دام و یا در صنایع سلولزی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۱]. کنجاله دانه کلزا حاوی مقادیر بالایی از کربوهیدرات (بیش از ۳۰٪)، پروتئین (بیش از ۳۰٪) و چربی (بیش از ۱۰٪) است و به طور بالقوه می‌تواند به عنوان یک منبع برای استخراج دو مورد اول باشد [۱۲]. محتوای پکتین در کربوهیدرات‌های کنجاله کلزا نسبتاً بیشتر از سایر پلی ساکاریدها است [۱۳]. بنابراین در بررسی استخراج پکتین از کلزا انتظار می‌رود که کارایی کاربرد کربوهیدرات کنجاله کلزا افزایش و جنبه اقتصادی پالایشگاه‌های کلزا را بهبود بخشد. با این حال، مطالعات کمی در مورد پکتین این منبع وجود دارد، و بیشتر بر روی سلولز و همی سلولز کنجاله کلزا بحث شده است [۱۱].

مایکروویو تولید کننده امواج الکترومغناطیسی با فرکانس متناظر از ۰/۳ تا ۳۰۰ گیگاهرتز است. ناحیه مایکروویو در کل طیف الکترومغناطیسی بین فرکانس‌های مادون قرمز و رادیویی است. به عنوان نوعی موج الکترومغناطیسی، مایکروویو دارای میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی است. بر اساس برهمکنش بین تابش مایکروویو و مواد تابیده شده به آن، یک ماده را می‌توان به سه نوع طبقه بندی کرد: (۱) مواد جاذب مانند آب و گلیسرول که می‌توانند امواج مایکروویو

پکتین به عنوان پلی ساکاریدی که یکی از ارکان ساختاری در دیواره‌های سلولی اولیه و لایه میانی گیاهان عالی یافت می‌شود شناخته شده است. این کمپلکس آنیونی پلی ساکاریدی است که بخش اصلی آن متشکل از (۱-۴) آلفا-دی گالاکترونیک اسید است و با قندهای خشی آرابینوز، گالاکتوز و زایلوز زنجیره‌های جانبی را تشکیل داده است. پکتین‌ها بر اساس درجه متیلاسیون^۱ عمدتاً به دسته‌های متوکسیل بالا^۲ (MD>50%) و متوکسیل کم^۳ (DM<50%) طبقه بندی می‌شوند [۱]. پکتین یک ماده پرکاربرد در صنایع غذایی، زیست پزشکی، دارویی، آرایشی و بهداشتی است نه تنها به دلیل خواص و ویژگی‌های عملکردی آن، بلکه به عنوان فیبر محلول نیز تأثیرات ارتقاء سلامتی آن اثبات شده است [۲]. افزایش نگرانی برای حفظ محیط زیست و رفاه اجتماعی، توسعه منابع غذایی جایگزین را تسریع کرده است. بنابراین، منابع طبیعی مختلفی که محیطی، اقتصادی و فراوان هستند، از سوی بازارهای خاص در صنایع غذایی مورد توجه قرار گرفته اند [3]. در مقیاس تجاری در صنایع غذایی و دارویی، این ماکرومولکول کربوهیدرات اسیدی معمولاً از ضایعات مرکبات و سبب تولید می‌شود، زیرا به دلیل درجه متیلاسیون، وزن مولکولی و میزان هموگالاکتورونان در ساختار پکتین این منابع است [۴]. پکتین‌ها به عنوان عوامل ژل کننده و امولسیون کننده معمولاً برای تثبیت مربا، ژله و نوشیدنی‌های لبنی اسیدی استفاده می‌شوند [۵، ۶]. پکتین‌ها همچنین می‌توانند به تنهایی یا در ترکیب با پلیمرهای زیستی دیگر برای تهیه کپسول‌های میکرو و نانو حاوی مواد فعال زیستی استفاده شوند [۷]. علاوه بر این، نقش‌های مرتبط با سلامتی پکتین‌ها مانند کاهش کلسترول، کاهش سطح گلوکز سرم، مهار رشد سلول‌های سرطانی و بهبود سیستم ایمنی گزارش شده است [۴، ۸].

کلزا^۴ به عنوان محصول دانه روغنی در اروپا در اوایل قرون وسطی کشت شد. دانه‌های روغنی کلزا به دلیل توانایی جوانه زدن و رشد در دماهای پایین، یکی از معدود محصولات روغنی است که می

3- Low Methylation

4-Brassica napus

1- Methylation degree (MD)

2- High Methylation

را جذب کنند، که دی الکتریک مایکروویو نیز نامیده می شوند. (۲) هادی ها (عمدتاً فلزات) که امواج مایکروویو نمی تواند به آنها نفوذ کند و بیشتر این امواج تابیده شده منعکس می شوند. و (۳) عایق ها یا مواد شفاف با از جمله کوارتز و تفلون، که به امواج مایکروویو اجازه عبور بدون تلفات را می دهند. دی الکتریک مایکروویو معمولاً به عنوان وسیله گرمایش استفاده می شود. حضور مایکروویو همچنین دارای مزایای بی شماری در استخراج پلی ساکاریدها از جمله پتانسیل کاهش زمان فرآیند و مصرف انرژی، کاهش تولید فاضلاب در نتیجه استفاده کمتر از حلال های آلی، افزایش بازده و خلوص پلی ساکاریدهای استخراج شده، بهبود نرخ گرمایش هنگام استخراج، کنترل بیشتر سیستم و پارامترهای استخراج در طول فرآیند است [۱۴].

در این مطالعه، استخراج پکتین را با استفاده از فرآیند ترکیبی در شرایط بهینه در طول هیدرولیز آنزیمی برای عملکرد پکتین بالا بررسی کردیم. در ابتدا، چربی کلزا با استخراج با حلال حذف شد و سپس هیدرولیز آنزیمی با زمان های مختلف هیدرولیز آنزیمی، نسبت آنزیم-RSC و نسبت کوکتل آنزیم (نسبت سلولولکلاست-آلکالاز) در pH و دمای ثابت انجام شد. علاوه بر این، اثر شرایط هیدرولیز آنزیمی بر استخراج پکتین برای مقایسه نرخ تخریب کنجاله کلزا و بازده قندهای احیاکننده آزاد شده و پکتین مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش ها

۱-۲ مواد اولیه

۱-۲-۱ تهیه کنجاله کلزا:

دانه گیاه کلزا (رقم نیما از نوع زمستانه، غیر هیبریدی، درصد خلوص بذر برابر با ۹۹٪) از اداره جهاد کشاورزی استان تهران تهیه شد. ابتدا و به کمک آسیاب آزمایشگاهی (شرکت ایران میل،

کشور ایران) به طور کامل آسیاب و توسط الک با مش ۴۰ (الک زرین، ایران) جداسازی پوسته و پودر دانه ها انجام شد. در ادامه فرآیند روغن گیری اولیه دانه های خرد شده با پرس سرد (شرکت بکردانه، ایران) انجام شد. در مرحله دوم، با استفاده از حلال هگزان با نسبت ۱:۶ وزنی/حجمی بر روی همزن مغناطیسی (هر ۳ ساعت یک بار محلول هگزان تعویض شد)، جدا سازی روغن از پودر دانه تکمیل شد. سپس با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، در دمای محیط و به مدت ۳۰ دقیقه محلول روغن و حلال باقی مانده را از پودر دانه کلزا جدا کرده و آرد باقی مانده به کمک آون تحت خلا (گروه صنعتی بهمن، ایران) در دمای ۳۵ درجه سلسیوس و در فشار ۲ بار به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی هگران تکمیل شد [۱۳].

۲-۲ استخراج پکتین به روش هیدرولیز آنزیمی^۵

پس از فرآیند حذف چربی، از دو آنزیم تجاری (Novozymes Korea Ltd، کشور کره جنوبی) جهت هیدرولیز مورد استفاده قرار گرفت: سلولکلاست L ۱/۵ نوع FG0 به عنوان سلولاز، تولید شده از *Trichoderma reesei*، با فعالیت اعلام شده ۷۰۰ EGU/g و آلکالاز L ۲/۵ نوع EX0 (آلکالاز) به عنوان پروتئاز، تولید شده از *Bacillus licheniformis* با فعالیت اعلام شده ۲/۵ AU-A/g. پنج گرم پودر کنجاله بدون چربی کلزا^۶ بدون چربی در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری قرار داده و ۱۰۰ میلی لیتر بافر استات سدیم ۰/۰۵ مولار (pH برابر ۵/۵) به آن اضافه شد. سلولکلاست و آلکالاز با نسبت آنزیم-کنجاله از ۱:۵۰ حجمی/وزنی استفاده شدند. در نهایت، کوکتل آنزیمی، متشکل از نسبت سلولکلاست به آلکالاز (۴:۱ حجمی/حجمی)، روی کنجاله اعمال شد. پس از انکوباسیون در انکوباتور تکان دهنده (پارت آزما، ایران) در دمای ۵۰ درجه سلسیوس با ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۹۰ دقیقه، مایع رویی با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شده و سانتریفیوژ شدند (۱۹۶۲۰ گرم به مدت ۱۰ دقیقه) تا مایع شفاف رویی جمع آوری شد. سپس مواد پکتیک سه بار با اتانول ۹۵ درصد شسته شدند تا کربوهیدرات های هیدرولیز شده (مانند مونو و دی ساکاریدها) حذف شوند. در نهایت پکتین

6- Rapeseed defatted cake (RSDC)

5- Enzymatic Hydrolysis (EH)

گرم پکتین، مخلوط در ۲۰ میلی لیتر آب دیونیزه شده حل شد و با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه بر روی همزن مغناطیسی (IKA، آلمان) هم زده شد. دو یا سه قطره از معرف فنل فتالین به محلول اضافه و با NaOH ۰/۱ نرمال تیترا شد. در مرحله بعد، ۱۰ میلی لیتر NaOH ۰/۱ نرمال به محلول نمونه اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه با شرایط قبل هم خورد تا واکنش هیدرولیز کامل شود. سپس ۱۰ میلی لیتر هیدروکلراید ۰/۱ نرمال به نمونه‌ها اضافه شد و تا زمانی که رنگ صورتی کاملاً حذف شود، هم زده شد. در نهایت، نمونه‌ها با NaOH ۰/۱ نرمال تیترا شدند تا زمانی که رنگ صورتی نمایان شود. از معادله ۲ برای تخمین درصد استریفیکاسیون (DE) استفاده شد [۱۵]:

$$DE = \frac{v_2}{v_2 + v_1} \times 100 \quad \text{معادله ۲}$$

۲-۳ اندازه‌گیری محتوای کل اسید گالاکترونیك^۱
از روش رنگ سنجی بر اساس معرف ۵،۳-دی متیل فنل برای اندازه‌گیری محتوای اسید گالاکترونیك کل پکتین‌های استخراج شده از کنجاله کلزا به هر دو روش استخراجی استفاده شد. برای این آزمایش، ۱ میلی لیتر محلول پکتین با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر در یک لوله ریخته شد و سپس ۶ میلی لیتر اسید سولفوریک/تتربورات سدیم اضافه شد و بلافاصله در حمام حاوی آب سرد خنک شد. عملیات مداوم شامل تکان دادن لوله‌ها با یک میکسر گردابی، گرم کردن در حمام آب و خنک سازی انجام شد. در این مرحله، معرف اضافه شد، به مدت ۵ دقیقه تکان داده شد و جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر (SP-UV 500) UV/Vis (کشور چین) در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد [۱۶].

۲-۴ خواص کشش سطحی، کف کردن و ظرفیت نگهداری آب

مرطوب در آن با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ ساعت خشک و در لوله‌های شیشه‌ای پیرکس نگهداری شد [۳].
۱-۲ استخراج پکتین به روش حضور کمکی مایکروویو^۷
روش فروهر و همکاران (۲۰۲۳) با اندکی تغییر برای استخراج پکتین از کنجاله پودری کلزا با استفاده از یک دستگاه مایکروویو مجهز به یک سیستم مخزن (MLS Ethos 1600 Microwave System، Leutkirch، آلمان) استفاده شد. با توجه به بررسی‌های اولیه برای رسیدن به حداکثر راندمان استخراج^۸، پارامترهای پردازش اعمال شده ۵ گرم پودر کنجاله کلزا در ۱۰۰ میلی لیتر بافر استات سدیم ۰/۰۵ مولار (pH برابر ۱/۵ تنظیم شده با اسید سیتریک)، قدرت مایکروویو ۶۰۰ وات، و زمان تابش ۱، ۳ و ۵ دقیقه بود. پس از سرد شدن، آنزیمها طبق روش بخش ۲-۲ اضافه و فرایند ادامه پیدا کرد. محلولهای استخراج به دست آمده از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شده و سانتریفیوژ شدند (۱۹۶۲۰ گرم به مدت ۱۰ دقیقه) تا مایع شفاف رویی جمع آوری شد. سپس مواد پکتیک سه بار با اتانول ۹۵ درصد شسته شدند تا کربوهیدرات‌های هیدرولیز شده (مانند مونو و دی ساکاریدها) حذف شوند. در نهایت پکتین مرطوب در آن با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ ساعت خشک و در لوله‌های شیشه‌ای پیرکس نگهداری شد [۱۴].

۱-۲ تمام مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت سیگما آلدریچ (ایالات متحده آمریکا) تهیه شد.
۲-۲ آزمون‌ها

۱-۲ اندازه‌گیری راندمان استخراج
راندمان استخراج پکتین (EY) حاصل از هر دو روش استخراج با تقسیم وزن (گرم) پکتین خشک (W_{Dried-Pectin}) به وزن (گرم) پودرهای کنجاله کلزا (W_{Dried-RSC}) (معادل ۱) برآورد شد [۱]:
معادله ۱
$$EY = \frac{W_{Dried-Pectin}}{W_{Dried-RSC}}$$

۲-۲ اندازه‌گیری درجه استریفیکاسیون^۹

از روش تیتراسیون کلاسیک برای تعیین درجه استری شدن استفاده شد. پس از افزودن ۳ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد به ۰/۲

9- Esterification Degree

10 -Total Galacturonic Acid (TGA)

7 -Microwave-Assisted (MAE)

8 -Extraction yields (EYs)

$$t_{1/2} = \left(\frac{V_{r0}}{2 \times K_s} \right)^{10} \quad \text{معادله ۴}$$

ظرفیت نگهداری آب^{۱۴} در نمونه پکتین‌های استخراجی دمای اتاق ارزیابی شد. از هر پکتین ۰/۳ گرم به ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شدند، مخلوط به مدت ۱ دقیقه ورتکس شد و به مدت ۳۰ دقیقه قبل از سانتریفیوژ در ۷۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه شد. پکتین باقی مانده به شکل گلوله پس از حذف مایع رویی وزن شد. مقدار WHC نمونه‌ها به صورت گرم آب حفظ شده توسط ۱ گرم پکتین بیان شد [۱۷].

۲-۵- ویسکوزیته و رفتار رئولوژیکی

ویسکومتر قابل برنامه ریزی چرخشی (Brookfield Engineering Inc, DVBT، ایالات متحده آمریکا) مجهز به آداپتور UL پیشرفته برای تعیین ویسکوزیته و رفتار جریان محلول‌های پکتین (۲۰ میلی لیتر) در 1 ± 24 درجه سلسیوس، در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ (وزنی/حجمی) استفاده شد. در این آزمون از سیستم اندازه‌گیری سیلندر کواکسیال شکاف باریک با دوک (پروپ) LV#16 بهره برده شد. همانطور که در کتابچه راهنمای بروکفیلد توصیه شده است، سرعت اسپیندل برای ارائه بالاترین درصد گشتاور در محدوده ۱۰۰-۱۰٪ تنظیم شده است. زمان انجام فرایند برای هر اندازه‌گیری تقریباً ۵ دقیقه بود [۱].

۲-۶- فعالیت امولسیون‌کننده^{۱۵} و پایداری امولسیون

امولسیون‌ها با مخلوط کردن محلول‌های ۵ درصد روغن ذرت و ۵ درصد پکتین (۱:۱ حجمی) تهیه شدند و متعاقباً با استفاده از هموژنایزر روتور-استاتور (Ultraturrax T25، IKA، کشور آلمان) به مدت ۵ دقیقه در ۷۵۰۰ دور در دقیقه در ۲۴ درجه سلسیوس همگن شدند. امولسیون‌های حاوی قطعات درشت با استفاده از سیستم فراصوت ۲۴ کیلوهرتز (UP400S، Hielscher Ultrasonics GmbH، کشور آلمان) با حداکثر توان خروجی ۴۰۰ وات برای تولید امولسیون‌های پراکنده ریز

کشش سطحی^{۱۱} تعادل با روش حلقه دو نوی و با استفاده از دستگاه کشش سنج (Kruss K20 Easy Dyne) اندازه‌گیری شد. برای این آزمایش، محلول نمونه‌های هر دو روش استخراج (با غلظت ۱٪ وزنی) با حل ۰/۳ گرم پکتین در ۳۰ میلی لیتر آب مقطر در دمای ۶۰ درجه سلسیوس تهیه شد. محلول‌های نمونه قبل از اندازه‌گیری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. کشش سطحی آب تازه ۴ بار تقطیر با مقدار ۷۱ mN/m، به عنوان مرجع استفاده شد [۱۴].

خواص کف‌کنندگی محلول پکتین‌های استخراجی به عنوان ظرفیت کف^{۱۲} (FC) و پایداری کف^{۱۳} (FS) بیان شد و با روشی که توسط فروهر و همکاران (۲۰۲۳) توضیح داده شد، با تغییرات جزئی تعیین شد. فوم با هموژنیزه کردن محلول پکتین (۱٪ وزنی/حجمی) در ۱۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با استفاده از هموژنایزر (Ultraturrax IKA، کشور آلمان) تهیه شد. حجم فوم هر ۵ دقیقه تا ۳۵ دقیقه با استفاده از دوربین دیجیتال ثبت شد و سپس توسط نرم افزار ImageJ 1.46r تجزیه و تحلیل شد. FC و FS به ترتیب با اندازه‌گیری نسبت ارتفاع کف به ارتفاع کل بلافاصله پس از تشکیل فوم و پس از ۳۵ دقیقه تعیین شدند [۱۴، ۱۷].

با توجه به مدل‌سازی سینتیکی پایداری فوم، از مدل‌های تجربی (معادله (۳)) برای همبستگی داده‌های تجربی نسبت فوم استفاده شد که به صورت ارتفاع فوم به نسبت ارتفاع کل از $t = 0$ تا $t = 35$ دقیقه بیان شد. نیمه تایم ($t_{1/2}$) که نشان دهنده پایداری فوم است مطابق شکل زیر محاسبه شد (معادله (۴)). پارامترهای سینتیک k_1 (حجم فوم در دقیقه) و عدد ثابت V_r ، از طریق رگرسیون ابزار برازش منحنی نرم افزار MATLAB R2008a (The Mathworks، ایالات متحده آمریکا) تعیین شد [۱۷].

$$V_r = V_{r0} - K_1 t^{0.01} \quad \text{معادله ۳}$$

14 -Water Holding Capacity (WHC)

15 -Emulsifying Activity (EA)

11 -Surface Tension (ST)

12 -Foam Capacity (FC)

13- Foam Stability (FS)

لیتر از ۷/۴ میلی مول در لیتر نمک دی آمونیوم ABTS با ۰/۳۵ میلی لیتر ۲/۶ میلی مول در لیتر $K_2S_2O_8$ مخلوط شد و در یک محیط تاریک در دمای 1 ± 24 درجه سلسیوس به مدت ۱۵ ساعت انکوبه شد تا رادیکال ABTS تشکیل شود. محلول ABTS با افزودن اتانول ۹۶ درصد رقیق شد تا به مقدار جذب 0.02 ± 0.07 در ۷۳۴ نانومتر برسد. پس از آن، ۲ میلی لیتر محلول ABTS با ۰/۲ میلی لیتر محلول پکتین در غلظت های مختلف (۱۵-۳ میلی گرم بر میلی لیتر) مخلوط شد و جذب پس از ۲۰ دقیقه انکوباسیون در ۷۳۴ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر UV/Vis (SP-UV 500، کشور چین) اندازه گیری شد. قرائت در برابر اتانول ۹۶٪ (کنترل منفی) اندازه گیری شد. کنترل های مثبت در این آزمایش BHA و ویتامین C بودند. درصد SA_{ABTS} با معادله زیر محاسبه شد (معادل ۸) [۲۰]:

$$SA_{ABTS} = \left(1 - \frac{Abs_{Sample}}{Abs_{Control}}\right) \times 100 \quad \text{معادله ۸}$$

۳-۲ تجزیه و تحلیل آماری

داده های دریافتی با نرم افزار IBM SPSS Statistics (۲۵/۰/۲/۲، ایالات متحده آمریکا) مورد تجزیه و تحلیل شد. تفاوت معنی داری بین گروه های اندازه گیری شده با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با سطح اطمینان ۹۵ درصد تعیین شد. پس از نرمال بودن و آزمون همگنی انحراف معیار از آزمون Tukey HSD استفاده شد. تجزیه و تحلیل تشخیص خطی (LDA) برای بررسی تفکیک پذیری هر نوع پکتین استخراجی انجام شد. در صورت وجود تفاوت معنادار، آزمون توکی با سطح ۵ درصد معناداری به کار گرفته شد. کلیه آزمون ها در سه تکرار صورت پذیرفتند.

۳- نتایج و بحث

۱-۳ میزان راندمان استخراج پکتین

مقادیر بازده پکتین استخراج شده با استفاده از روش های EH و MAE در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده

فراصوت شدند. ۱۰ گرم از امولسیون بلافاصله در لوله آزمایش ریخته شد و در دمای ۴ و ۲۴ درجه سلسیوس به عنوان دمای نگهداری^{۱۶} به مدت ۲۸ روز نگهداری شد. فعالیت امولسیون کننده (EA (%، معادله ۵) و پایداری امولسیون^{۱۷} (ES (%، معادله ۶) پکتینهای استخراج شده از هر دو روش محاسبه شد.

$$EA = \frac{V_{el}}{V_t} \quad \text{معادله ۵}$$

$$ES = \frac{EA_{f-28d}}{EA_{i-0d}} \quad \text{معادله ۶}$$

که در آن V_{el} و V_t به ترتیب حجم لایه امولسیون شده و حجم کل امولسیون بودند. EA_{f-28d} و EA_{i-0d} به ترتیب فعالیت امولسیون کنندگی در زمان اولیه (روز ۰) و انتهایی (روز ۲۸) زمان ذخیره سازی بودند [۱، ۱۸]

۲-۲-۷ فعالیت آنتی اکسیدانی

۲-۲-۱-۷ توانایی مهار رادیکال DPPH

روش اصلاح شده یاماگوچی و همکاران (۱۹۹۸) برای ارزیابی فعالیت مهار رادیکال های آزاد پکتین های استخراج شده به هر دو روش استفاده شد. به طور خلاصه ۱ میلی لیتر عصاره پکتیک با غلظت های مختلف (۳-۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر) با ۲ میلی لیتر از محلول ۰/۲ میلی مولار DPPH مخلوط شد و در دمای ۲۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. جذب (Abs) در برابر متانول با استفاده از اسپکتروفتومتر UV/Vis (SP-UV 500، کشور چین) در طول موج ۵۱۷ نانومتر ثبت شد. BHA و ویتامین C به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و با استفاده از رابطه زیر (معادل ۷) برآورد شد [۱۹]:

$$SA_{DPPH} = \left(1 - \frac{Abs_{Sample}}{Abs_{Control}}\right) \times 100 \quad \text{معادله ۷}$$

۲-۲-۲-۷ ظرفیت مهار رادیکال ABTS

فعالیت مهار رادیکال ABTS (SA_{ABTS}) محلول های پکتین مطابق روشی که توسط تامبیراج و همکارانش (۲۰۱۵) توضیح داده شد با اندکی تغییر اندازه گیری شد. به طور خلاصه، ۰/۳۵ میلی

بهبود بخشند [۲۱]. افزایش زمان فرایند می‌تواند به رهايش بیشتر پکتین به درون محلول اسیدی کمک نماید. پیش از این جیونگ و همکاران (۲۰۱۳) اقدام به استخراج پکتین از کلزا به روش هیدرولیز آنزیمی کرده بودند که میزان راندمان استخراج در روش هیدرولیز آنزیمی ۶/۲۳٪ بود. این موضوع که گونه و وارته گیاه می‌تواند در مقادیر اجزای آن تفاوت ایجاد کند یکی از علل تفاوت میزان استخراجی ما (۷/۶٪) با نتایج آنها بود [۳]. از سوی دیگر اما فرایند مایکروویو به عنوان پیش تیمار کمکی در استخراج پکتین از دانه‌های روغنی در تحقیقی مشاهده نشد. از بین گیاهان دیگر، جیانگ و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که بازده استخراج پکتین از پوست هندوانه ۱۹/۶ درصد توسط MAE در توان ۵۰۰ W، pH برابر با ۱/۵ و زمان استخراج ۷ دقیقه بود [۲۲].

می‌شود بیشترین راندمان و بازده پکتین استخراج شده در نمونه MAE5 (توان ۶۰۰ وات و مدت زمان ۵ دقیقه) برابر با مقدار ۹٪/۱ می‌باشد و کمترین مقدار مربوط به نمونه EH (استخراج بدون فرایند کمکی مایکروویو) با مقدار ۷/۶٪ است. با حضور فرایند کمکی درصد راندمان استخراج پکتین از پودر کنجاله کلزا افزایش یافت. زمان تابش پرتو مایکروویو یکی از مهمترین عوامل افزایش راندمان استخراج است [۱۷]. افزایش راندمان از ۸/۴٪ به ۹٪/۱ طی مدت ۱ دقیقه تا ۵ دقیقه تابش پرتو مشاهده شد. در فرآیند استخراج، حرارت دادن مایکروویو فشار قابل توجهی را در داخل دانه‌های پودر ایجاد می‌کند و می‌تواند خواص فیزیکی مواد خام مانند تخلخل را تغییر دهد. این موضوع توسط بسیاری از محققان به اثبات رسیده که امواج مایکروویو می‌تواند نفوذ حلال به بافت، انتقال انرژی به مخلوط و آزادسازی ترکیبات هدف را

EY (%)

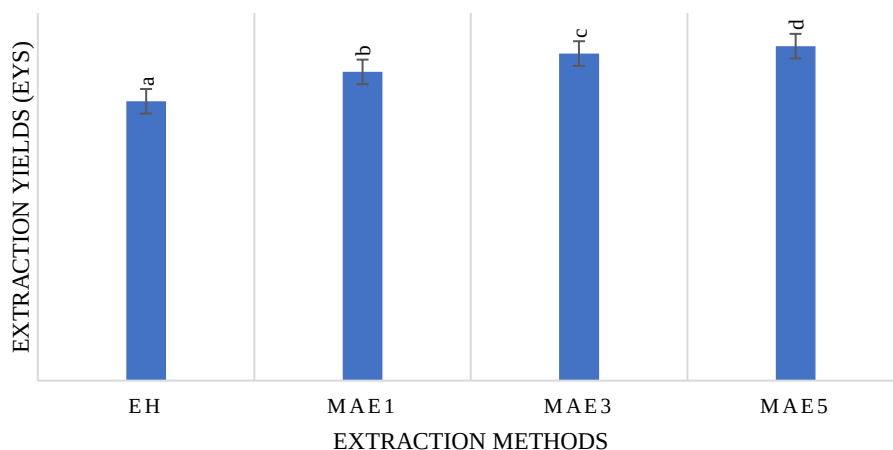


Fig 1. The effect of Enzymatic and microwave-assisted treatment on pectin extraction efficiency of defatted-cake rapeseed^{a, ‡}

^a Operating conditions in an acidic medium (pH 1.5): EH (Enzymatic Hydrolysis), MAE (Microwave-Assisted) (600 W, 1, 3 and 5 min)

[‡] Means within each column with the same letters are not significantly different ($P < 0.05$).

بستگی دارد. نتایج در شکل ۲ نشان داد که مقدار DE پکتین استخراجی در فرآیند استخراج به روش هیدرولیز آنزیمی به ۴۵٪/۴ رسید. تفاوت معنی داری در مقدار DE پکتین به دست آمده با مدت زمان های مختلف استخراج مشاهده شد. اعمال فرایند کمکی مایکروویو (۳، ۱ و ۵ دقیقه) بین ۴۵٪/۱۷ تا ۴۲٪/۸۱ متغیر است. استخراج پکتین در شرایط دمایی و حضور پرتو مایکروویو موجب ایجاد شرایط سخت‌تر شده،

۳-۲ اندازه‌گیری درجه استریفیکاسیون

کاربرد پکتین تا حد زیادی به درجه استری شدن (DE) آن بستگی دارد. همه پکتین‌های استخراجی طبق نتایج شکل ۲ به نوع با متوکسی کم تعلق داشتند، چرا که مقادیر DE در همه نمونه‌ها کمتر از ۵۰٪ بود. با توجه به این مورد و شکل ۲، تأثیر زمان اعمال فرآیند تابش مایکروویو بر مقادیر DE

به پکتین‌های بالای ۵۰٪ نسبت به pH مقاوم تر هستند و ژل ها را می توان در محدوده وسیعی از pH بدست آورد [۲۵]. پکتین‌های با درجه استری کمتر از ۵۰٪ می توانند در حضور کاتیون های دو ظرفیتی، معمولاً کلسیم (Ca^{2+}) ژل کنند و این فرآیند ژل شدن را می توان به راحتی با افزودن یون های تک ظرفیتی مانند سدیم (Na^{+}) و پتاسیم (K^{+}) معکوس کرد [۲۶]. جئونگ و همکاران (۲۰۱۴) در استخراج به کمک فراصوت محدود ۴۷٪ را برای پکتین استخراجی از کنجاله کلزا نشان داد که از نمونه‌های موجود در بازار حدود ۷٪ کمتر بود [۱۲]. در تحقیقی دیگر، ایگل‌سیاس و همکارش (۲۰۰۴) DE مربوط به پکتین استخراج شده از کنجاله آفتابگردان را حدود ۱۱٪ اعلام کرد که بسیار پایینتر از کلزا بود [۲۷].

افزایش استری زدایی زنجیره های پلی گالاکترونیک را به دنبال دارد که می‌تواند منجر به DE کمتر شود [۲۳]. طبق نتایج دیگر محققین سه عامل یعنی زمان اعمال فرآیند، قدرت اعمالی در فرآیند و دمای فرآیند می‌تواند بر مقدار DE تاثیر و میزان DE را کاهش دهد [۱۷]. در بین این سه عامل اما تنها مدت زمان فرآیند برای ما متغیر بود، قدرت آن ثابت و نیز دمای آن با توجه به افزایش زمان احتمالاً افزایش داشته است. در پکتین‌های با درجه استری کمتر از ۵۰٪ مستقل از محتوای قند (در نبود آنها و یا مقدار جزئی) ژل می شوند و از نظر شیمیایی در برابر رطوبت و گرما پایدارتر از پکتین‌های با درجه استری بیشتر از ۵۰٪ هستند [۲۴]. این نوع پکتین‌ها معمولاً برای فرموله کردن مرباهای کم شکر یا کم کالری، ژله ها و دسرهای لبنی استفاده می شوند [۱]. آنها همچنین نسبت

Degree of Esterification

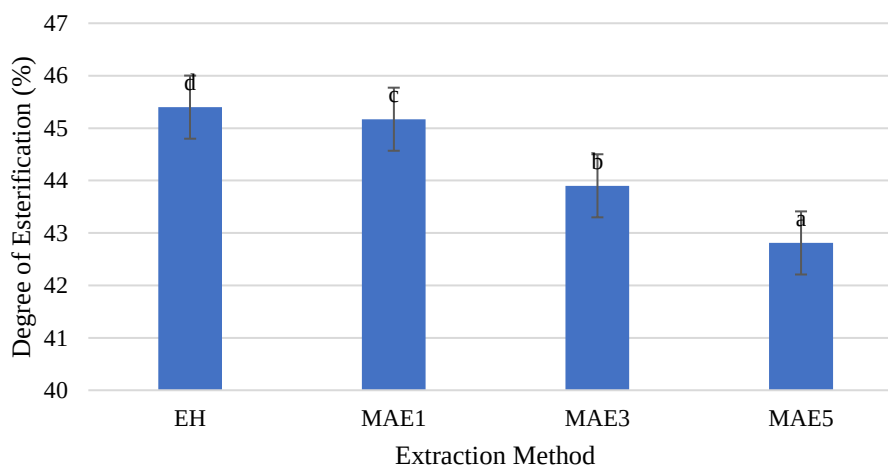


Fig 2. The effect of Enzymatic and microwave-assisted treatment on pectin Degree of Esterification (DE) of defatted-cake rapeseed ^{a ‡}

^a Operating conditions in an acidic medium (pH 1.5): EH (Enzymatic Hydrolysis), MAE (Microwave-Assisted) (600 W, 1,3 and 5 min)

[‡] Means within each column with the same letters are not significantly different ($P < 0.05$).

(۶۵/۲۱٪) به‌طور معنی‌داری کمتر از پکتین‌های تجاری تهیه شده بود ($p < 0.05$). اعمال فرآیند مایکروویو موجب افزایش معنی‌دار TGA در پکتین شد. حداکثر میزان TGA در ۵ دقیقه اعمال فرآیند مایکروویو معادل ۷۶/۵۱٪ بود. الزامات FAO و اتحادیه اروپا، محتوای TGA در پکتین های صنعتی باید حداقل ۶۵٪ باشد [۲۸]. لذا پکتین استخراج شده

۳-۳ اندازه‌گیری محتوای کل اسید گالاکترونیک

کیفیت پکتین استخراج شده را می توان با توجه به درصد DE و TGA ارزیابی کرد، زیرا این پارامترهای شیمیایی تأثیر قابل توجهی بر خواص ژل شدن و ایجاد بافت دارند [۲۳]. TGA پکتین استخراج‌شده توسط هیدرولیز آنزیمی

دلیل ترکیب این نوع پکتین با اسید در دمای بالا، دارای توانایی بالایی برای آزادسازی کامل ترکیبات پکتیک با اسید گالاکترونیک بیشتر از قسمت‌های عمیق‌تر ساختار گیاه است [۳۰].

به کمک فرآیند میکروویو برای تشکیل ژل های قوی در صنایع غذایی مناسب است. ظرفیت بالای پکتین به دست آمده توسط MAE در ایجاد ژل ممکن است به اثر غالب پرتوهای میکروویو در ایجاد بستری برای استخراج کامل و سریع نسبت شرایط دیگر نسبت داده شود [۲۹]. به همین

Total galacturonic acid

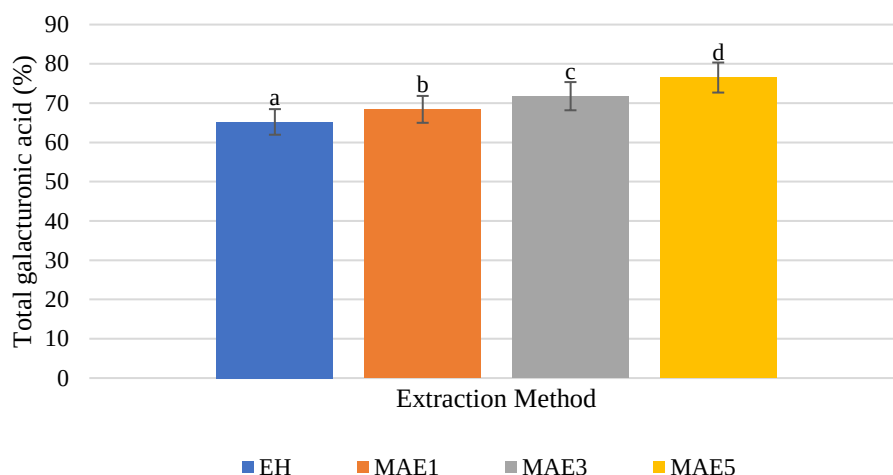


Fig 3. The effect of Enzymatic and microwave-assisted treatment on total galacturonic acid content of defatted-cake rapeseed ^{a†}

^a Operating conditions in an acidic medium (pH 1.5): EH (Enzymatic Hydrolysis), MAE (Microwave-Assisted) (600 W, 1,3 and 5 min)

[†] Means within each column with the same letters are not significantly different ($P < 0.05$).

دقیقه و $43/11$ mN/m در ۵ دقیقه بود. اما در مقایسه با نمونه تجاری موجود در بازار ارزش کشش سطحی محلول پکتین استخراج شده کنجاله کلزا به هر دو روش (۱٪ وزنی در حجم) تقریباً برابر بودند ($45/8$ mN/m). اشمیت و همکاران (۲۰۱۴) نیز رقمی مشابه با نمونه تجاری موجود در بازار ایران از محلول پکتین مرکبات (۱٪ (وزن / حجم)) به دست آورده بودند [۳۲].

FC و FS محلول های آبی پکتین کنجاله کلزا در جدول ۱ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که مدت زمان پیش تیمار استخراج می تواند به طور قابل توجهی بر FC تأثیر بگذارد ($P < 0.05$). پکتین به دست آمده با استفاده از EH (هیدرولیز آنزیمی) تفاوت معنی داری را در FC و FS از نمونه MAE نشان داد. این نتایج برای FC محلول های پکتین استخراجی با اندازه گیری کشش سطحی

۳-۴ خواص کشش سطحی، کف کردن و ظرفیت نگهداری آب

کشش سطحی آب دیونیزه، به عنوان مرجع، معادل mN/m ۷۱ اندازه گیری شد. همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، مقادیر کشش سطحی محلول پکتین کنجاله کلزا به روش EH (هیدرولیز آنزیمی)، ۱٪ (وزنی/حجمی)، کمتر از mN/m ۷۱ بود ($45/45$)، که نشان می دهد پکتین استخراجی می تواند کشش سطحی محلول را کاهش دهد. این پارامتر یکی از مهمترین خواص فیزیکی پلیمرهای زیستی برای تشکیل کف است که هر چه کشش سطحی کمتر باشد، توانایی تشکیل فوم بیشتر است [۳۱]. مقادیر کشش سطحی پکتین استخراج شده توسط MAE معادل mN/m $44/38$ در ۱ دقیقه، $43/69$ mN/m در ۳

و داده‌های پروتئین مطابقت دارد. FS نمونه‌ها در محدوده ۳۰/۴۸ تا ۳۱/۸۷ درصد بود.

WHC می‌تواند برای خواص فیزیکی مانند ویسکوزیته، ایجاد غلظت و بافت و نیز تولید حجم در محصولات غذایی فرموله شده با پکتین موثر باشد ۳۸. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، WHC پودر کنجاله کلزا به دست آمده از MAE در محدوده ۱۱/۷۱ تا ۱۱/۷۵ گرم آب بر گرم پکتین (gwater/gpectin) بود که مقادیر مناسبی را برای WHC در مقایسه با پکتین مرکبات که به صورت تجاری فروش می‌روند (gwater/gpectin ۱۰/۲) نشان داد. بر اساس نتایج تجربی (جدول ۱)، مقدار WHC پکتین از MAE بالاتر از مقدار بدست آمده توسط EP بود، در حالی که تنها تفاوت معنی داری بین نمونه های MAE و EH هنگام استفاده از پیش تیمار به مدت ۵ دقیقه در ۶۰۰ وات

مشاهده شد. ساختار فیزیکی و ترکیب شیمیایی پکتین می‌تواند برای WHC موثر باشد. بنابراین، پیش تیمار مایکروویو می‌تواند ساختار فیزیکی یا ترکیب شیمیایی پکتین را تغییر دهد که بر این پارامتر تأثیر می‌گذارد و خاصیت آب دوستی نمونه‌ها را کاهش می‌دهد ۳۹. ارزش WHC پکتین کنجاله کلزا در نمونه‌های با یا بدون پیش تیمار مایکروویو، بالاتر از ارزش WHC صمغ گوار (gwater/gpectin ۴/۸) و کربوکسی متیل سلولز (gwater/gpectin ۱۰) بود که در محصولات آرایشی و بهداشتی به عنوان غلیظ کننده و برای کاهش پدیده از دست دادن رطوبت پوست استفاده می‌شود [۳۳]. از آنجایی که پکتین به عنوان یک عامل غلیظ کننده طبقه بندی می‌شود و دارای ارزش WHC است، پکتین کنجاله کلزا را می‌توان برای استفاده در محصولات آرایشی و بهداشتی پیشنهاد کرد.

Table 1. Effect of extraction method (1% (w/v) pectin solutions at 25 °C) on Surface Tension, Water holding capacity, foam properties, Viscosity, emulsifying activity, emulsion stability, S_{ADPPH}, and S_{ABTS} ^{†*}

Characters ^a	Pectin types obtained with different extraction methods ^b			
	EH	MAE1	MAE3	MAE5
SF (%)	45.45±0.1 ^d	44.38±0.24 ^c	43.69±0.17 ^b	43.11±0.15 ^a
WHC (%)	11.67±0.11 ^a	11.72±0.1 ^b	11.71±0.18 ^b	11.75±0.39 ^c
FS (%)	30.48±0.12 ^a	31.21±0.23 ^b	31.8±0.05 ^c	31.87±0.41 ^d
FC (%)	81.1±0.09 ^a	82.45±0.21 ^b	84.12±0.09 ^c	84.13±0.14 ^c
Viscosity (Pa.s)	8.54±0.09 ^a	9.34±0.31 ^b	11.57±0.2 ^c	12.39±0.33 ^d
EA (% , 4°C)	50.6±0.13 ^a	52.33±0.15 ^b	55.87±0.19 ^c	58.01±0.39 ^d
EA (% , 24°C)	49.87±0.11 ^c	50.04±0.14 ^c	51.08±0.27 ^f	52.1±0.11 ^a
ES ^a (% , 4°C)	81.7±0.12 ^a	85.54±0.2 ^b	89.88±0.31 ^c	93.05±0.21 ^d
ES ^a (% , 24°C)	79.09±0.1 ^a	83.68±0.09 ^b	88.16±0.33 ^c	92.04±0.24 ^d
S _{ADPPH} ^a	67.3±0.2 ^b	69.9±0.19 ^b	70.5±0.14 ^c	71.2±0.26 ^d
S _{ABTS} ^a	70.5±0.13 ^b	72.4±0.16 ^b	75.1±0.15 ^c	78.8±0.47 ^d

^a SF (Surface Tension), WHC (Water Holding Capacity), FS (Foam Stability), FC (Foam Capacity), EA (emulsifying activity), ES (emulsion stability), S_{ADPPH} (DPPH scavenging activity), S_{ABTS} (ABTS scavenging activity)

^b Operating conditions in an acidic medium (pH 1.5): EH (Enzymatic Hydrolysis), MAE (Microwave-Assisted) (600 W, 1,3 and 5 min)

[†] Means within each row followed with the same letters are not significantly different (P < 0.05).

* Data are means ± SD.

۳-۵ رفتار رئولوژیکی

ویسکوزیته محلول‌های پکتین در غلظت ۱٪ وزنی/حجمی نشان داد که محلول‌های پکتین استخراج شده توسط MAE ویسکوزیته بیشتری از محلول‌های به دست آمده توسط EH را دارد (p<۰/۰۵).

شکل ۴). این جدول رفتار جریان پکتین های بدست آمده با روش های MAE (در سه زمان ۱، ۳ و ۵ دقیقه در توان ۶۰۰ وات) و EH را در غلظت ۱٪ وزنی/حجمی نشان می‌دهد. افزایش قابل توجهی در ویسکوزیته همه محلول پکتین استخراج شده با

ناهمسانگردی ساختاری ناشی از تغییر شکل برشی، ویسکوزیته با افزایش نرخ برش به تدریج با مقدار تقریباً ثابتی کاهش می‌یابد [۳۵]. نتیجه مشابهی قبلاً توسط چن و همکاران (۲۰۱۴) در رابطه با رفتار رئولوژیکی پکتین استخراجی از بامیه گزارش شده بود [۳۶]. همچنین غریب زاهدی و همکاران (۲۰۱۹) در روش‌های گوناگون استخراج پکتین از انجیر خشک متوجه شدند که حضور پیش تیمار کمکی مایکروویو می‌تواند نتایج مشابهی در افزایش ویسکوزیته پکتین حاصله بدست آورد (شکل ۴) [۱].

مایکروویو ($p < 0.05$) مشاهده شد. رفتار جریان نیوتنی در نمونه مربوط به EH مشاهده شد، در حالی که رفتار جریان شبه پلاستیک در نمونه‌های مربوط به استخراج به کمک مایکروویو غالب بود (شکل ۴). تغییر از نیوتنی به شبه پلاستیک در بیشترین زمان استخراج پکتین را می‌توان به از هم گسیختگی شبکه پلیمری زیستی تحت تنش برشی و جهت گیری جزئی زنجیره‌های پکتین در جهت جریان برشی و به دلیل تضعیف برخی از برهمکنش‌های فیزیکی ضعیف نسبت داد [۱، ۳۴]. جون و همکاران (۲۰۰۶) در تحقیق خود بر روی پکتین کدوتنبل نشان دادند که به دلیل

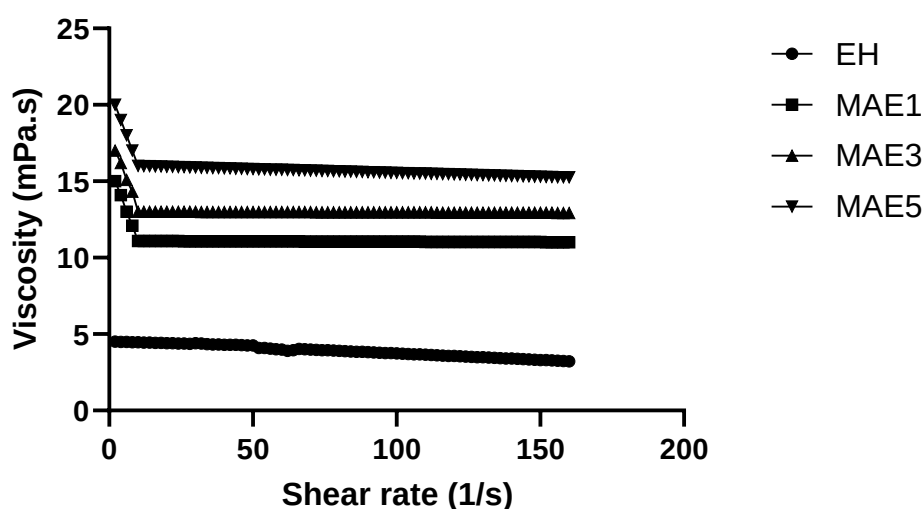


Fig. 4. The flow behavior of pectic solutions containing RSC pectins extracted by Enzymatic Hydrolysis (EH) and Microwave-Assisted Extraction (MAE) methods at different times

پکتین کنجاله کلزا استخراج شده توسط MAE می‌تواند به عنوان یک امولسیفایر و تثبیت کننده قدرتمند برای ترکیب در فرمولاسیون‌های مختلف غذایی و زیستی در نظر گرفته شود. به نظر می‌رسد که پکتین‌ها می‌توانند سیستم‌های امولسیون را با کاهش کشش سطحی قطرات روغن از طریق تشکیل دافعه‌های الکترواستاتیک روی سطوح آن‌ها تثبیت کنند [۳۷]. پکتین می‌تواند خواص امولسیون سازی را با تشکیل شبکه‌های سه بعدی قوی و بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی فاز آبی پیوسته ارتقا دهد [۳۸].

۳-۷ فعالیت آنتی اکسیدانی

جدول ۱ و شکل ۵ فعالیت‌های مهار DPPH (شکل ۵-الف) و ABTS (شکل ۵-ب) پکتین‌های استخراج شده از کنجاله کلزا

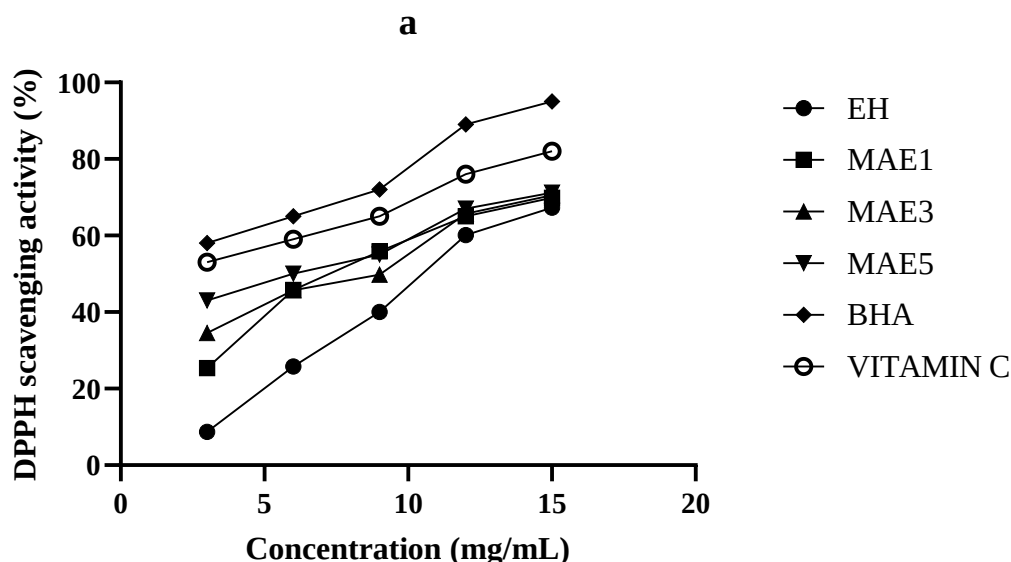
۳-۶ فعالیت امولسیون کننده و پایداری امولسیون

فعالیت امولسیون کنندگی (EA) هر سه نمونه پکتین استخراج شده توسط MAE در زمان‌های ۱، ۳ و ۵ دقیقه تحت تأثیر دمای ذخیره سازی (ST) قرار گرفتند ($p < 0.05$) با این حال، پکتین استخراجی به روش EA تمام انواع پکتین با افزایش ST از ۴ به ۲۴ درجه سلسیوس کاهش یافت جدول ۱. کاهش در ES با افزایش ST از ۴ به ۲۴ درجه سلسیوس مشاهده شد. اگرچه افزایش ST برای پکتین‌های استخراج شده MAE تأثیر قابل توجهی بر این پارامتر داشت ($p < 0.05$)، اما با افزایش ST، تغییر قابل توجهی در ES پکتین‌های استخراج شده توسط EH مشاهده نشد. پکتین استخراج شده توسط MAE به ترتیب دارای حداکثر و حداقل مقادیر EA و ES بود (جدول ۱). بنابراین،

گروه کمتر از مقادیر BHA و ویتامین C بود. SA_{DPPH} به ترتیب از $67/3\%$ تا $71/2\%$ متغیر بود (جدول ۱ و شکل ۵-الف). با این حال، در ۱۵ میلی گرم در میلی لیتر عصاره پکتین، بیشترین و کمترین درصد SA_{ABTS} به ترتیب مربوط به پکتین های استخراج شده توسط MAE5 (۵ دقیقه در توان ۶۰۰ وات) ($78/8$) و EH ($70/5\%$) بود ($p < 0/05$) (جدول ۱ و شکل ۵-ب). این نتایج نشان از افزایش قدرت حذف DPPH و ABTS با افزایش زمان اعمال تابش مایکروویو تا زمان ۵ دقیقه و نیز افزایش خواص آنتی اکسیدانی پکتین در تیمار MAE5 نسبت به دیگر تیمارها بود. حضور بسیاری از گروه های هیدروکسیل و کربوکسیل در پکتین های استخراج شده می تواند نقش کلیدی به عنوان اهدا کننده الکترون و انتقال الکترون ها به رادیکال های آزاد مورد مطالعه داشته باشد. همچنین، مولکول های پکتین می توانند واکنش زنجیره ای رادیکال را با ترکیب یون های رادیکالی که برای فرآیند اکسیداسیون ضروری هستند خاتمه دهند. این نتایج به طور کلی با یافته های گزارش شده توسط غریب زاهدی و همکاران (۲۰۱۹)، مرزوقی و همکاران (۲۰۱۸) که بررسی ویژگی DPPH و ABTS پکتین حاصل از استخراج برگ سیاه شور پرپشت و جئونگ و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داشت [۱، ۱۲، ۳۹].

با روش های EH و MAE و ترکیبات کنترل مثبت BHA و ویتامین C را نشان می دهد. DPPH رادیکال آزاد نیتروژن محور با یک الکترون جفت نشده است که در مواجهه با رادیکال های پروتون مستعد کاهش است. محلول آن به دلیل وجود الکترون فرد به رنگ ارغوانی تیره قرار می گیرد که این موضوع منجر به جذب قوی در طول موج ۵۱۷ نانومتر می شود. بنابراین، تغییر رنگ محلول از بنفش به زرد پس از حذف DPPH توسط آنتی اکسیدان ها به عنوان وسیله ای برای تعیین کمیت عمل می کند. ABTS نیز یک رادیکال مصنوعی معروف نیتروژن محور است که می تواند از طریق اکسیداسیون ABTS با پرسولفات پتاسیم تولید شود. پس از واکنش بین ABTS و آنتی اکسیدان، ABTS با اهدای یک الکترون به شکل غیر رادیکال خود تبدیل می شود [۲۵].

فعالیت های آنتی اکسیدانی برای پکتین های استخراج شده به صورت وابسته به دوز ۳ تا ۱۵ میلی گرم در میلی لیتر افزایش یافته است ($p < 0/05$). بر اساس داده های جدول ۱ مشاهده می شود که تفاوت معنی داری در مقادیر SA_{DPPH} ۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر از پکتین های استخراج شده توسط EH و MAE وجود ندارد ($p > 0/05$). در کل فعالیت های ضد رادیکال پکتین های هر دو



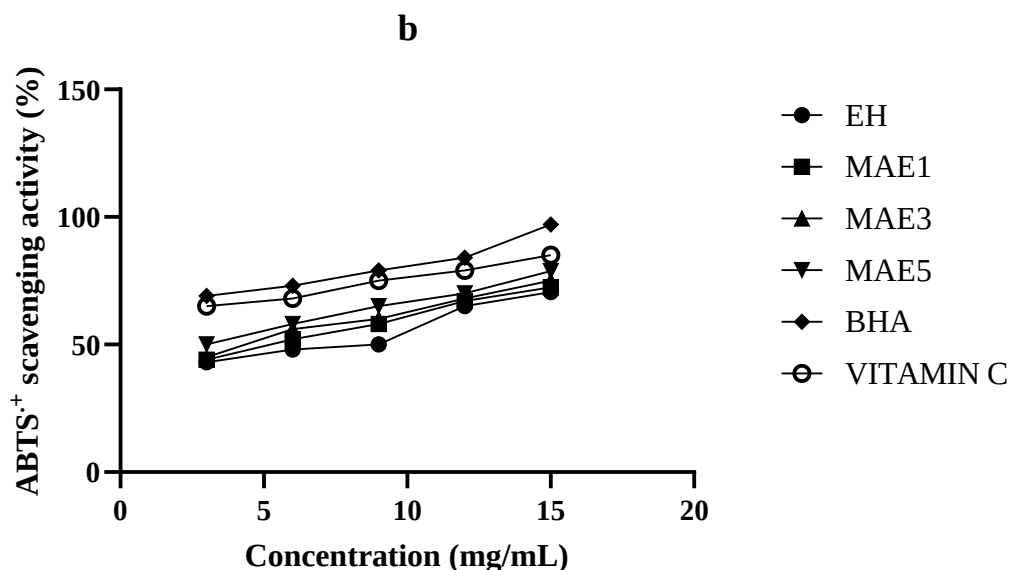


Fig. 5. DPPH[•] (a) and ABTS^{•+} (b) scavenging activities of the RSC pectins extracted by different methods at various concentrations. Vitamin C and BHA were used as positive controls

مایکروویو، درجه استریفیکاسیون کاهش و محتوای کل اسید گالاکترونیک نیز افزایش داشت. به طور کلی، تمام پکتین های استخراج شده در این مطالعه دارای DE کمتر از ۵۰ بودند. بنابراین، آنها به عنوان LMP می توانند در فرمولاسیون های پایدار بسیاری از غذاهای رژیمی کم قند استفاده شوند. این تغییرات در ویژگی هایی مانند ویسکوزیته محلول پکتین تاثیر خود را نشان داد، به طوری که با اعمال تابش پرتو و نیز افزایش زمان این تابش منجر به تغییر رفتار از نیوتونی به شبه پلاستیکی شد که در اکثر محصولات غذایی مورد هدف استفاده از پکتین مناسب تر است. EA و ES نگهداری، SA_{DPPH} و SA_{ABTS} در دماها و زمان های مختلف در تولید امولسیون های غذایی نیز ثابت شد زیرا امولسیون های O/W نتایج مناسبی را ارائه دادند.

۴- نتیجه گیری کلی

در این تحقیق از فناوری های استخراج به روش آنزیمی (EH) و پیش تیمار کمکی توسط مایکروویو (MAE) (۶۰۰ وات، در سه زمان ۱، ۳ و ۵ دقیقه) برای استخراج پکتین از کنجاله کلزا استفاده شد. زمان تابش ۵ دقیقه و توان مایکروویو ۶۰۰ وات، استراتژی موفق برای استخراج پکتین با وزن مولکولی بالا و با بالاترین مقادیر بود. بر اساس یافته های این پژوهش، بیشترین راندمان و بازدهی استخراج پکتین از پودر کنجاله کلزا برابر با ۹/۱٪ بود که نسبت به استخراج آنزیمی افزایش یافته بود. افزایش این راندمان به عنوان یک عامل کمی، در کنار افزایش عوامل کیفی نشان از بهبود استخراج پکتین از منبع مورد نظر داشت. عملکرد این نوع پکتین DE و TGA نشان داد که با افزایش زمان تابش پرتو

ه-منابع

- [1] Gharibzahedi, S.M.T., B. Smith, and Y. Guo, *Pectin extraction from common fig skin by different methods: The physicochemical, rheological, functional, and structural evaluations*. International Journal of Biological Macromolecules, 2019. **136**: p. 275-283.
- [2] Gharibzahedi, S.M.T., B. Smith, and Y. Guo, *Ultrasound-microwave assisted extraction of pectin from fig (Ficus carica L.) skin: Optimization, characterization and bioactivity*. Carbohydrate polymers, 2019. **222**: p. 114992.
- [3] Jeong, H.-S., et al., *Effects of combination processes on the extraction of pectins from rapeseed cake (Brassica napus L.)*. Food chemistry, 2013. **139**(1-4): p. 9-15.
- [4] Inngjerdengen, K.T., et al., *Immunological and structural properties of a pectic polymer from Glinus oppositifolius*. Glycobiology, 2007. **17**(12): p. 1299-1310.
- [5] Joudaki, H., et al., *A practical optimization on salt/high-methoxyl pectin interaction to design a stable formulation for Doogh*. Carbohydrate polymers, 2013. **97**(2): p. 376-383.
- [6] Joudaki, H., et al., *Scrutinizing the different pectin types on stability of an Iranian traditional drink "Doogh"*. International journal of biological macromolecules, 2013. **60**: p. 375-382.
- [7] Madziva, H., K. Kailasapathy, and M. Phillips, *Alginate-pectin microcapsules as a potential for folic acid delivery in foods*. Journal of Microencapsulation, 2005. **22**(4): p. 343-351.
- [8] Chandel, V., et al., *Current advancements in pectin: Extraction, properties and multifunctional applications*. Foods, 2022. **11**(17): p. 2683.
- [9] Mobahi, N., *The effect of the presence of Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium and Streptococcus thermophilus on physicochemical, colorimetric and rheological properties of probiotic dark chocolate*. Journal of food science and technology (Iran), 2022. **18**(119): p. ۱۳۱-۱۵.
- [10] Mobahi, N., *Study of survival of probiotic strains of Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium and Streptococcus thermophilus and their effect on sensory properties of probiotic dark chocolate during storage at room temperature and refrigerated for 180 days*. Journal of food science and technology (Iran), 2022. **18**(121): p. 185-201.
- [11] McVetty, P., et al., *Grain production and consumption: Oilseeds in North America*. 2016.
- [12] Jeong, H.-S., et al., *Optimization of enzymatic hydrolysis conditions for extraction of pectin from rapeseed cake (Brassica napus L.) using commercial enzymes*. Food chemistry, 2014. **157**: p. 332-338.
- [13] Kaushik, P., et al., *Preparation, characterization and functional properties of flax seed protein isolate*. Food chemistry, 2016. **197**: p. 212-220.
- [14] Forouhar, A., et al., *The effect of ultrasound pretreatment on pectin extraction from watermelon rind using microwave-assisted extraction*. Applied Sciences, 2023. **13**(9): p. 5558.
- [15] Brown, W. and M. Marques, *14 The United States Pharmacopeia/National Formulary, in Generic drug product development: solid oral dosage forms*. 2013, CRC Press Boca Raton p. p. 319.
- [16] Blumenkrantz, N. and G. Asboe-Hansen, *New method for quantitative determination of uronic acids*. Analytical biochemistry, 1973. **54**(2): p. 484-489.
- [17] Xu, M., et al., *Polysaccharides from sunflower stalk pith: Chemical, structural and functional characterization*. Food Hydrocolloids, 2020. **100**: p. 105082.
- [18] Rostami, H. and S.M.T. Gharibzahedi, *Microwave-assisted extraction of jujube polysaccharide: optimization, purification and functional characterization*. Carbohydrate polymers, 2016. **143**: p. 100-107.
- [19] Yamaguchi, T., et al., *HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1- α ,diphenyl-2-picrylhydrazyl*. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 1998. **62**(6): p. 1201-1204.
- [20] Thambiraj, S.R., et al., *Antioxidant activities and characterisation of polysaccharides isolated from the seeds of Lupinus angustifolius*. Industrial Crops and Products, 2015. **74**: p. 950-956.
- [21] Kratchanova, M., E. Pavlova, and I. Panchev, *The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin*. Carbohydrate polymers, 2004. **56**(2): p. 181-185.
- [22] Jiang, L.N., et al., *Comparisons of microwave-assisted and conventional heating extraction of pectin from seed watermelon peel*. Advanced Materials Research, 2012. **550**: p. 1801-1806.
- [23] Wai, W.W., A.F. Alkarkhi, and A.M. Easa, *Effect of extraction conditions on yield and degree of esterification of durian rind pectin: An experimental design*. Food and Bioproducts Processing, 2010. **88**(2-3): p. 209-214.
- [24] Sundar Raj, A., et al., *A Review on Pectin: Chemistry due to General Properties of Pectin and its Pharmaceutical Uses*. 1: 550 doi: 10.4172/scientificreports. 550 Page 2 of 4 Volume 1• Issue 12• 2012 in a chain-like configuration; this corresponds to average molecular weights from about 50,000 to 150,000 daltons. Large differences may exist between samples and between molecules within a sample and estimates may differ between methods of measurement, 2012.

- [25] Fraeye, I., et al., *Influence of intrinsic and extrinsic factors on rheology of pectin-calcium gels*. Food Hydrocolloids, 2009. **23**(8): p. 2069-2077.
- [26] Lara-Espinoza, C., et al., *Pectin and pectin-based composite materials: Beyond food texture*. Molecules, 2018. **23**(4): p. 942.
- [27] Iglesias, M.T. and J.E. Lozano, *Extraction and characterization of sunflower pectin*. Journal of food engineering, 2004. **62** : (۳) p. 215-223.
- [28] Willats, W.G., J.P. Knox, and J.D. Mikkelsen, *Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel*. Trends in food science & technology, 2006. **17**(3): p. 97-104.
- [29] Garna, H., et al., *New method for a two-step hydrolysis and chromatographic analysis of pectin neutral sugar chains*. Journal of agricultural and food chemistry, 2004. **52**(15): p. 4652-4659.
- [30] Liew, S.Q., et al., *Sequential ultrasound-microwave assisted acid extraction (UMAE) of pectin from pomelo peels*. International journal of biological macromolecules, 2016. **93**: p. 426-435.
- [31] Mitura, S., A. Sionkowska, and A. Jaiswal, *Biopolymers for hydrogels in cosmetics*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2020. **31**: p. 1-14.
- [32] Schmidt, U., et al., *Effect of molecular weight reduction, acetylation and esterification on the emulsification properties of citrus pectin*. Food biophysics, 2015. **10**: p. 217-227.
- [33] Sánchez, C.C. and J.M.R. Patino, *Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution*. Food hydrocolloids, 2005. **19**(3): p. 407-416.
- [34] McClements, D.J., *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. 2004: CRC press.
- [35] Jun, H.-I., et al., *Characterization of the pectic polysaccharides from pumpkin peel*. LWT-Food Science and Technology, 2006. **39**(5): p. 554-561.
- [36] Chen, Y., et al., *Pectin from Abelmoschus esculentus: Optimization of extraction and rheological properties*. International journal of biological macromolecules, 2014 :۷۰ .p. 498-505.
- [37] Gharibzahedi, S.M.T. and S. Mohammadnabi, *Effect of novel bioactive edible coatings based on jujube gum and nettle oil-loaded nanoemulsions on the shelf-life of Beluga sturgeon fillets*. International journal of biological macromolecules, 2017. **95**: p. 769-777.
- [38] Gharibzahedi, S.M.T., S.H. Razavi, and S.M. Mousavi, *Comparison of antioxidant and free radical scavenging activities of biocolorant synthesized by Dietzia natronolimnaea HS-1 cells grown in batch, fed-batch and continuous cultures*. Industrial crops and products, 2013. **49**: p. 10-16.
- [39] Mzoughi, Z., et al., *Optimized extraction of pectin-like polysaccharide from Suaeda fruticosa leaves: Characterization, antioxidant, anti-inflammatory and analgesic activities*. Carbohydrate polymers, 2018. **185**: p. 127-137.



Scientific Research

Investigating the characteristics of pectin extracted from rapeseed meal in enzymatic hydrolysis method using Microwave-Assisted Extraction

Nima Mobahi*, Seyed Seyed Hadi Razavi, Zahra Emam-Djomeh

- 1- Nima Mobahi, (Ph.D.) student in Food science and technology, Bioprocess Engineering Laboratory (BPEL), Department of Food Science, Technology and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, 31587-11167 Karaj, Iran.
- 2- Seyed Seyed Hadi Razavi, Ph.D., Professor, Bioprocess Engineering Laboratory (BPEL), Department of Food Science, Technology and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, 31587-11167 Karaj, Iran.
- 3- Zahra Emam-Djomeh, Ph.D., Professor, Bioprocess Engineering Laboratory (BPEL), Department of Food Science, Technology and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, 31587-11167 Karaj, Iran.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received:2024/6/12

Accepted:2024/11/10

Keywords:

Rapeseed meal,

Pectin,

Enzymatic Hydrolysis (EH),

microwave-assisted extraction (MAE),

Extraction yield,

Emulsifying activity

DOI: 10.22034/FSCT.22.159.251.

*Corresponding Author E-

n.mobahi@ut.ac.ir

Pectin as a hydrocolloid located in the cell wall of plants can be a secondary product in food industry processing. Canola after de-oiling has high amounts of pectin. To extract pectin from rapeseed meal, the comparison method of enzymatic hydrolysis extraction was used with and without the presence of microwaves (with power of 600 W at four times zero, 1, 3, and 5 minutes). The effect of microwave irradiation time on extraction performance and physicochemical and mechanical characteristics of extracted pectin was investigated. Physical, mechanical, and chemical characteristics showed that the presence of the microwave process improved the functional properties of the extracted pectin and facilitated the extraction process ($p < 0.5$). The highest yield of pectin extraction was 9.1% (W/W) in 5 minutes of radiation with 600 W power in the microwave-assisted process with 600 W power. This auxiliary process affected the degree of esterification and galacturonic acid content of pectin so that it can form a gel in the presence of low sugar amounts and is suitable in diet products. The content of galacturonic acid in all samples was higher than 60%, which indicates a high gel formation capacity. Pectin extracted during 5 minutes of microwave irradiation with 600 W power presented the best characteristics with the maximum content of galacturonic acid (76.51%), the highest emulsifying activity (58.01%), and emulsion stability (95.03%). The presence of the microwave-assisted process reduced the surface tension values of the pectin aqueous solution (43.11% in 5 minutes of irradiation) and affected and improved the foaming capacity of pectin (the highest value in 5 minutes of irradiation was 84.13%). Irradiation during microwave time caused significant changes in pectin properties, such as intrinsic viscosity, mean viscosity, and water holding capacity, to form a higher-quality gel.