استخلاص وتحوير البكتين من قشور الرمان ودراسة صفاته الكيميائية والفيزيائية والتشخيص بالأشعة تحت الحمراء

أم البشر حميد جابر الموسوي روضة محمود علي العلي شيرين فاضل عباس الفريح

الملخص

تم استخلاص البكتين من قشور الرمان باستعمال اوكزالات الامونيوم 1% بدرجة حرارة 90مْ لمدة 90 دقيقة ثم أجريت عملية التحوير للبكتين المستخلص باستعمال حامض الهيدروكلوريك 3.5 و4.5 عياري والتحوير بهيدروكسيد الامونيوم 1 و2 عياري، ودرست الصفات الكيميائية والفيزيائية للبكتين المحور وغير المحور، أظهرت الدراسة أن البكتين المحور بحامض الهيدروكلوريك 4.5 عياري أعطى نتائجاً أفضل مقارنة بالبكتين المحور بحامض الهيدروكلوريك 3.5 عياري. كما أظهرت النتائج خلو العينة من الامونيا وذات نسب رطوبة ورماد منخفضة بلغت 2.3 و0.16% على التوالي، وبلغت قلوية الرماد 24.2 وذات وزن مكافئ 450 غم/مكافئ. بينما كان محتوى الميثوكسيل ودرجة الاسترة 3.5 و38% على التوالي، وقيمة القوة الاختزالية 2.80 مكافئ/غم. اما محتوى حامض الكالاكتورونيك فبلغ 50.6%، في حين كانت الصفات الفيزيائية المتمثلة باللزوجة النسبية 1.1237 والوزن الجزيئي 120315 دالتون وزمن عقد 11 دقيقة. اما عند تحوير بكتين قشور الرمان بهيدروكسيد الامونيوم 1 و2 عياري، فقد كانت الافضلية بإستعمال 2 عياري هيدروكسيد الامونيوم، بينت العينات احتواءها على الامونيا وارتفاع نسب الرطوبة والرماد وبلغت 2.3 و1.22% على التوالي، مقارنة بالتحوير بحامض الهيدروكلوريك 4.5 عياري وذات قلوية 24.8 ووزن مكافئ منخفض بلغ 380غم/مكافئ ومحتوى ميثوكسيل ودرجة أسترة منخفضتين بلغ 2.0 و30%. اما القوة الاختزالية فقد ازدادت قليلاً الى 2.70 مكافئ/غم،ونسبة حامض الكالاكتورونيك بلغت 41.4% في حين كان الوزن الجزيئي 100641 دالتون والزوجة النسبية 1.0978. تم إجراء الفحص المجهري للمستحضرات البكتينية وأظهرت الأشكال تقارباً فيما بينها من حيث حجم الجزيئات البكتينية، شخصت العينات بالأشعة تحت الحمراء لمعرفة المجاميع الفعالة العائدة للمركب، وأظهرت نماذج البكتين المستخلص والمحور بيانات مختلفة للأشعة تحت الحمراء، ودرس تأثير إضافة أيونات الكالسيوم في تكوين الهلام وكانت أكثر العينات تأثيراً في الايونات هي البكتين المحور بحامض الهيدروكلوريك 4.5عياري والبكتين المحور بهيدروكسيدالامونيوم 2 عياري، اذ أظهرت أفضل زمن عقد وهو15 دقيقة عند إضافة 24.3 ملغم ايونات كالسيوم.

المقدمة

تعد الصناعات الغذائية مجالاً واسعاً وحيوياً في إنتاج الأغذية المصنعة نتيجة لزيادة عدد السكان وتحضر المجتمعات، إذ ازداد الإقبال على استغلال وإنتاج الأغذية المصنعة والمدعمة ببعض المواد الأولية المستخرجة من مخلفات بعض الفواكه والخضراوات والحد من استيراد هذه المواد من الخارج لتحقيق الاكتفاء الذاتي والمحافظة على نظافة البيئة وحمايتها من التلوث وإنتاج سلع غذائية مهمة بتكلفة بسيطة (22). تستغل معظم الدول المتقدمة زراعياً وصناعياً المخلفات الزراعية والصناعية في إنتاج مواد ذات قيمة عالية، وقد استعملت مخلفات مصانع العصير مثل قشور الحمضيات ومخلفات التفاح وتمتاز هذه المخلفات بمحتواها من المواد البكتينية تصل الى مايقارب 15-25% في قشور الحمضيات و 15-30% لثمار التفاح. توجد المواد البكتينية في النبات متحدة مع سكريات عديدة مثل

جزء من رسالة ماجستير للباحث الثالث.
كلية الزراعة- جامعة البصرة- البصرة، العراق.

الهيميسليلوز والسيليلوز ويوجد البكتين في النبات بشكل بكتات الكالسيوم ذات الوزن الجزيئى المرتفع(2) والبكتين مكون غذائي واسع الانتشار ذو قيمة عالية بوصفه عاملاً مهماً ومثبتاً يوجد في جدران خلايا النباتات جميعها الموجودة في الطبيعة، ولقد عرفت خواص البكتين الأساس منذ ما يقارب من 200 سنة. وان أول من فصُّل ووصف البكتين هو العالم BraconnotHenri عام 1825 من الكلمة الإغريقية pektiko (πηχοΤσ)، وتعني تجمد أو تصلب، كذلك بُين أن البكتين له أهمية وظيفية في النباتات كافة، يعد البكتين من المواد المهمة اقتصادياً في الصناعات الغذائية لانه عاملاً مهماً واسع الاستعمال في إنتاج المربيات والجلي وعصائر الفاكهة ومنتجات الحلويات وفي صناعة بعض المعجنات (17). وتستعمل قشور الرمان في انتاج بكتين واطئ الميثوكسيل لمحتواها العالي من البكتين تبلغ نسبته تقريباً 13.8%، وتم استعماله في عملية التحوير لانه عالي الميثوكسيل (18). وتم التحوير باستعمال حامض الهيروكلوريك 3.5 و4.5 عياري والتحوير بهدروكسيد الامونيوم 1 و2 عياري، ودرست صفاته الكيميائية والفيزيائية ولا يتوقف استعماله على الكمية المناسبة منه فحسب بل يعتمد على خواص البكتين المستعملة ومدى جودته، يبلـغ الإنتـاج العالمـي من البكتين ما يقارب من مليون طن سنوياً ويزداد هذا المعدل بنسبة 4–7% سنوياً، إذا تنتج الولايات المتحدة الأمريكية وحدها ما يزيد عن 100 ألف طن سنوياً. وان تقريباً من 80–90% من هذا الإنتاج يوجه إلى الصناعات الغذائية لاستعماله مادةً مثخنةً للقوام Thickening، ومن أكثر الدول المنتجة للبكتين هي البرازيل والمكسيك والولايات المتحدة الامريكية، وتعـد مصر من الدول الأولى في إنتاج البكتين من الحمضيات، إذ يأتي 20–35% من البكتين مـن مخلفـات الحمضيات، وانتشرت صناعة البكتين في الولايات المتحدة والبرازيل وسويسرا بشكل مسحوق جـاف وذلك لسهولة حفظه وخزنه لأوقات طويلة (3).

نظراً لقلة الدراسات المحلية بصدد إنتاج البكتين من المخلفات النباتية المتوفرة فقد هدفت هذه الدراسة الى استغلال هذه المخلفات الرخيصة لإنتاج البكتين باستعمال طرائق استخلاص مختلفة وإمكان تحويره ودراسة صفاته الفيزيائية والكيميائية وان الغرض من التحوير هوللحصول على بكتين واطئ الميثوكسيل أي تقليل نسبة السكر أثناء عمليات التصنيع.

المواد وطرائق البحث

جمع وتحضير العينات

جمعت قشور الرمان ثم قطعت إلى قطع صغيرة وجففت بعد نشرها على صفائح من الألمنيوم بدرجة حرارة 50م لمدة من 24–72 ساعة حسب طبيعة العينة وبلغ نسبة الحاصل على أساس الوزن الجاف 20.6%، ثم طحنت وحفظت في عبوات بلاستيكية في درجة حرارة المختبر.

الاستخلاص بأوكزالات الامونيوم

اجري الاستخلاص حسب الطريقة التي ذكرها Sabir وجماعته (19) بأخذ 5غم من مسحوق قشور الرمان واضيف إليها 120 مل من محلول اوكزالات الامونيوم 1% مع التحريك باستعمال محرك مغناطيسي في درجة حرارة 90م لمدة 90 دقيقة، ثم رشح بقماش الململ ورسب بعدها البكتين باستعمال كحول الاثيل 99% بنسبة حجم: حجم لمدة 60 دقيقة في الثلاجة ثم رشح وجفف في 50مْ وبلغ وزن الحاصل تقريباً 2.3غم، وان الغرض من طحن البكتين هو للحصول على ملمس ناعم وحفظ في عبوات بلاستيكية ودرست صفاته الفيزيائية والكيميائية.

تحوير البكتين:

اجري تحوير البكتين بطريقتين:

التحوير بحامض الهيدروكلوريك 3.5 و4.5 عياري

اتبعت الطريقة التي ذكرها Kim وجماعته (13)

التحوير بحامض الهيدروكلوريك 3.5 عياري

أذيب 5 غم من البكتين الجاف في 44 مل من محلول الايزوبروبانول 65% و 4 مل حامض الهيدروكلوريك المركز في دورق زجاجي على محرك مغناطيسي لمدة 30 دقيقة في حرارة المختبر من 23–27مْ، بعدها رشح الخليط بورق ترشيح رقم -Whatman-1، ثم غسل الراسب مرات عدة بمحلول الايزوبروبانول 60% للتخلص من الكلور في العينة (من خلال فحص نترات الفضة) بعدها وضعت العجينة المتبقية في دورق زجاجي في الثلاجة لمدة ليلة كاملة لتبريدها. أضيف بعدها 40 مل من خليط محلول ايزوبروبانول 60% وحامض الهيدروكلوريك 3.5 عياري المبرد مسبقاً لليلة كاملة في الثلاجة. وضعت على محرك مغناطيسي لمدة 4 أيام في الثلاجة. استخرجت محتويات الورق ورشحت بورق ترشيح رقم 1، ثم غسلت مرات عدة بمحلول ايزوبروبانول 60 % للتخلص من بقايا الكلور في العينة، بعدها غسلت بمحلول الايزوبروبانول 95%، ثم بالاسيتون المركز ورشحت وجففت في 50مْ لمدة ليلة كاملة ثم طحنت وحفظت في عبوات.

التحوير بحامض الهيدروكلوريك 4.5 عياري

اتبعت الخطوات نفسها عدا تغيير عيارية حامض الهيدروكلوريك الى 4.5 عياري.

التحوير بهيدروكسيد الامونيوم 1 و2 عياري :

اتبعت الطريقة التي وصفها Kim وجماعته (13).

التحوير بهيدروكسيدالامونيوم 1 عياري

مزج 7 غم من البكتين مع 61.6 مل من محلول الايزوبروبانول 65% و5.6 مل حامض الهيدروكلوريك المركز وضعت المكونات في دورق على محرك ومغناطيسي لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة المختبر23–27م. بعدها رشحت بورق ترشيح رقم 1 ثم غسلت باستخدام 20 مل محلول الايزوبروبانول 60% مرات عدة للتخلص من الكلور الموجود في العينة. وضعت بعدها العجينة في الثلاجة ليلة كاملة لتبريدها، ثم أضيف 40 مل من خليط محلول ايزوبروبانول60% وهيدروكسيد الامونيوم 1عياري المحضر والمبرد مسبقاً. وضعت المحتويات في دورق زجاجي على محرك مغناطيسي لمدة 4 أيام في الثلاجة، بعدها رشحت وغسلت بمحلول ايزوبروبانول 60% للتخلص من الكلور في العينة تلاها غسل بمحلول الايزوبروبانول 95% ثم بالأسيتون، بعدها رشحت وجففت في 50مْ لمدة ليلة كاملة ثم حفظت في عبوات بلاستيكية لحين الاستعمال.

التحوير بهيدروكسيد الامونيوم 2عياري

اتبعت الخطوات نفسها المذكورة انفاً عدا استبدال هيدروكسيدالامونيوم 1 عياري بـ2 عياري.

الصفات الكيميائية للبكتين

النسبة المئوية للرطوبة والرماد: تم تقديرهما حسب الطريقة المذكورة في A.O.A.C (5)

قلوية الرماد : اتبعت الطريقة التي ذكرها كلا من دلالي والحكيم (1) ثم حسبت قلوية الرماد من المعادلة الآتية:

$$\text{قلوية الرماد\%} = \frac{\text{حجم حامض الهيدروكلوريك} - \text{حجم هيدروكسيد الصوديوم} \times 0.00691}{\text{وزن الرماد (غم)}}$$

الكشف عن الامونيا: اجري الكشف حسب الطريقة التي اشار لها **Owens** وجماعته (**15**) وذلك بإضافة **1**مل من هيدروكسيد الصوديوم **0.1** عياري إلى **0.1** غم من البكتين المحور في جفنة، سخنت محتوياتها على النار وبردت بسرعة إلى درجة حرارة المختبر**23–27**م وتم الكشف عن وجود الامونيا باستعمال أوراق زهرة الشمس.

تقدير الوزن المكافئ ومحتوى الميثوكسيل

اتبعت الطريقة المذكورة في **Iglesias** و **Lozano** (**10**) .

تقدير درجة الأسترة: أجريت حسب الطريقة المذكورة في **Pinheiro** وجماعته (**16**)

تقدير نسبة حامض الكالاكتورونيك بطريقة تفاعل الكربازول: اتبعت الطريقة التي ذكرها **Furntani** و**Osajima** (**9**).

تقدير القوة الاختزالية (رقم سيانيد الحديديك): قدرت القوة الاختزالية لمحاليل البكتين بطريقة التسحيح مع سيانيد الحديديك حسب الطريقة المذكورة في **Schoch** (**21**).

الصفات الفيزيائية للبكتين

تقدير اللزوجة: قدرت حسب الطريقة المذكورة في **Yoo** وجماعته (**24**).

الوزن الجزيئي: قدرت حسب الطريقة المذكورة في **Shewfelt** وجماعته (**20**).

زمن العقد: اتبعت الطريقة المذكورة في **McCready** (**14**) بوزن **0.5**غم من كل من البكتين وحامض الستريك **0.5** و**32.5** غم من السكر و**39.5** مل ماء مقطر وتم حساب زمن العقد من لحظة سكب المواد في وعاء التعبئة ولحين تهلمه بدرجة حرارة **106**م بواسطة ساعة توقيت.

الفحص المجهري: اجري حسب الطريقة المذكورة في **Egan** وجماعته (**8**).

التشخيص بمطياف الأشعة تحت الحمراء:

سجلت قيم اطياف الاشعة تحت الحمراء المستخلص لنماذج البكتين واستخدمت اقراص بروميد البوتاسيوم **potassium bromide** (**KBr**) وتم القياس على الاطوال الموجية مابين **3519.85–1024.13** نانومتر باستخدام جهاز **FT-IR Fourier Transform Infra Red** موديل **84005** العائد إلى قسم الكيمياء/كلية العلوم/جامعة البصرة

تأثير ايونات الكالسيوم في تكوين الهلام:

اتبعت طريقة **Lopes** و **Asieng** (**12**) بوزن **1**غم حامض الستريك و**1** غم بكتين و**8** غم سكر و**39** مل ماء مقطر وبتراكيز مختلفة من ايونات كلوريدالكالسيوم **8.1** و**16.2** و**24.3** ملغم. وضعت المكونات جميعها في دورق زجاجي ثم سخنت على محرك مغناطيسي لحين التهلم عند درجة حرارة **106**م أو لحين الوصول إلى نسبة المواد الصلبة **65**%، ثم تم قياسها.

الكشف عن مجموعة الأمين :اجري الكشف حسب الطريقة التي ذكرها **Anonymous** (**4**)، إذ أضيف **2** مل من حامض الهيدروكلوريك المركز إلى دورق يحتوى على **10**مل محلول بكتين تركيز **1**% و**50**مل ايثانول **60**%، أضيف بعدها قطرات من هيدروكسيد الصوديوم **0.1** عياري ثم أغلقت فوهة الدورق بسدادة، وضعت في حمام مائي بدرجة حرارة **75**م لمدة **20** دقيقة ثم بردت واستدل على وجود مجموعة الأمين من تغيير لون المحاليل.

النتائج والمناقشة

تعد تقنية التحوير من التقانات الحديثة والمهمة والمستعملة في تحويل البكتين العالي الاستر إلى بكتين واطئ الاستر لبكتين قشور الرمان ذات درجة أسترة عالية، وقد بلغت نسبة الحاصل لبكتين قشور الرمان 27.7% عند الاستخلاص بأوكزالات الامونيوم بدرجة حرارة 90م لمدة 90 دقيقة ثم درست الصفات الكيميائية والفيزيائية للبكتين غير المحور والبكتين المحور بحامض الهيدروكلوريك 3.5و4.5 عياري ،إذ أظهرت نتائج الاختبارات خلو البكتين بنوعيه المحور وغير المحور من الامونيا بينما انخفضت نسب الرطوبة والرماد للبكتين المحور بالحامض الهيدروكلوريك 3.5 و4.5 عياري عن البكتين غير المحور وذلك يعود الى عملية الغسل المتكرر التي ادت الى ازالة المعادن من الراسب، في حين بلغت قلوية الرماد بحدود 24.2 في حين بلغ الوزن المكافئ في البكتين المحور من 445 ،450 غم/مكافئ وهما أعلى من الوزن المكافئ للبكتين قبل عملية التحوير البالغة 335 غم/مكافئ، أدى التركيز العالي من الحامض إلى إزالة مجاميع الميثوكسيل المرتبطة بوحدات حامض الكالاكتورونيك عند ذرة 6C ليصبح حامض البكتيك فكلما كان تركيز الحامض عالياً كان الوزن المكافئ أعلى، وهذا يمكن ملاحظته في البكتين المحور باستخدام 4.5 عياري حامض الهيدروكلوريك. أما كل من النسبة المئوية للميثوكسيل ودرجة الاسترة اللذين يرتبطان معاً بعلاقة طردية فقد انخفضا إلى 3.8 و42% في البكتين المحور باستخدام 3.5 عياري حامض الهيدروكلوريك على التوالي، بينما انخفضت أكثر إلى 3.5 و 38% في البكتين المحور باستخدام 4.5 عياري حامض الهيدروكلوريك على التوالي ،وهذا اقل بكثير مما في البكتين غير المحور 6.7 و 60% على التوالي، وهذا يتفق مع ما حصل عليه Constenla و Lozano (6)، إذ لاحظا أن محتوى الميثوكسيل ينخفض مع مرور الوقت أثناء عملية تحوير بكتين التفاح بواسطة حامض النتريك، بلغت القوة الاختزالية للبكتين المحور باستخدام 4.5 عياري حامض الهيدروكلوريك وهي أعلى من البكتين المحور 3.5 عياري حامض الهيدروكلوريك.

جدول 1: الصفات الكيميائية والفيزيائية للبكتين غير المحور والبكتين المحور بحامض الهيدروكلوريك 3.5 و4.5 عياري

الاختبار	المعاملة		
	بكتين الرمان غير المحور 90مْ–90 دقيقة	بكتين رمان محور بحامض الهيدروكلوريك 3.5 عياري	بكتين رمان محور بحامض الهيدروكلوريك 4.5 عياري
اختبار الامونيا	لا توجد آمونيا	لا توجد آمونيا	لا توجد آمونيا
نسبة الرطوبة%	3.5	3.3	2.3
نسبة الرماد%	6.8	0.21	0.16
قلوية الرماد	24.2	24.1	24.2
الوزن المكافئ (غم/مكافئ)	335	445	450
محتوى الميثوكسيل %	6.7	3.8	3.5
درجة الاسترة %	60	42	38
القوة الاختزالية (مكافئ/غم)	2.50	2.76	2.80
نسبة حامض AGA%	67.9	40	50.6
اللزوجة النسبية	1.1965	1.1021	1.1237
الوزن الجزيئي(دالتون)	166824	107330	120315

أما النسبة المئوية لحامض الكالاكتورونيك اللامائي Anhydrous Galacturonic acid (AGA) فقد وصلت في كل من البكتين المحور 3.5 و4.5 عياري حامض الهيدروكلوريك إلى 40 و50.6 %على التوالي، بينما كانت قبل عملية التحوير 67.9% وهذا يتفق مع ما ذكره Constenla و Lozano (6). انه في بداية

التفاعل يزداد محتوى حامض الكالاكتورونيك حتى يصل إلى قيمة ثابتة ثم يبدأ بالانخفاض مع زيادة وقت التفاعل، وهذا يتزامن مع تحلل المواد غير البكتينية **Constenla** و **Lozano** (**6**) وهذا ينعكس على قيمة كل من اللزوجة النسبية والوزن الجزيئي البالغة **1.1021** و**107330** دالتون على التوالي للبكتين المحور **3.5** عياري حامض الهيدروكلوريك. أما البكتين المحور **4.5** عياري حامض الهيدروكلوريك فبلغت القيمة **1.1237** و**120315** دالتون على التوالي. لوحظ أن تحوير البكتين بدرجة حرارة واطئة وبتراكيز عالية من الحامض ينتج عنه فقداناً قليلاً في الوزن الجزيئي، وان الوزن الجزيئي ينخفض مع تقدم عملية إزالة مجاميع الاستر وان المعاملة **4.5** عياري حامض الهيدروكلوريك يعطي انخفاضاً بسيطاً في الوزن الجزيئي عند درجة استرة تقريباً **40**% وهذا الانخفاض في الوزن الجزيئي له اهمية كبيرة ، لا يعزى فقط إلى إزالة مجاميع الاستر وانما في الحقيقة إلى تكسر الأواصر الكلايكوسيدية (**6،13**).

الصفات الكيميائية والفيزيائية غير المحورة والبكتين المحور بهيدروكسيدالامونيوم 1و2 عياري:

عند إجراء التحوير باستخدام هيدروكسيد الامونيوم **1** و**2** عياري بينت النتائج كما لوحظت في الجدول (**2**) أن البكتين المحور بهيدروكسيد الامونيوم يحتوي على الامونيا من خلال تغيير لون ورقة زهرة الشمس لكلا العياريين واستدل على وجود مجموعة الامايد **amide group** عند تغيير لون محلول البكتين من الاحمر الى الاخضر وازداد شدة اللون في البكتين المحور بهيدروكسيد الامونيوم **2** عياري مقارنة بهيدروكسيد الامونيوم **1** عياري، بلغت نسبتا الرطوبة والرماد **2.7** و**1.8**% في البكتين المحور بهيدروكسيد الامونيوم **1**عياري في حين كانتا في البكتين المحور بهيدروكسيد الامونيوم **2** عياري **2.3** و**1.22**% على التوالي. بينما كانت قلوية الرماد في كل من البكتين المحور بهيدروكسيد الامونيوم **1**و **2**، **24.4** و**24.8**% على التوالي. أما الوزن المكافئ فقد بلغ **400** و**380** غم/مكافئ لكل من البكتين المحور **1** و**2** عياري هيدروكسيد الامونيوم على التوالي، وهذه أعلى من البكتين قبل اجراء عملية التحوير البالغ **335** غم/مكافئ ولكنها اقل من الوزن المكافئ للبكتين المحور بحامض الهيدروكلوريك لكلا العياريين ويمكن الاستنتاج أن البكتين المحور بهيدروكسيد الامونيوم يحتوي في سلاسله على مجاميع امايد ومجاميع ميثوكسيل فضلاً عن مجاميع كاربوكسيل تابعة لوحدات حامض الكالاكتورونيك.

جدول **2** : الصفات الكيميائية والفيزيائية للبكتين غير المحور والبكتين المحور بهيدروكسيدالامونيوم **1**و**2** عياري

الاختبار	المعاملة		
	بكتين الرمان غير المحور **90**مْ– **90** دقيقة	بكتين رمان محور بهيدروكسيد الامونيوم **1** عياري	بكتين رمان محور بهيدروكسيد الامونيوم **2** عياري
اختبار الامونيا	لا توجد امونيا	توجد امونيا	توجد امونيا
نسبة الرطوبة%	**3.5**	**2.7**	**2.3**
نسبة الرماد%	**6.8**	**1.8**	**1.22**
قلوية الرماد	**24.2**	**24.4**	**24.8**
الوزن المكافئ (غم/مكافئ)	**335**	**400**	**380**
محتوى الميثوكسيل %	**6.7**	**2.6**	**2.0**
درجة الاسترة %	**60**	**26**	**30**
القوة الاختزالية (مكافئ/غم)	**2.50**	**2.63**	**2.70**
نسبة حامض **AGA**%	**67.9**	**38.3**	**41.4**
اللزوجة النسبية	**1.1965**	**1.0801**	**1.0978**
الوزن الجزيئي دالتون	**166824**	**103330**	**100641**

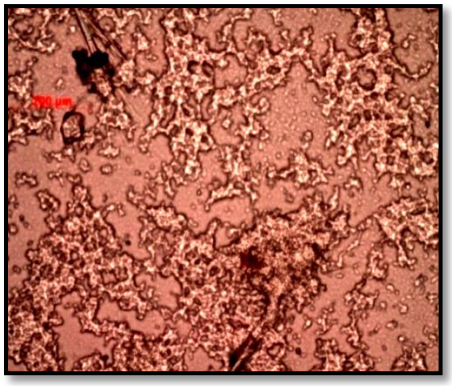
بلغت النسبة المئوية لمحتوى الميثوكسيل تقريباً 2.6 و2.0% ودرجة الاسترة تقريباً 26 و30% لكل من البكتين المحور بهيدروكسيد الامونيوم 1 و2 عياري على التوالي، وهذا اقل مما في البكتين غير المحور، والمحور بحامض الهيدروكلوريك لكلا العياريين. ومن خلال الجدول (2) يمكن ملاحظة زيادة القوة الاختزالية للبكتين المحور بهيدروكسيد الامونيوم 1 و2 عياري تقريباً 2.63 و2.70 مكافئ/غم على التوالي، وهذا ناتج عن زيادة تكسر السلاسل البكتينية أثناء عملية التحوير. أما نسبة حامض الكالاكتورونيك فقد انخفضت إلى 38.3 و41.4% في كل من البكتين المحور بهيدروكسيد الامونيوم 1 و2 عياري على التوالي عما كانت عليه قبل عملية التحوير البالغة 67.9%، في حين بلغت اللزوجة النسبية 1.0801 و1.0978، والوزن الجزيئي 103330 و100641 دالتون لكل من البكتين المحور بهيدروكسيد الامونيوم 1 و2 عياري، ويعزى هذا الانخفاض إلى انخفاض النسبة المئوية لحامض الكالاكتورونيك في البكتين المحور، وجاءت النتائج متفقة مع ما حصل عليه Kim وجماعته (13) عند تحوير بكتين الحمضيات العالي الاستر إلى الواطئ الاستر باستعمال هيدروكسيد الامونيوم.

الفحص المجهري

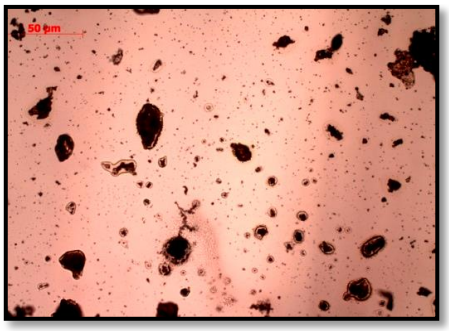
أظهرت أشكال البكتين في الشكل (1) تبايناً في أشكالها كلٍّ حسب طبيعة العينة المستعملة، فقد كانت عينة بكتين قشور الرمان ذات أشكال متعرجة وغير منتظمة ومتوسطة الحجم، أما البكتينات المحورة بالحامض فكانت ذات أشكال دائرية صغيرة ومتعرجة ومحببة قليلاً، بينما اظهر البكتين المحور بهيدروكسيد الامونيوم أشكالاً اصغر في الحجم واقل خشونة وتحبباً. جاءت النتائج متفقة مع ما حصل عليه Lin وجماعته (11).

التشخيص بمطياف الأشعة تحت الحمراء FTIR

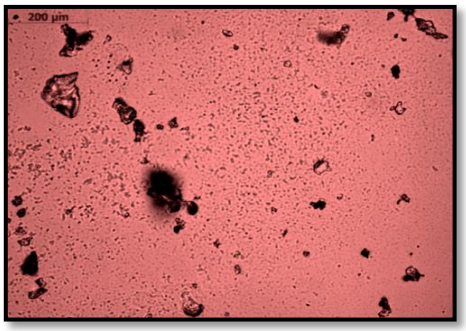
تم تشخيص بعض المستحضرات البكتينية قيد الدراسة باستعمال جهاز FTIR لتشخيص المجاميع الفعالة الموجودة في البكتين كما موضحة في الأشكال والجدول (3)، اذ تبين حزم الاشعة تحت الحمراء لكل من قشور الرمان 90مْ–90 دقيقة بلغا بكتين الرمان المحـور بالحامض 3.5 و4.5 عياري والرمان المحور بالامونيا 1 و 2 عياري، إذ اعطت حزم عريضة عند التردد 3699.1 – 3005.2 سم$^{-1}$ تعزى إلى وجود الماء (OH str. vibranu). أما الحزمة عند 2973.3–2051.5 سم$^{-1}$ التي تعود إلى التذبذب الاتساعي C-H الاليفاتية (لمجاميع CH_3، وCH_2)، في حين أن الحزمة عند 1798.1–1700.1 سم$^{-1}$ تعود للتذبذب الاتساعي لمجموعة الكاربوكسيل الاستر $C\text{-}OCH_3$. أما عينات البكتين المحور بالحامض 3.5 و4.5 عياري فقد لوحظ ظهور تغيير هو حصول حزمة عريضة عند 1641 سم$^{-1}$ الناتجة عن التحلل المائي لمجاميع الأستر في جزء من جزيئة البكتين تعزى إلى C-OH (التذبذب الاتساعي للكاربونيل في شق الكاربوكسيل). التحوير بالامونيا ظهور حزم جديدة وهي مجموعة الامايد amide عند التردد1629.7 سم$^{-1}$أو ربما تكون متداخلة مع حزمة O-H الانحنائية bending، في حين تعود الحزمتان 1404 و1325 سم$^{-1}$ للتذبذب الانحنائي لمجموعة CH_2 أما الحزمة عند التردد 1105.1–1024.1سم$^{-1}$ تعود للتذبذب الاتساعي C-O-C يمكن الاستنتاج من طيف الأشعة تحت الحمراء أن البكتين هو عبارة عن مجاميع مختلفة من الاليفاتية واستر ومجاميع كاربونيل متعددة الهيدروكسيل وامين (7).



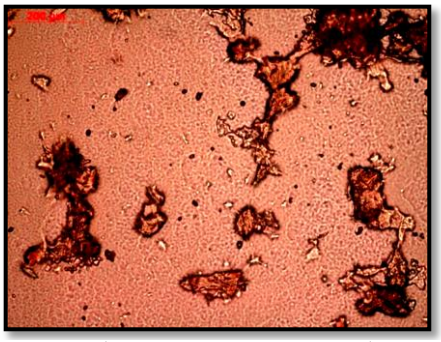
بكتين الرمان غير المحور

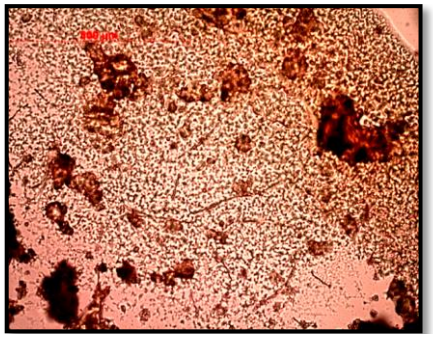


بكتين رمان محور بحامض الهيدروكلوريك 3.5 عياري



بكتين رمان محور بحامض الهيدروكلوريك 4.5 عياري





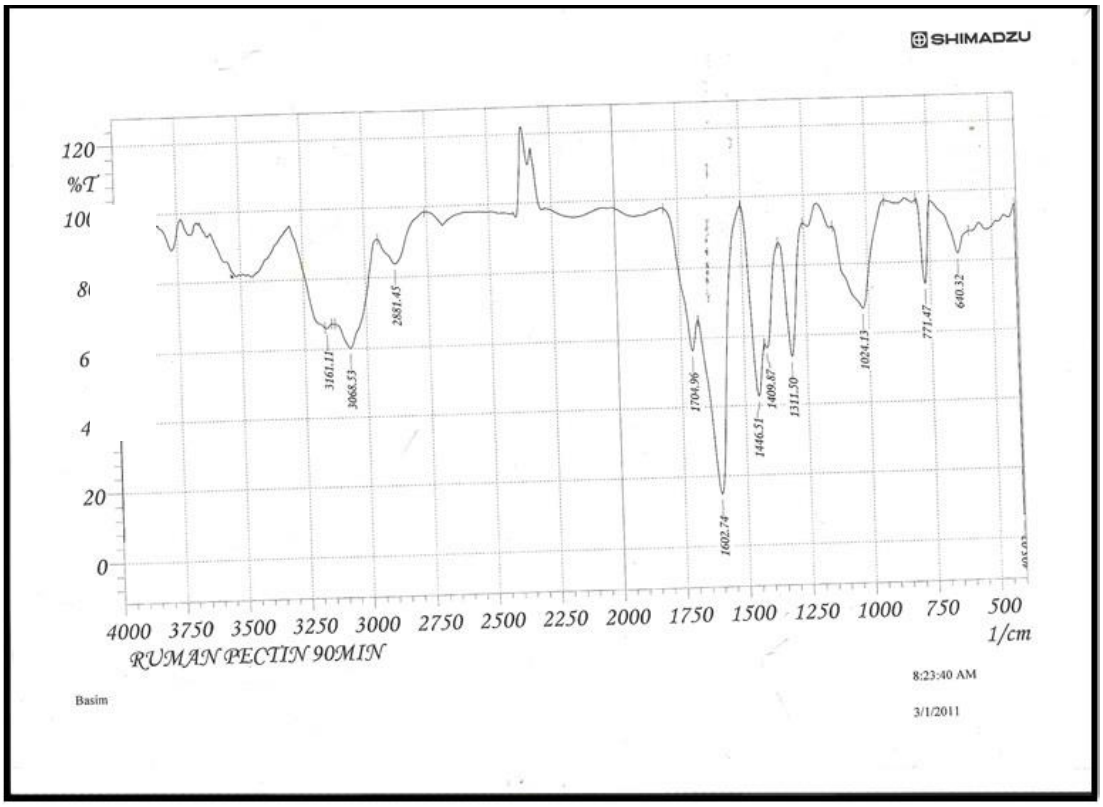
شكل 1: الفحص المجهري لبكتين الرمان المحور وغير المحور بحامض الهيروكلوريك وهيدروكسيد الامونيوم

جدول 3: بيانات الأشعة تحت الحمراء للنماذج المفصولة بأقراص بروميد البوتاسيوم (KBr disk) سم$^{-1}$

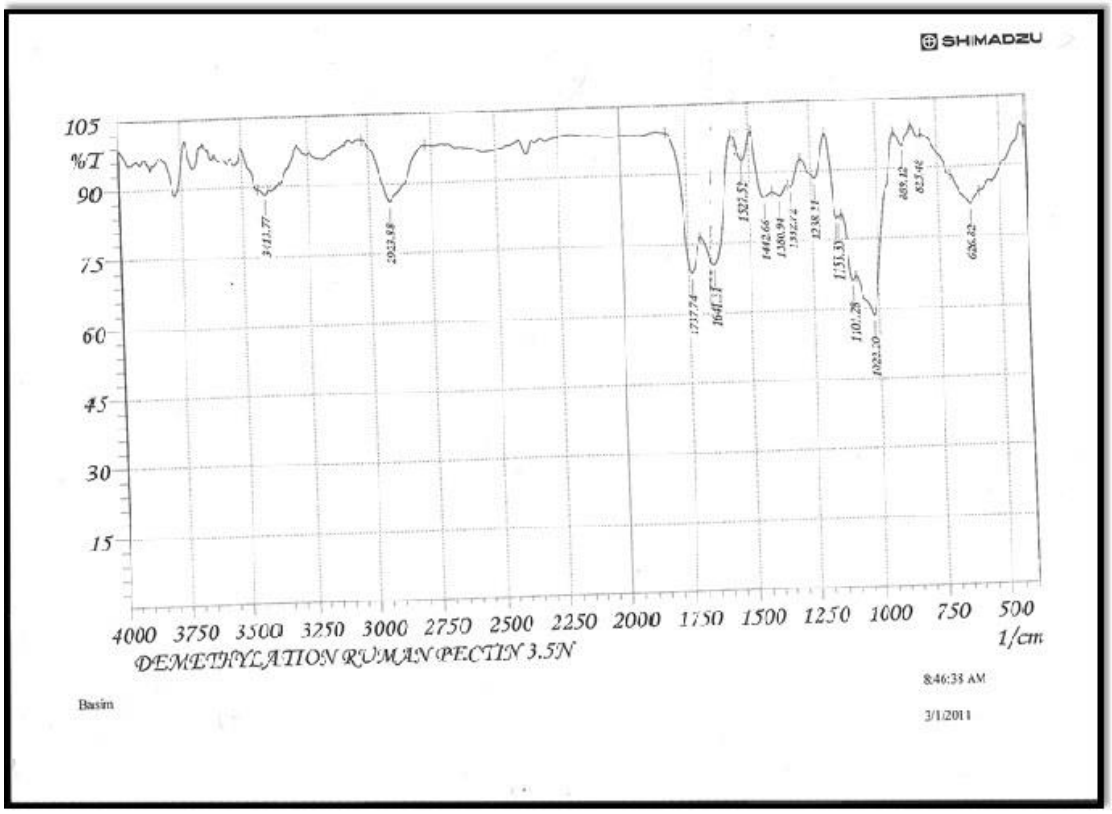
المجاميع الكيميائية العينات	$C-NH_I$	الاهتزاز الاتساعي للمجاميع الفعالة				
		CH_2-OH	CH-OH	C = O	C – H	OH
بكتين رمان غير محور	----	1024.1	1311.50	−1704.96 1602.74	2881.45	−3161.11 3068.53
بكتين رمان محور بحامض الهيدروكلوريك 3.5 عياري	----	1153.35 1022.20	1332.7	−1737.74 1641.31	2923.88	3413.77
بكتين رمان محور بحامض الهيدروكلوريك 4.5 N	----	1024.13	1365.51	1737.74	2923.88	−3415.70 3357.84
بكتين رمان محور بهيدروكسيد الامونيوم 1 عياري بدرجة	−1664.3	----	1325.01	1731.7 1623.93	2927.74	−3519.85 3436.91
بكتين رمان محور بهيدروكسيد الامونيوم 2 عياري	1629.7 1523.6	1105.14	1325.01	1737.7	2925.81	3434.98

تأثير إضافة ايونات الكالسيوم

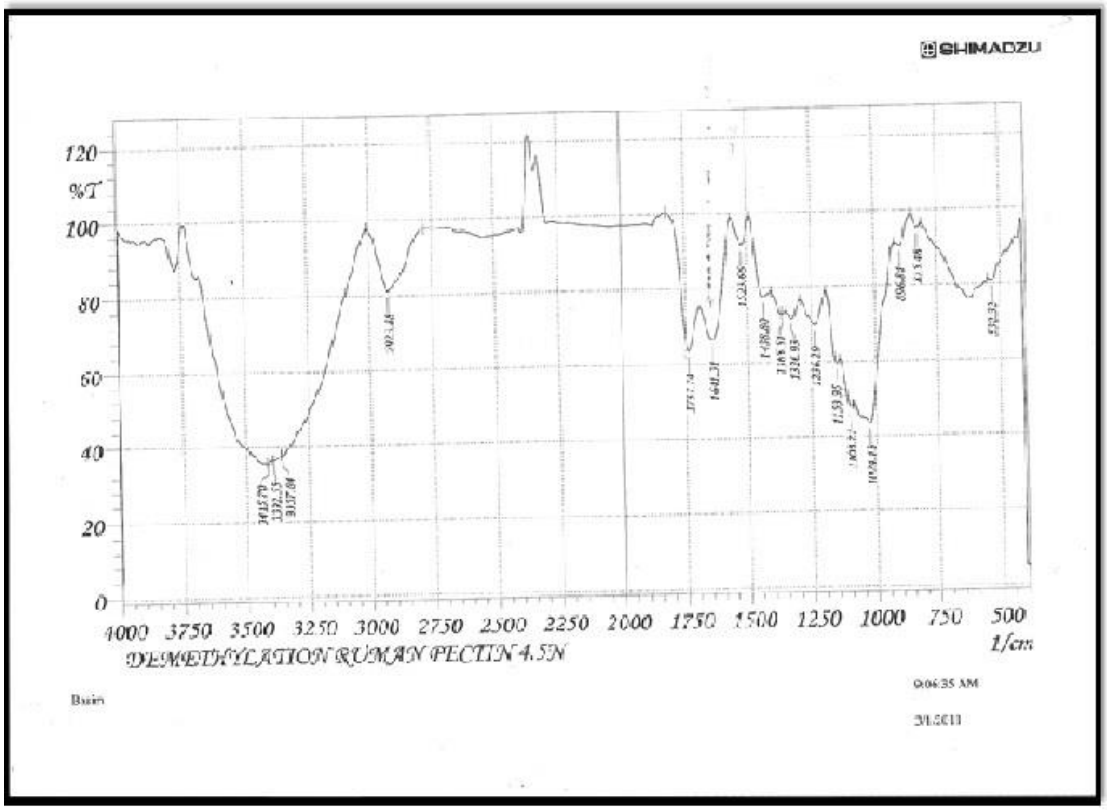
أظهرت نتائج إضافة ايونات كلوريدالكالسيوم لبعض البكتينات المحضرة قيد الدراسة انه يمكن تكوين الشبكة الهلامية لبكتين قشور الرمان دون الحاجة لايونات الكالسيوم بسبب محتواه العالي من الميثوكسيل بوجود تراكيز عالية من السكر.أما عند استعمال بكتين الرمان المحور بالحامض 3.5 عياري وهيدروكسيد الامونيوم 2 عياري لتكوين الشبكة الهلامية بمساعدة ايونات الكالسيوم، عند استعمال 8.1 ملغم ايونات فقد ظهرت شبكة هلامية ولكنها كانت غير متماسكة وهشة وضعيفة بعد مرور 30 دقيقة، بينما عند إضافة 24.3 ملغم ايونات كالسيوم فقد تكونت الشبكة الهلامية قوية متماسكة عند الضغط عليها بالإبهام بزمن عقد 10 دقائق للبكتين المحور بحامض الهيدروكلوريك 4.5 عياري. أما عند استعمال بكتين رمان محور بهيدروكسيد الامونيوم 2 عياري لتكوين الشبكة الهلامية فكانت أفضل عند إضافة 16.3 ملغم ايونات الكالسيوم بزمن عقد 15 دقيقة وهذا الوقت يوازي الوقت الذي تكونت فيه الشبكة الهلامية في بكتين البرتقال التجاري.



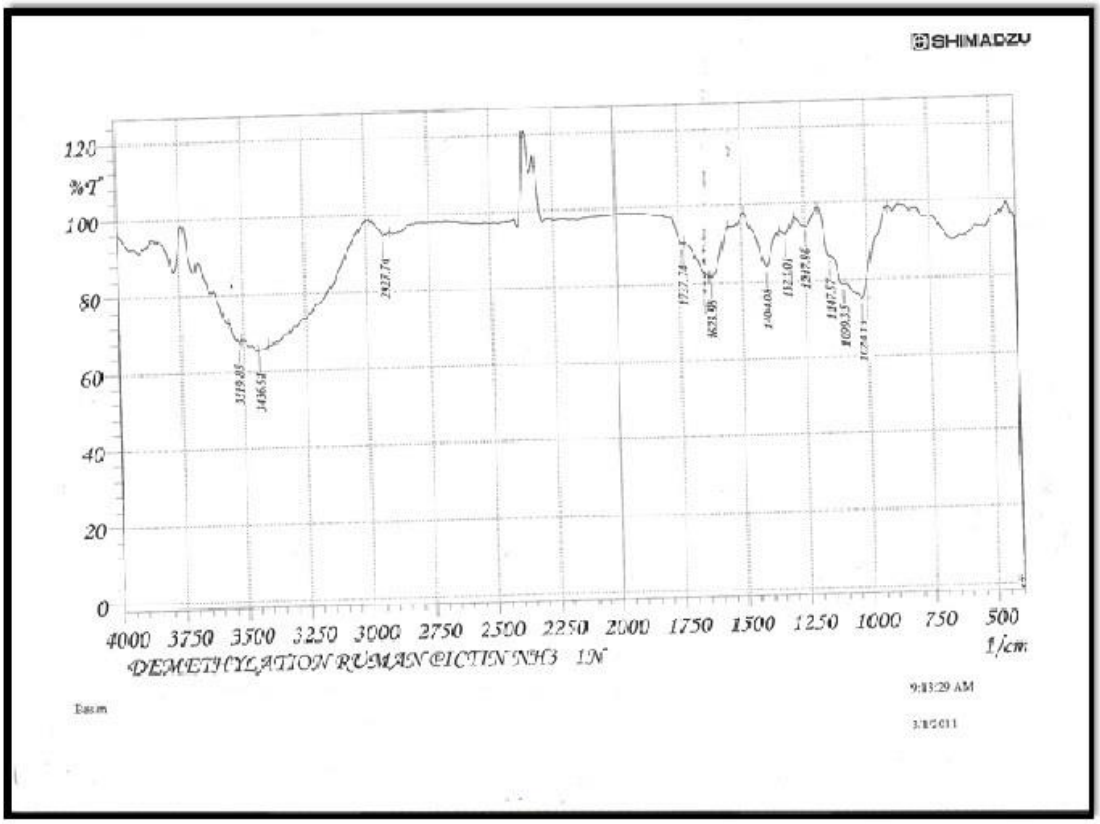
شكل 2 : طيف الأشعة تحت الحمراء لبكتين قشور الرمان غير محور.



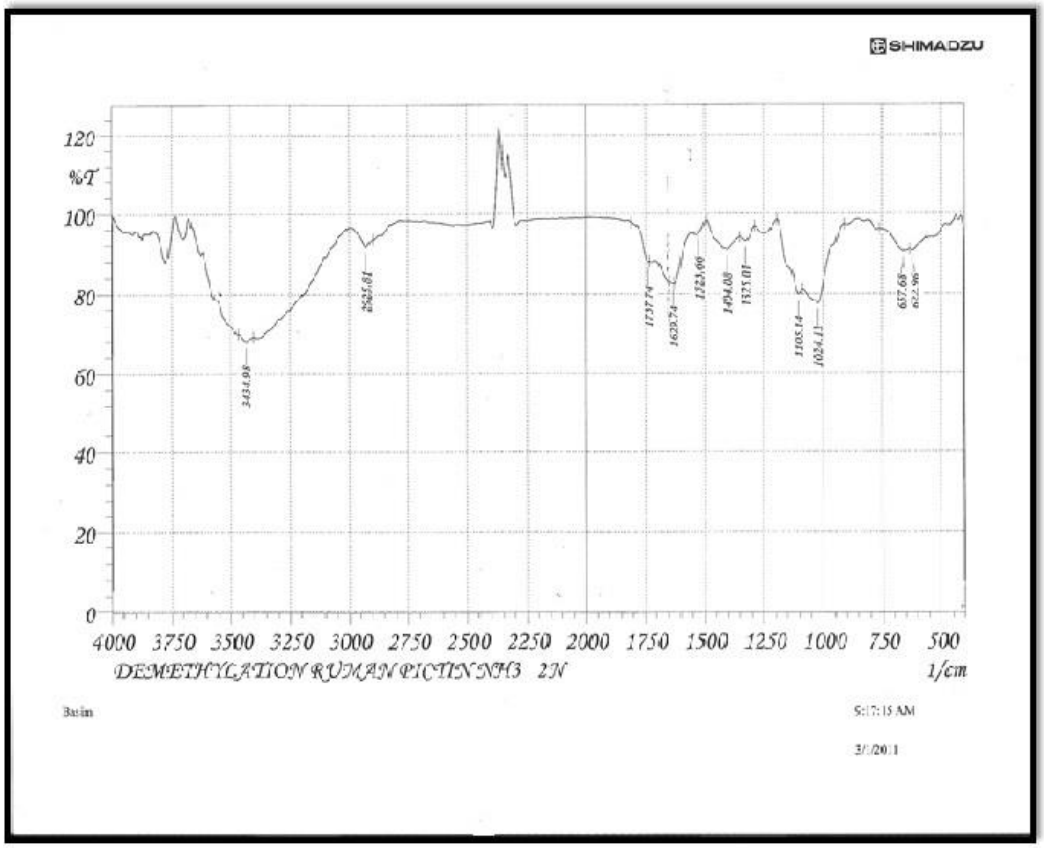
شكل 3: طيف الأشعة تحت الحمراء لبكتين قشورالرمان المحور بحامض الهيدروكلوريك **3.5** عياري.



شكل 4 : طيف الأشعة تحت الحمراء لبكتين قشور الرمان المحور بحامض الهيدروكلوريك **4.5** عياري.



شكل 5 : طيف الأشعة تحت الحمراء لبكتين قشور الرمان المحور بهيدروكسيد الامونيوم 1عياري.



شكل 6: طيف الأشعة تحت الحمراء لبكتين قشور الرمان المحور بهيدروكسيد الامونيوم 2عياري.

جدول 4 : تأثير اضافة ايونات الكالسيوم في زمن عقد البكتين للشبكة البكتينية (الهلامية)

تراكيز ايونات الكالسيوم (ملغم)			
	8.1	16.3	24.3
العينات / الوقت			
بكتين رمان محور بحامض الهيدروكلوريك 4.5 عياري	30	25	10
بكتين رمان محور بهيدروكسيد الامونيوم 2 عياري	30	15	25

المصادر

1- دلالي، باسل كامل، صادق حسن الحكيم (1987).تحليل الأغذية، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة الموصل-العراق، ص: 543-576.

2- العكيدي، حسن خالد حسن؛ جوزيف انطوان ابوسعيد، (2000). الأسس العلمية والتحاليل المختبرية للمياه والأغذية. دار زهران للنشر، عمان، دائرة المكتبة الوطنية، الأردن، ص 184-193.

3- الهيئة العامة للتنمية والصناعة(2005).الخريطة الاستثمارية للمواد المضافة للأغذية 2- البكتين وإنتاجه والمشروعات المقترحة. الإدارة العامة للصناعة والتجارة، مصر، ص: 78.

4- Anonymous (2008). Pectin, food grade. Specification. Draft Indian Standard. Doc FAD (1887). C.

5- A.O.A.C. (1984). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods, Washington, D.C of Analysis,14th Ed USA.P 567.

6- Constenla, D. and J. E. Lozano (2003). Kinetic model of pectin demethylation.Laith. Amer. Appl. Res., 33: 91-96.

7- Copikova, J.; A. Synytsya; M . Cerna;J. Kaasova and M.Novatana (2001). Application of FTIR.Spectrosecopy in detection of food hydrocollids in confectionery jellies and food supplements. vczech. Journal Food Science, 19 :51-56.

8- Egan, H; R.S. Kirk, and R. Sawyer (1988). Parsons chemical analysis of Food 8th ed. Longman Science and Technology , U591p.

9- Furntani, S. and A. Osajima (1965). Colorimetenc estimation of pectin.Kyush Duigaku Nogakubu Gakugci Zasshi, 22:35-44.

10- Iglesias, M. T. and J.E. Lozano (2004).Extraction and characterization of sunflower pectin. Journal of Food Engeenring, 62: 215-223.

11- Lin, L.;T. Jin; V.Finkenstadt ; C.K.Liu ;P. Cook ; P.Coffin; K.Hick and C. Samer (2009). Antimicrobial packaging materials from poly (Lactic acid) Incorporated with pectin nisaplin macro particles. Chemical Technology, 3:221-230.

12- Lopez, A. and L. Li. Asieng (1968). Low Methoxyl pectin apple gels. Journal Food Technology, 22: 1023-1028.

13- Kim. W. J.;C. J. Smit and V.N. Rao (1978). Demethylation of pectin using acid and ammonia. Journal Food Science, 43:74-78.

14- McCready, R. M. (1970). Pectin: In M. A. Joslyn (Ed). Methods in Food Analysis, Physical Chemical and Instrumental Methods of Analysis,New York Academic Press.

15- Owens, H. S.; R.M. McCready , A.D. Shepard ; S.H. Schutt; E.L.pippen, H.A. Swenson ; J.C.miers , R.F.Erlandson and W.D.Maclay(1952). Methods used at western regional research laboratory for extraction of pectin material. USDA Bur. Agric. Ind. Chem. P.9., California for extraction and analysis of pectin materials. Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products: 21-54.

16- Pinheiro, E. R ;I.M.D.A. Silva ; L.V.Gonzaga ; E.R.Amant ; R.F.Teofilo , M.M.C.Ferreira and R.D.M.Camboni (2008).Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflar*edulis flavicarpa) with citric acid by using response surface .Methodology Biotechnology, 99:5561-5566.

17- Ramli, N. and A. Smawati (2011). Effect of ammonium oxalate and acetic several extraction time and pH on some physic chemical properties of pectin from cocoa husks (*Theobroma cacao*). African Journal Food Science, 5. :790-79.

18- Reddy, M. K.; S.K. Gupta; S. R. Jacob; S. I. Khan and D. C. Feireira (2007). Antioxidant ant malarial and antimictobial activity of tannin-Rich fractions ellagitannis and phenolic acid from(*punica granatum*). Journal Planta Medica , 9:605-612.

19- Sabir, M. A, F.W. Sosulki and S. J. Camphell (1976). Polymetaphosphates and oxalate extraction of sunflower pectin. J. Food Chemistry,24: 346-350.

20- Shewfelt, A. L.; V. A. Paynte and J. J. Jen (1971). Textural changes and molecular characteristics of pectin constituents in ripening peaches. Journal Food Science,36:573-575.

21- Schoch, T. J. (1961). Determination of reducing power ferri cyanide number method in carbohydrate chemistry, IV, Starch. Academic Press.

22- Sriamornsak, P. (2003). Chemistry of pectin and its pharmaceutical: A review silpakom. University International Journal of Pharmaceutics,3:206-228.

23- Yoo, S. H.; M. L. Fishman; A. T. Hotchkiss and H. G. Lee (2006).Viscometric behaviour of high-methoxyl and low-methoxy pectin solution. Food Hydrocolloids, 20: 62-67.

EXTRACTION AND MODIFICATION OF POMEGRANATE PEEL PECTIN AND STUDYING ITS CHEMICAL AND PHYSICAL PROPERTIES AND ITS CHARACTERIZATION BY FTIR

A. H. J. Al-Mosswi R. M. Ali S. F. A. Al-Freh

ABSTRACT

This study concenered of extract pectin from some fruit and vegetable and its waste such as Modification of pomegranates peel pectin highesterification by 3.5 and 4.5 N of hydrochloric acid and used ammonium hydroxide 1,2 N and study the chemical and physical properties of pectin.

The results showed that the best modification was in use of hydrochloric acid 4.5N compared to 3.5N through the properties of pectin to peel the pomegranate as shown free from ammonia and the percentage of moisture and ash 2.3 and 0.16%, respectively and total alkaline ash 24.2% and with a equivalent weight 450g/equivalent. Methoxeyl content and the degree of esterification of about 3.5% and 38%respectively, followed by the values of the force reduction 2.80equivalent/g. The content of thegalacturonic acid reached 50.6%, relative viscosity molecular weight 1.1237 and 120315 Dalton, respectively, and the setting time 11 min.

While at the modification ammonium hydroxide 1 and 2 N for the pectin peel pomegranate showed better adaptation using a phase standard ammonium hydroxide showed samples containing ammonia and high rates of moisture and ash 2.7 and 1.22%, respectively compared hydrochloric 4.5 N and with an alkaline 24.8 and weight of equivalent low 380g/equivalent, and content methoxeyl and the degree of esterification low 2.0 and either 26% power increase reductive 2.70equivalent/g The proportion of galacturonic acid while 41.4% showed the molecular weight andrelative viscosity100641 Dalton 1.0978. The microscopic examination of pectin showed a convergence of forms between them in terms of the size of pectin particle. Samples diagnosed infrared active groups the sample studied. The effect of addition of calcium ions to form gels was also studied the samples effect with calcium ion hydrochloric acid and pectin 4.5N ammonium hydroxide 2N where the best start for 24.3 mg calcium ions and low time 15min of the contract.

Part of M.Sc. thesis for the first author.
College of Agric.- Basrah Univ. - Basrah , Iraq.