Damascus University Journal for the Basic Sciences
Vo 40 No. 4 (2024): 103 - 118

مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية
مجلد40 – عدد 4 (2024): 103 -118

الكتلة الحيوية لقشور الحمضيات مصدراً للعديد من المواد الفعالة وأهميتها التطبيقية

خالد رمضان[1]* سهيل نادر[2] لبنى مقراني[2]

[1*] طالب دكتوراه في قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق، دمشق، سورية.

[2] أستاذ مساعد في قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق، دمشق، سورية.

الملخص:

تتميز الحمضيات بأهمية كبيرة نظراً لمحتواها الكيميائي والغذائي المتنوع، إضافةً إلى بقاياها العضوية التي تزيد من قيمتها الاقتصادية لاسيما بوجود تطبيقات ممكنة لهذه البقايا. أجري في هذا البحث العديد من مراحل الاستخلاص التي تمت على قشور ستة أنواع من الحمضيات (البرتقال Citrus sinensis، النارنج C. aurantium، الليمون C. limonia، الغريفون C. paradise، البوملي C. maxima، الكرمنتينا C. tangerina)، استُخلص خلالها: الزيت الطيّار، والفينولات، والسكريات، والبروتينات، والزيت الثابت، والأصبغة القطبية واللاقطبية، وذلك من كتلة حيوية واحدة، ثم استعملت القشور الناتجة عن مراحل الاستخلاص في ثلاثة تطبيقات: استخلاص البكتين، استعمالها في عملية الامتزاز، واستعمالها مصدراً كربونياً لنمو الفطريات. أظهرت نتائج المشاهدات والتحليل الاحصائي عند مستوى معنوية 0.01 إمكانية تطبيق طريقة الاستخلاص المتتابع المقترحة مع اختلاف في المردود حسب النوع النباتي، فكان أعلى مردود معنوي للاستخلاص المائي المتتابع في النارنج (52.9%). كانت نسبة الزيت الطيار الأعلى معنوية في الكرمنتينا (1.41%)، وأعلى مردود معنوي للفينولات في الغريفون (89.6 مغ/غ خلاصة)، بينما تم الحصول على أعلى مردود معنوي للسكريات والأصبغة في البرتقال (620.8 مغ/غ خلاصة) و(65.5 ميكروغرام كاروتينوئيدات/غ خلاصة) على التوالي، وكان أعلى مردود معنوي للبروتينات تم الحصول عليه في النارنج (2.77 مغ/غ خلاصة)، وتفوقت الكرمنتينا معنوياً بأعلى نسبة زيت ثابت (1.97%)، أما مردود البكتين فتفوق البرتقال معنويا فيه بنسبة (5.6%). وأظهر مسحوق القشور فعالية في إزالة زرقة المتلين، ونمى ثلاثة أنواع من الفطريات ضمن الوسط المحتوي على القشور كمصدر وحيد للكربون. تؤكد النتائج إمكان استعمال كتلة حيوية واحدة من قشور الحمضيات لتطبيق مراحل الاستخلاص المتتابع للحصول على العديد من المركبات الفعالة ذات الأهمية الطبية والغذائية والصناعية.

الكلمات المفتاحية: الكتلة الحيوية، الحمضيات، قشور الثمار، المواد الحيوية، الاستخلاص.

تاريخ الإيداع: 2022/11/21
تاريخ الموافقة: 2023/1/23

حقوق النشر: جامعة دمشق – سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص **CC BY-NC-SA 04**

ISSN (online): 2789-6366
http://journal.damascusuniversity.edu.sy/index.php/index/index

Citrus peels biomass as a source of many bioactive materials and its applied importance

Khaled Ramadan[1] **Souhail Nader**[2] **Loubna Mokrani**[3]
[1] PhD Student, Botany Department, Faculty of Sciences, Damascus University, Damascus, Syria.
[2] Assistant Professor, Botany Department, Faculty of Sciences, Damascus University, Damascus, Syria.

Abstract:
Citrus are of big importance; due to their variable chemical and nutritional content. Furthermore, organic residues increase their economic value by obtaining the maximum benefit from these wastes. In this research, several extraction stages were conducted on peels of six Citrus species (Sweet Orange: *C. sinensis*, Bitter orange: *C. aurantium*, Limon: *C. limonia*, Grapefruit: *C. paradise*, Pomelo: *C. maxima*, Tangerine: *C. tangerina*) for extraction of the following compounds: volatile oil, phenols, carbohydrates, proteins, fixed oil, polar and nonpolar pigments which were extracted from the same biomass. Peels resulting after the extraction of the above mentioned compounds were also used in three applications: pectin extraction and use in adsorption process, as well as the possibility to benefit from as an exclusive carbon source for fungi growth. The results and statistical analysis (significance level 0.01) proved the efficiency of applying sequential extraction method with differences in yields accordance to Citrus species. Higher significant yield of water extract represented 52.9% in bitter orange, higher significant yield of volatile oil was about 1.41% in tangerine, higher significant percentage of phenols were obtained from grapefruit (89.6 mg/g extract), higher significant yield of carbohydrates and pigments were obtained from oragne (620.8 mg/g extract), (65.5 µg carotenoids/g extract) successively. However, higher significant yield of proteins (2.77 mg/g extract) in bitter orange, tangerine was higher fixed oil yield significantly 1.97%, finally pectin 5.6% higher significant yield in orange. On the other hand, peels powder showed a good effectiveness in removing methylene blue. Besides, three fungi species were able to grow in a medium containing peels as an exclusive source of carbon. These results revealed the different possible uses of the same citrus peels biomass through sequential extraction stages, which helped to obtain many active compounds with valuable medical, nutritional and industrial importance.

Key Words: Biomass, Citrus, Fruits Peels, Bio-Materials, Extraction.

Received :21/11/2022
Accepted:: 23/1/2023

Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under

A CC BY- NC-SA

المقدمة Introduction:

ينتمي جنس الحمضيات Citrus إلى الفصلية السذّابية Rutaceae، ويعود موطنها الأصلي إلى شرق آسيا، إذ غالباً ما تكون بشكل شُجيرات دائمة الخضرة. الثمرة عنبة، تتكون من ثلاث طبقات (الأولى Flavedo: الملونة، والثانية Albedo: بيضاء اسفنجية، والثالثة Pulp: اللب الذي يحتوي على الأكياس العصيرية والبذور). تُكوّن قشور الحمضيات نحو 45–60% من وزن الثمرة؛ مما يكسبها أهمية كنوع من المخلفات الزراعية (Dianxiang and Mabberley 2008; Putnik *et al*., 2017).

تعد الحمضيات أحد المحاصيل المهمة والوافرة في العالم، إذ بلغ الانتاج العالمي سنة 2021 نحو 147 مليون طن، وتتصدر الصين، والبرازيل، والولايات المتحدة الأمريكية الدول المنتجة لهذا المحصول (FAO 2021).

تتنوع طرائق الاستخلاص النباتي والمذيبات المستعملة بحسب طبيعة المادة المراد استخلاصها، والجزء النباتي المستعمل، وقد صُنفت مؤخراً إلى طرائق قديمة أو تقليدية، منها: النقع Maceration، والاستخلاص بالمذيبات الطيّارة على الساخن باستعمال جهاز Soxhlet، والتقطير المرتد Reflux extraction، وطرائق استخلاص حديثة، منها: الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية Ultrasound extraction، وبالأمواج القصيرة Microwaves extraction، وبالضغط Pressurised liquid extraction، وبالأنزيمات Enzyme-assisted extraction (Al-Ubeed *et al*., 2022).

يهدف تطوير طرائق الاستخلاص إلى تقليل زمن الاستخلاص، وتجنب استعمال درجات حرارة مرتفعة، وعدم استهلاك كميات كبيرة من المذيب، إضافة إلى الحصول على أفضل مردود كمي ونوعي من المواد المستخلصة، لذلك تهدف طريقة الاستخلاص المتتابع إلى استعمال عدد من طرائق الاستخلاص وبمذيبات مختلفة للاستفادة من كتلة نباتية واحدة (لاسيما من قشور الحمضيات) من أجل الحصول على أكبر قدر ممكن من المواد ذات التطبيقات الطبية والغذائية والصناعية.

من بين هذه المواد الزيوت الطيّارة، التي تعد من المستقلبات الثانوية، وتتكون من مجموعة من المركبات أهمها: Limonene، وMyrcene، وPinene، تتميز بفعالية حيوية مضادة للكائنات الحية الدقيقة والحشرات، إضافة إلى استعمالها في الصناعات الغذائية كمكسبات للون والطعم، وفي صناعة العطور ومستحضرات التجميل (Devrnja *et al*., 2022). الفينولات، وهي من أهم المستقلبات الثانوية في النبات، ولها هيكل عضوي مشترك مكون من حلقة عطرية (البنزن) إضافة إلى زمرة الهيدروكسيل OH، تمتاز بكونها من أهم المضادات لكلٍ من: التأكسد، والالتهابات، والسرطانات، والجراثيم والفطريات، وتمنع أمراض القلب الوعائية والسكري (Zhang *et al*., 2022). الأصبغة، وهي أيضاً من المستقلبات الثانوية ذات الأهمية الغذائية للإنسان إذ تستعمل كملونات طبيعية للأطعمة، وتمتاز الحمضيات بغناها بأصبغة أشباه الكاروتين Carotenoids (Ghosh *et al*., 2022). السكريات، وهي من المستقلبات الأولية للنبات، يستفاد منها في الصناعات الغذائية، إضافة إلى كونها مصدراً للطاقة اللازمة لعمل الخلايا في الإنسان (Campos *et al*., 2022). البروتينات، وهي من المستقلبات الأولية الضرورية للجسم من الناحيتين البنائية والوظيفية، تستعمل كمتممات غذائية ذات أهمية طبية، وإضافة إلى استعمالها صناعياً في تغليف المواد الغذائية، وكعامل استحلاب (Kumar *et al*., 2022).

إضافة إلى الأهمية السابقة لقشور الحمضيات يمكن استعمالها كعلف للحيوانات (Wedamulla *et al*., 2022)، وكعامل امتزاز لتنقية المياه (Dey *et al*., 2021)، ومصدراً للبكتين (Guntero and Ferretti 2022)، ومصدراً للكربون لنمو الأحياء الدقيقة والتي بدورها تنتج العديد من المركبات ذات الأهمية التطبيقية (Suri *et al*., 2022).

يعرف الامتزاز بأنه عملية يشكل فيها الغاز أو السائل طبقة سطحية على بنية صلبة (Crawford and Quinn 2017)، وللامتزاز تطبيقات عديدة منها: إزالة الملوثات مثل المعادن الثقيلة والمواد العضوية الصيدلانية والمخصبات الزراعية، إضافة إلى إزالة الأصبغة، والجراثيم، وغالباً ما يستعمل الكربون المنشط كسطح مازّ، ولكن تشير العديد من الدراسات إلى إمكان تطبيق المخلفات

النباتية (بشكل مسحوق) في هذه العملية (Rathi and Kumar 2021; Lupascu *et al*., 2022)، وهذا ما يزيد من الكفاءة الاقتصادية والبيئية.

الأهمية والأهداف Importance and Aims:

تكمن أهمية البحث لما تتميز به سورية من إنتاج عالي من الحمضيات بمختلف أنواعها ولصعوبة تصريفه في الوضع الراهن والعمل على إيجاد حلول بديلة للاستفادة من هذا المنتج الخام أو قيمة مضافة من المركبات الفعالة بما يخدم الواقع المحلي، إذ يعود الاهتمام بقشور الحمضيات عموماً لكونها مخلفات نباتية لا يتم عادةً الاستفادة منها غذائياً بشكل مباشر، إنما يتم العمل عليها والاستفادة منها في تطبيقات أُخرى صناعية وطبية وغذائية بتطبيق طرائق استخلاص متعددة وبمذيبات مختلفة، ولذلك يهدف البحث إلى استخلاص الزيت الطيّار، ثم استخلاص الفينولات والسكريات والأصبغة القطبية والبروتينات، ثم الزيت الثابت والأصبغة اللاقطبية، ثم الاستفادة من القشور كمصدر للبكتين، ومصدراً للكربون لنمو الأحياء الدقيقة إضافة إلى استعمال القشور في تنقية المياه من الأصبغة بالامتزاز.

مواد البحث وطرائقه Materials and Methods:

1- جمعت ثمار ستة أنواع من الحمضيات (البرتقال Citrus sinensis، النارنج C. aurantium، الليمون C. limonia، الغريفون C. paradise، البوملي C. maxima، الكرمنتينا C. tangerina) من المنطقة الساحلية في سورية بين محافظتي اللاذقية وطرطوس، تم تقشير الثمار والعمل على الطبقة الأولى (الملونة) والثانية (البيضاء)، قُطعت القشور إلى قطع صغيرة 1-2 cm^2، وجُفف قسم منها في حاضنة الهواء الساخن (JSGI-250DT –JSR) عند الدرجة 50 °C لمدة ثلاثة أيام حتى ثبات الوزن وذلك لحساب نسبة الرطوبة باستعمال المعادلة الآتية:

$$100\ X \frac{\text{الوزن الرطب} - \text{الوزن الجاف}}{\text{الوزن الرطب}}$$

2- استُخلص الزيت الطيّار بطريقة الجرف بالبخار باستعمال جهاز كلافنجر (بالغمر المائي)، وذلك بوضع 50 g من القشور الرطبة في حوجلة الجهاز إضافة إلى 500 ml ماء مقطر لمدة 4 ساعات (Clevenger 1928). حُفظ الزيت الطيّار المستخلص في درجة الحرارة 20°C- لحين استعماله، إذ حسبت الكثافة النوعية للزيت الطيّار بوزن 0.1 ml من الزيت باستعمال ميزان حساس (Sartorius ED224S). تمت تنقية ماء الاستخلاص (الموجود في الحوجلة السفلية مع العينة النباتية) من الشوائب بوساطة الترشيح والتثفيل 5300rpm لمدة 5 دقائق (BOECO Type 1610-13)، ثم تم تركيز الخلاصة وتجفيفها بالمبخر الدوار (RV 10 digital IKA)، حُفظ المستخلص الخام في البراد وذلك لحين الاستعمال لتحديد تركيز بعض المواد الحيوية.

3- إعادة مرحلة استخلاص الزيت الطيّار، ثم أخذت القشور الرطبة (المستعملة في مرحلة استخلاص الزيت الطيّار) ووضعت في زجاجيات لاستخلاص المواد القطبية بوساطة الماء بنسبة (3:1) قشور:ماء، وذلك بالنقع مع التحريك 150rpm ضمن حاضنة هزازة (JSOS-500 JSR) عند درجة حرارة 25 °C، مدة 48 ساعة، وتم تبديل الماء بعد 24 ساعة (Safdar *et al*., 2016). بعد انتهاء الاستخلاص؛ جمع الماء المستعمل خلال استخلاص الزيت الطيّار إضافة إلى الماء المستعمل خلال الاستخلاص بالنقع وتمت تنقيته وتجفيفه كما في المرحلة السابقة وذلك لحين الاستعمال لتحديد تركيز بعض المواد الحيوية.

4- جُففت القشور الناتجة عن مرحلة الاستخلاص السابقة (3: أي بعد مرحلة استخلاص الزيت الطيّار ومرحلة الاستخلاص بالنقع)، وطُحنت بوساطة مطحنة (IKA:A11B)، ووضعت ضمن جهاز سوكسلييه Soxhlet لاستخلاص الزيت الثابت والأصبغة، وذلك باستعمال مذيب *n*-Hexane النقي لمدة 6 ساعات عند درجة غليان المذيب (Zhang *et al*., 2022)، وتمت تنقية المستخلص وتجفيفه كما في المرحلة السابقة وذلك لحين الاستعمال.

4-1 حساب درجة الانصهار (الانسكاب): وذلك بتجميد الزيت الثابت، ثم وضعه ضمن وعاء ماء ثلجي مزود بمحرك مغناطيسي (لمجانسة حرارة الوعاء) وبمسبر الكتروني لقياس درجة الحرارة، رفعت درجة الحرارة ببطء وقيست عند تحول الزيت الثابت من حالة التجمد إلى الحالة السائلة (Ragunathan *et al*., 2022).

كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC: أجريت للزيت الثابت المحلول ضمن الهكسان بتركيز 0.1 mg/ml باستعمال صفائح TLC زجاجية (silica gel 60F254, 20 x 20 cm, thickness 0.25 mm, Mereck) ضمن حوض زجاجي (Camag, TTC 20 x 20 cm) بحسب طريقة (Marimuthu *et al.*, 2010)، استعمل الطور المتحرك إيتر بترولي : ثنائي إتيل الإيتر : حمض الخل (1:30:70)، وتم الكشف عن البقع بوساطة بخار اليود.

5- جُففت القشور الناتجة عن المرحلة السابقة (أي بعد مرحلة استخلاص الزيت الطيّار ومرحلة الاستخلاص بالنقع والاستخلاص بسوكسلييه)، وذلك لاستعمالها في تطبيقات عديدة:

5-1- استخلاص البكتين:

وضع 10g من القشور ضمن عبوة زجاجية وأضيف إليها 200 ml من محلول مائي لحمض الليمون (pH= 2.7، 1%)، وضعت العبوات ضمن حمام مائي (JSR JSWB-22T) عند الدرجة 80 °C لمدة 10 دقائق، تمت تنقية المستخلص بأوراق الترشيح وباستعمال المضخة (JSR JSBS-3000)، ثم تم تبريد المستخلص ووضع ضمن الثلاجة مدة 15 دقيقة، أُضيف 50 ml من الإيتانول المطلق للترسيب، تم التثفيل بسرعة 5300rpm مدة 10 دقائق، جُمع البكتين المتثفل وجُفف باستعمال المبخر الدوار (Pandharipande and Makode 2012).

5-2- استعمال القشور كمادة مازّة:

غُربلت القشور بمنخل ذي ثقوب بأبعاد 125µm باستعمال جهاز (CISA BA 200 N)، ثم وُضع 1g من البودرة ضمن عبوة زجاجية تحتوي 50 ml محلول مائي لصبغة زرقة المتلين بتركيز 100ppm، وضعت العبوات ضمن حاضنة هزازة بسرعة 150 rpm عند درجة الحرارة 25 °C، لمدة 3 ساعات، تم ترشيح ثم التثفيل بسرعة 5300 rpm مدة 5 دقائق، وقيست الامتصاصية عند طول الموجة 660nm باستعمال جهاز المطياف الضوئي (Sulyman and Glerak 2020).

5-3- استعمال القشور كمصدر كربوني لنمو الفطريات:

استعمل وسط Bushnell Hass لقياس قدرة الفطريات على الاستفادة من القشور كمصدر كربوني، إذ أضيف 1g من القشور إلى 100ml من وسط Bushnell Hass، وتمت تنمية الفطريات الآتية: Aspergillus carbonarius، وPenicillium citrinum، وTrichoderma harzianum (عزلات نقية من قسم علم الحياة النباتية – جامعة دمشق)، وذلك بوضعها ضمن الوسط وحضنها ضمن حاضنة هزازة عند درجة الحرارة 25 °C لمدة 7 أيام، وبعدها جرى التأكد من نمو الفطريات وإنتاجها كتلة حيوية، ثم التأكد من استمرارها في النمو لمدة أسبوع آخر (Novianty *et al*., 2021).

6-الاختبارات الكيميائية التي تمت على الخلاصات المائية (خلال استخلاص الزيت الطيّار لوحدها، وخلال استخلاص الزيت الطيّار إضافة إلى النقع):

أ- تحديد المحتوى الكلي للفينولات: بطريقة Folin–Ciocalteu، وقدرت النتائج بوساطة سلسلة معيارية من حمض الغاليك (Al Hafez *et al*., 2014).

ب- تحديد الفعالية المضادة للتأكسد: وذلك باختبار DPPH (Azaat *et al*., 2022).

ت- تحديد محتوى السكريات: بطريقة الفينول–حمض الكبريت، وقدرت النتائج بوساطة سلسلة معيارية من سكر الغلوكوز (Andriopoulos *et al*., 2022).

ث- تحديد محتوى البروتينات: بطريقة أزرق الكوماسي، وقدرت النتائج بوساطة سلسلة معيارية من الكازئين (Bradford 1976).

ج-تحديد محتوى الأصبغة: بوساطة جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer (Opitzen 2120UV Plus، من خلال المعادلات الخاصة بالمذيب الذي حُلت فيه الخلاصة عند القياس (Wellburn 1994).

7-الدراسة الإحصائية:

أجريت الدراسة الإحصائية باستعمال برنامج SPSS V.22 لحساب الفروق المعنوية ($sig < 0.01$)، بين متوسطات نسبة القشور والرطوبة فيها، مردود الاستخلاص لكل نوع من الحمضيات، وتم حساب الفروق المعنوية بين متوسطات مردود استخلاص الفينولات والسكريات والبروتينات والأصبغة والزيت الثابت والزيت الطيّار والبكتين، ونسبة إزالة زرقة المتلين؛ من خلال اختبار One Way Anova، وLSD عند مستوى معنوية 0.01.

النتائج والمناقشة Results and Discussion:

1-خصائص قشور الحمضيات والزيت الطيّار

أكدت النتائج الواردة في الجدول (1) أن قشور الحمضيات تشكل نسبة جيدة من الثمار، فقد تراوحت نسبة القشور بين 15.2% و41.2% عند الكرمنتينا والنارنج على التوالي، واختلفت هذه النسب مرجعياً مع نتائج (Ademosun 2022) حيث بلغت نسبة القشور نحو 50%، يعود ذلك لاختلاف الأنواع والأصناف، أو لاعتماد بعض الدراسات على أن نسبة العصير 50%، في حين ما تبقى من الثمرة (القشور بطبقاتها الثلاث، والبذور) يشكل 50%. في هذا البحث حُسبت نسبة القشور بناءً على الطبقة الأولى والثانية فقط. من المهم حساب نسبة الرطوبة لتحديد الكتلة الحيوية الجافة ليتم نسب مردود الاستخلاص إليها، فقد تراوحت نسبة الرطوبة بين 58.8% و73% عند الكرمنتينا والنارنج على التوالي، وتوافقت نسبة الرطوبة مرجعياً مع نتائج (Romano *et al.*, 2022) الذي أشار إلى نسبتها بنحو (73-81)%.

أما فيما يتعلق بمردود الزيت الطيّار؛ فتتميز ثمار الحمضيات عموماً بوجود الزيوت الطيّار في الطبقة الأولى من القشور، فقد تراوح مردود الزيت الطيّار عند الأنواع المدروسة بين 0.58% و1.41% عند الليمون والكرمنتينا على التوالي، وتوافقت نسبتها مرجعياً مع نتائج (Jalgaonkar *et al.*, 2013) إذ بلغت نسبته نحو 0.68%، ومن العوامل التي تؤثر في نسبة الزيت الطيّار: العامل الوراثي الذي يحدد طبيعة اختلاف الأنواع والأصناف، ودرجة نضج الثمار، وتأثير العوامل البيئية، وعمليات الخدمة المقدمة (Lu *et al.*, 2019). فيما يتعلق بالكثافة النوعية للزيت الطيّار، فقد بلغت عند كل الأنواع بنحو 0.83 g/ml، إذ من المهم حساب الكثافة النوعية وذلك لتحديد فيما إذا كان الزيت سيطفو أم لا عند استعماله في بعض التطبيقات، ومهمة أيضاً عند إجراء بعض المعادلات التي تعتمد على وزن الزيت وليس حجمه، إذ إن لهذا الزيت تطبيقات مهمة كمضاد للأحياء الدقيقة والحشرات، وخافض للدهون، ومضاد للسرطان، ومضاد للسكري، ومضاد للالتهاب؛ وبذلك يكون له دور في حفظ وسلامة الأغذية. تعود هذه الفعالية لوجود مزيج من المركبات الهيدروكربونية ومشتقات مؤكسدة من الهيدروكربونات التربينية Terpenoid وغير التربينية Nonterpenoid والتي تحتوي على العديد من الزمر الوظيفية مثل: الألدهيدات والأغوال والكيتونات والإسترات، إضافة إلى وجود الحموض العضوية (Bora *et al.*, 2020).

تؤكد النتائج الواردة في الجدول (1)، أن نسبة القشور ورطوبتها في الكرمنتينا هي الأقل من بين الأنواع، في حيث أن مردود الزيت الطيّار هو الأعلى عند النبات نفسه مقارنةً بالأنواع الأخرى، وكان العكس تماماً فيما يتعلق بالأنواع الأخرى.

الجدول 1. بعض خصائص قشور الحمضيات والزيت الطيّار.

	نسبة القشور (%)	نسبة الرطوبة (%)	مردود الزيت الطيّار (%)*	الكثافة النوعية للزيت الطيّار g/ml
البرتقال	21.31 ±1.31	63.10 ±2.66	1.12 ±0.09	0.8320 ±0.0010
النارنج	41.17 ±3.00	73.00 ±1.98	1.04 ±0.12	0.8313 ±0.0008
الليمون	26.69 ±2.63	64.95 ±1.51	0.58 ±0.20	0.8266 ±0.0013
الغريفون	21.93 ±2.27	70.31 ±2.16	0.84 ±0.22	0.8386 ±0.0004
البوملي	27.88 ±3.56	70.58 ±3.14	0.98 ±0.07	0.8286 ±0.0009
الكرمنتينا	15.20 ±2.70	58.88 ±3.02	1.41 ±0.27	0.8320 ±0.0011
LSD, 0.01	13.31436	12.37358	0.88458	0.00478

* نسبة لوزن القشور الجافة.

2-مردود الاستخلاص وبعض الخصائص الكيميائية للخلاصات المائية لقشور الحمضيات:

استعملت القشور الرطبة في الاستخلاص لأن عملية تجفيفها يسبب التصاق الجدران الخلوية ببعضها؛ وهذا ما يعيق دخول الماء واستخلاصه للمركبات القطبية (Li *et al*., 2006).

تميزت طريقة الاستخلاص المساعد (الماء الناتج عن مرحلة استخلاص الزيت الطيّار إضافة للماء الناتج عن عملية النقع) بارتفاع مردود الاستخلاص عموماً في كل أنواع الحمضيات (الجدول 2) إذ كانت بين 24.1% و36.3% وأصبحت 40.4% و52.5% لكل من البرتقال والبوملي على التوالي، وترافق ذلك مع انخفاض في المحتوى الكلي للفينولات مقارنة بكميتها في الماء الناتج عن مرحلة استخلاص الزيت الطيّار فقط؛ وهذا الانخفاض النسبي يعود لاستخلاص مركبات ثانية أهمها السكريات التي أظهرت ارتفاعاً نظراً لزيادة انحلاليتها مع طول زمن الاستخلاص. ارتفعت أيضاً نسبة البروتينات والأصبغة في الماء الناتج عن طريقة الاستخلاص المساعد لاسيما الكلورفيل أ والكلورفيل ب، ترافق ذلك مع انخفاض في تركيز الكاروتينوئيدات. أما فيما يتعلق بالفعالية المضادة للتأكسد؛ فقد توافقت نسبتها مع نسبة المحتوى الكلي للفينولات والتي تعد بدورها من أهم مضادات التأكسد ضمن النباتات (Camacho *et al*., 2022).

عموماً توافقت النتائج في الجدول (2) مع العديد من الدراسات المرجعية التي أشارت إلى أن قشور الحمضيات تتميز بمحتوى مرتفع من الفينولات (Sarkar *et al*., 2022)، والسكريات (Raajeswari and Nischala 2017)، والأصبغة -لاسيما الكاروتينوئيدات- (Abdullah and Abdul Razaq 2018)، ومحتوى منخفض من البروتينات (Saeid and Ahmed 2021). ومن الجدير بالذكر أن القسم الأكبر من البروتينات بقي ضمن القشور لأن استخلاصه يحتاج لطريقة قلوية بوجود ماءات البوتاسيوم KOH (Scopes 1994)، وهذا ما يجعل القشور الناتجة مصدراً للبروتين يمكن الاستفادة منها لاحقاً.

الجدول 2. مردود الاستخلاص وبعض الخصائص الكيميائية للخلاصات المائية لقشور الحمضيات.

			البرتقال	النارنج	الليمون	الغريفون	البوملي	الكرمنتينا	LSD, 0.01
مردود الاستخلاص (%)*	أثناء استخلاص الزيت الطيّار		24.1 ±0.1	29.1 ±0.3	27.1 ±0.5	32.1 ±1.4	36.3 ±2.0	27.5 ±1.6	6.0648
	أثناء استخلاص الزيت الطيّار + النقع		40.4 ±1.7	52.9 ±2.9	51.9 ±3.0	42.9 ±2.6	52.5 ±3.1	41.9 ±2.1	13.05178
المحتوى الكلي للفينولات مغ/غ خلاصة	أثناء استخلاص الزيت الطيّار		37.6 ±1.1	82.6 ±2.2	44.5 ±0.5	112.1 ±3.0	81.6 ±1.3	47.6 ±1.6	9.00384
	أثناء استخلاص الزيت الطيّار + النقع		23.5 ±0.9	81.4 ±1.0	25.8 ±0.2	89.6 ±2.4	52.3 ±0.7	15.1 ±0.4	5.85254
الفعالية المضادة للتأكسد مغ/مل :IC50 **	أثناء استخلاص الزيت الطيّار		1.40 ±0.09	1.56 ±0.13	1.60 ±0.11	1.54 ±0.14	1.63 ±0.05	1.49 ±0.07	0.5156
	أثناء استخلاص الزيت الطيّار + النقع		2.24 ±0.10	1.79 ±0.09	2.15 ±0.13	1.77 ±0.11	1.87 ±0.10	2.05 ±0.05	0.4972
محتوى السكريات مغ/غ خلاصة	أثناء استخلاص الزيت الطيّار		503.4 ±8.6	416.7 ±6.6	429.6 ±5.2	501.7 ±6.4	578.1 ±11.1	535.0 ±5.2	37.31432
	أثناء استخلاص الزيت الطيّار + النقع		620.8 ±7.3	548.8 ±7.4	525.6 ±7.9	532.4 ±5.7	597.6 ±4.9	541.2 ±5.7	32.80056
محتوى البروتينات مغ/غ خلاصة	أثناء استخلاص الزيت الطيّار		0.94 ±0.01	1.44 ±0.08	1.98 ±0.10	1.24 ±0.02	0.32 ±0.01	0.40 ±0.03	0.27244
	أثناء استخلاص الزيت الطيّار + النقع		1.87 ±0.10	2.77 ±0.11	2.43 ±0.05	1.42 ±0.01	1.45 ±0.05	0.79 ±0.01	0.33646
محتوى الأصبغة ميكروغرام/غ خلاصة	أثناء استخلاص الزيت الطيّار	C_a	159.3 ±4.2	160.2 ±4.3	110.9 ±3.6	148.6 ±4.1	149.7 ±4.5	229.5 ±5.3	21.76524
		C_b	344.6 ±7.1	305.9 ±5.1	253.5 ±5.4	322.8 ±4.9	284.4 ±6.9	480.6 ±6.7	30.34722
		C_{x+c}	135.2 ±4.1	50.93 ±3.3	131.3 ±4.1	16.7 ±0.9	22.9 ±1.3	73.4 ±2.2	14.6632
	أثناء استخلاص الزيت الطيّار + النقع	C_a	202.4 ±4.9	221.5 ±3.9	169.1 ±4.3	150.9 ±4.2	207.7 ±2.8	254.0 ±5.9	22.12052
		C_b	428.1 ±6.5	486.7 ±8.7	359.3 ±8.4	286.7 ±3.7	436.3 ±6.4	526.4 ±9.1	36.76518
		C_{x+c}	65.5 ±1.2	42.9 ±0.9	29.4 ±0.8	12.3 ±0.3	15.9 ±0.5	10.2 ±0.4	3.74934

* نسبة لوزن القشور الجافة.

** DPPH IC_{50} mg/ml (Vitamin C: 0.0467 mg/ml)

ISSN (online): 2789-6366
http://journal.damascusuniversity.edu.sy/index.php/index/index

3- مردود وبعض خصائص الزيت الثابت والأصبغة اللاقطبية:

يتكون الزيت الثابت Fixed Oil في النباتات من غليسيريدات ثلاثية بنسبة 95%، وبقية المكونات غليسيريدات ثنائية، وغليسيريدات أحادية، إضافة إلى الحموض الحرة والأصبغة ومركبات أُخرى مثل: التوكوفيرول والفيتوستيرول، وإن معرفة الخصائص الكيميائية والفيزيائية للزيوت النباتية أمر مهم لتحديد مجالات استعمالاتها في المجال الصناعي أو الغذائي (Hammond 2003; Ramadan *et al*., 2018).

أظهرت النتائج في الجدول (3) أن قشور الحمضيات عموماً لديها مردوداً منخفضاً نسبياً من الزيت الثابت، إذ تراوحت نسبته بين 1.66% و1.97% لكل من البرتقال والكرمنيتنا على التوالي، وهذا ما توافق نسبياً مع نتائج (Manuranjan *et al*., 2019) إذ بلغت نسبته بنحو 3.12%. تميزت زيوت قشور الحمضيات بدرجة انصهار مرتفعة نسبياً؛ تراوحت بين 9.7 °C و27.6 °C لكل من الكرمنتينا والغريفون على التوالي، وهذا يدل على ارتفاع نسبة الحموض الدسمة المشبعة فيها (Siram *et al*., 2019)، لذلك يفضل عدم استعمالها في التطبيقات الغذائية ودراسة استعمالها في مجال صناعة الصابون والشموع نظراً لقوامها المائل للصلابة (Henson 2012).

فيما يتعلق بمردود الأصبغة اللاقطبية، تتميزت قشور الحمضيات بمحتوى مرتفع من الكاروتينوئيدات إضافة إلى اليخضور بنسبة أقل (الجدول 3)، وتعد الكاروتينوئيدات المسؤولة عن الألوان المختلفة لثمار الحمضيات (Lado *et al*., 2019)، ومن الجدير بالذكر أن جزءاً من هذه الأصبغة قد استخلص خلال المراحل السابقة (الجدول 2). يمكن عزل هذه الأصبغة بعملية الامتزاز Adsorption –لاسيما باستعمال الفحم المنشط– ثم فصلها عن الفحم بعملية الانتزاز Desorption، ومن ثم استعمالها في العديد من التطبيقات الصناعية والدوائية والغذائية (Tanthapanichakoon *et al*., 2005; Qaisar *et al*., 2019).

الجدول 3. مردود استخلاص الزيت الثابت ودرجة انصهاره، والأصبغة اللاقطبية المستخلصة من قشور الحمضيات الناتجة عن مرحلة استخلاص الزيت الطيار والنقع.

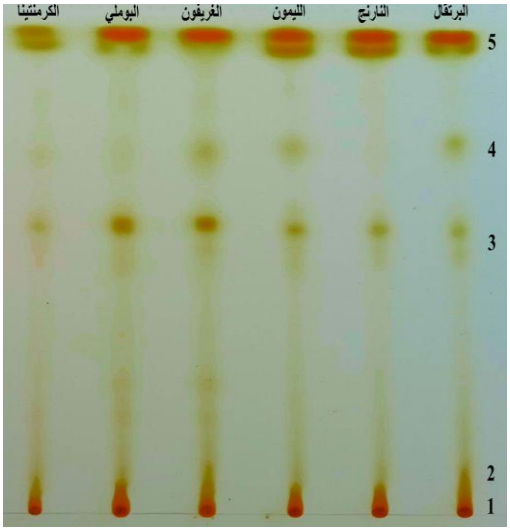
		البرتقال	النارنج	الليمون	الغريفون	البوملي	الكرمنتينا	LSD, 0.01
مردود الزيت الثابت (%)*		1.66 ±0.12	1.90 ±0.14	1.23 ±0.07	1.91 ±0.10	1.86 ±0.09	1.97 ±0.13	0.55358
درجة انصهار الزيت الثابت °C		22.1 ±0.2	15.2 ±0.1	14.1 ±0.3	27.6 ±0.2	11.5 ±0.1	9.7 ±0.2	0.9766
محتوى الأصبغة ميكروغرام/غ زيت ثابت	C_a	19.72 ±1.1	47.66 ±2.9	44.70 ±2.2	36.97 ±1.7	230.75 ±4.4	21.12 ±0.8	12.44514
	C_b	29.72 ±1.4	72.33 ±3.9	39.82 ±0.9	37.67 ±1.3	78.49 ±1.7	26.21 ±0.7	9.77664
	C_{x+c}	52.22 ±1.8	109.09 ±3.1	114.18 ±3.2	68.06 ±2.3	122.26 ±3.9	125.76 ±2.8	14.6037
محتوى الأصبغة ميكروغرام/غ نبات جاف	C_a	0.32 ±0.02	0.90 ±0.07	0.55 ±0.05	0.70 ±0.03	4.31 ±0.5	0.41 ±0.02	1.03654
	C_b	0.493 ±0.04	1.37 ±0.07	0.49 ±0.03	0.72 ±0.05	1.46 ±0.06	0.51 ±0.02	0.24008
	C_{x+c}	0.86 ±0.06	2.07 ±0.1	1.40 ±0.2	1.30 ±0.09	2.28 ±0.3	2.48 ±0.1	0.85358

* نسبة لوزن القشور الجافة.

تعد طريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC من طرائق التحليل الكيفي لتحديد التنوع الكيميائي ضمن مزيج من المركبات لاسيما المستخلصات النباتية، وإن كثافة البقعة المفصولة يرتبط بتركيزها ضمن المستخلص. يظهر الشكل (1) بقع عديدة وهي بالترتيب من الأسفل (الأكثر قطبية) إلى الأعلى (الأقل قطبية): الدسم الفوسفورية، والغليسيريدات الأحادية، والغليسيريدات الثنائية، والحموض الدسمة الحرة، والغليسيريدات الثلاثية، والدسم الفوسفورية (Marimuthu *et al*., 2010; Kamoun *et al*., 2018)،

ISSN (online): 2789-6366
http://journal.damascusuniversity.edu.sy/index.php/index/index

واختلفت كثافة البقع نسبياً فيما بينها، بالتالي اختلاف تركيز المركبات فيها، مما ينعكس على الخصائص الفيزيائية والكيميائية لهذه الزيوت.



الشكل 1. صورة نتائج TLC للزيت الثابت لقشور الحمضيات.

1: الدسم الفوسفورية، 2: الغليسيريدات الأحادية، 3: الغليسيريدات الثنائية، 4: الحموض الدسمة الحرة، 5: الغليسيريدات الثلاثية.

4- مردود استخلاص البكتين:

يعد البكتين من السكريات المتعددة التي تأخذ شكل ألياف قابلة للذوبان في الماء، يتميز بأهمية غذائية؛ إذ يساعد في عملية الامتصاص، إضافة إلى ذلك له استعمالات في العديد من الأطعمة كعامل استحلاب، ومكثف، ويكسب المواد خصائص هلامية. تمتلك ثمار الحمضيات نسبة مرتفعة من البكتين إذ تصل نحو 20-30% (Vanitha and Khan 2019). يمكن استخلاص البكتين باستعمال الأنزيمات، وبطريقة الحلمهة الحامضية (Abou-Elseoud *et al*., 2021).

تميزت القشور الناتجة عن مراحل الاستخلاص بمحتوى جيد نسبياً من البكتين (الجدول 4) تراوحت بين 2.1% و5.6% لكل من النارنج والبرتقال على التوالي، لكن لم تتوافق هذه النسب مع النسب المرجعية ويعود ذلك لأسباب عديدة منها: استخلاص جزء من البكتين خلال مراحل الاستخلاص السابقة لاسيما أثناء التعرض للحرارة، واختلاف طريقة الاستخلاص من حيث أمثلة الشروط: نسبة رطوبة القشور، كمية وحموضة محلول الاستخلاص، زمن الاستخلاص، درجة الحرارة، إضافة إلى ذلك اختلاف الأنواع أو الأصناف النباتية المستعملة.

الجدول 4. مردود البكتين المستخلص من قشور الحمضيات الناتجة عن مراحل الاستخلاص.

	البرتقال	النارنج	الليمون	الغريفون	البوملي	الكرمنتينا	LSD, 0.01
مردود البكتين (%)*	5.6 ±0.25	2.1 ±0.08	5.2 ±0.29	3.8 ±0.14	4.1 ±0.11	4.2 ±0.27	0.73722

*** نسبة لوزن القشور الجافة.**

5-استعمال القشور كمادة مازّة:

يعد اختبار زرقة المتلين من الاختبارات المستعملة للكشف عن المواد التي يمكن استعمالها في عملية الامتزاز، وإن إزالة لون المحلول يعد دليلاً على كفاءة المادة المستعملة (Miyoshi *et al*., 2016).

أظهرت النتائج أن كافة مساحيق قشور الحمضيات (الناتجة عن مراحل الاستخلاص) سببت إزالة لون المحلول، وتم التأكّد من ذلك بقياس الامتصاصية الضوئية بوساطة جهاز المطياف الضوئي (الجدول 5)، إذ تشير النتائج إلى أن قيم الامتصاصية بالنسبة للعينات كانت منخفضة جداً مقارنة بامتصاصية الشاهد، إذ تراوحت بين 0.002 Au عند الليمون وحتى 0.009 Au عند البرتقال

والغريفون مقابل Au 0.209 عند الشاهد. وبناءً عليه يمكن الاستفادة من مسحوق قشور الحمضيات (الناتج عن مراحل الاستخلاص السابقة) في معالجة المياه وتنقيتها من الملوثات.

الجدول 5. امتصاصية محلول مائي لزرقة المتلين بعد إضافة القشور الناتجة عن مراحل الاستخلاص (الواحدة: Au).

	الشاهد	البرتقال	النارنج	الليمون	الغريفون	البوملي	الكرمنتينا	LSD, 0.01
الامتصاصية عند طول الموجة 665 nm	0.209 ±0.007	0.009 ±0.001	0.008 ±0.002	0.002 ±0.001	0.009 ±0.002	0.005 ±0.001	0.006 ±0.001	0.00504

6-استعمال القشور مصدراً وحيداً للكربون:

إن نمو الفطريات ضمن الوسط دليل على الاستفادة من الكربون الموجود ضمن القشور (الجدول 6)، ويترافق نمو هذه الفطريات مع إنتاجها العديد من الأنزيمات، إضافة إلى مواد أخرى مثل: Mevastatin (عقار مخفض للدهون) المنتج من فطر Penicillium citrinum (Mahesh *et al.*, 2012)، وسلاسل هيدروكربونية طويلة (C_{16} إلى C_{35}) ذات خصائص تطبيقية كمصدر للطاقة وذلك من نمو فطر Aspergillus carbonarius (Sinha *et al.*, 2015)، وإنتاج منظمات النمو النباتية مثل: IAA وGA3 المنتجة من فطر Trichoderma harzianum (Al-Askar 2016)، لكن من المهم تنقية هذه المواد ذات الخصائص التطبيقية من السموم الفطرية التي ترافق إنتاج هذه المواد. نمت الفطريات ضمن الوسط السائل خلال الأسبوع الأول من الزراعة، وازدادت كثافة المشيجة Mycelium لكل العزلات الفطرية خلال استمرارها في النمو للأسبوع الثاني.

الجدول 6. نتائج نمو الفطريات ضمن وسط Bushnell Hass **المحتوي على قشور الحمضيات الناتجة عن مراحل الاستخلاص.**

الفطر	البرتقال	النارنج	الليمون	الغريفون	البوملي	الكرمنتينا
Aspergillus carbonarius	+	+	+	+	+	+
Penicillium citrinum	+	+	+	+	+	+
Trichoderma harzianum	+	+	+	+	+	+

تسمح عملية الاستخلاص المتتابع بالحصول على عدد من المواد الفعالة من قشور الحمضيات وذلك ابتداءً من كتلة نباتية واحدة، مما يزيد من قيمتها الاقتصادية والبيئية والصناعية، وبهذا يمكن ترتيب هذه المراحل وفق الآتي:

1-في المرحلة الأولى استخلاص الزيت الطيّار (العطري) باستعمال جهاز كلافنجر وبوساطة الماء: لأنه أكثر حساسية من غيره، وفي أثناء هذه المرحلة يتم استخلاص جزء من الفينولات، والسكريات، وبعض الأصبغة القطبية، وكمية قليلة من البروتينات، والفيتامينات المنحلة بالماء. أثناء عملية تثفيل الخلاصات المائية للتنقية من الشوائب ظهرت طبقة سطحية من الأصبغة مفصولة عن المستخلص، يمكن فصلها وتنقيتها، ولكن تم إبقاؤها ضمن المستخلص الكلي.

2-استكمال استخلاص الفينولات، والسكريات، وبعض الأصبغة القطبية، وكمية قليلة من البروتينات، والفيتامينات المنحلة بالماء وذلك من خلال النقع بالماء.

3- استخلاص الزيت الثابت، والأصبغة اللاقطبية، والفيتامينات المنحلة بالدسم، باستعمال جهاز سوكسلييه وبوساطة مذيب لاقطبي مثل الهكسان أو الايتر البترولي. يمكن فصل الأصبغة اللاقطبية عن الزيت باستعمال الكربون المنشط.

4-استخلاص البكتين بالطريقة الحامضية بوجود حمض الليمون Citric Acid.

5-استخلاص البروتينات بطريقة الترسيب القلوية بوجود ماءات البوتاسيوم KOH.

6-استعمال القشور بعملية امتزاز الأصبغة.

7-استعمال القشور كمصدر لنمو بعض الأحياء الدقيقة (بعض الفطريات).

كان الاختلاف معنوياً في معظم نتائج خصائص ثمار الحمضيات ومردود المركبات الحيوية (الزيت الطيّار والثابت والفينولات والسكريات والبروتينات والأصبغة القطبية واللاقطبية والبكتين). كانت الزيادة معنوية في نتائج مردود الاستخلاص بين طريقة

الاستخلاص أثناء استخلاص الزيت الطيّار وطريقة الاستخلاص أثناء استخلاص الزيت الطيّار المتبوعة بالنقع، واختلفت نتائج الطريقتين معنوياً في معظم الحالات من حيث تغير مردود الفينولات والسكريات والأصبغة القطبية والبروتينات. وكانت الفروق معنوية بين نسبة امتصاصية محلول زرقة المتلين (الشاهد) وامتصاصية محلول زرقة المتلين المعالج بقشور الحمضيات.

أما فيما يتعلق باختلاف بعض النتائج مع نتائج الدراسات المرجعية؛ يعود ذلك لعوامل عديدة منها: اختلاف الأنواع والأصناف المستعملة، واختلاف درجة نضج الثمار، وتأثير العوامل البيئية في منطقة زراعة النبات، إضافة إلى اختلاف طريقة الاستخلاص وشروطها.

الاستنتاجات:

1- تتميز قشور الحمضيات بمحتوى متنوع من المواد الفعالة (الزيت الطيّار والزيت الثابت، الفينولات، والسكريات، والأصبغة القطبية واللاقطبية، والبروتينات، والبكتين) تختلف نسبتها حسب العامل الوراثي والبيئي والخدمي وطريقة الاستخلاص ونوع المذيب المستعمل.

2- الاستخلاص المتتابع من قشور الحمضيات وفق الترتيب المقترح مهم للحصول على أكبر قدر ممكن من المواد الفعالة من كتلة نباتية واحدة.

3- يمكن استعمال قشور الحمضيات بعد استخلاص العديد من المركبات الفعالة كمادة مازّة، واستعمالها كمصدر كربوني لنمو الأحياء الدقيقة.

التوصيات:

1- تطبيق طريقة الاستخلاص المتتابع وفق الترتيب المقترح ضمن خطوط استخلاص في معامل عصير الحمضيات.

2- استمرار دراسة طرائق الاستخلاص وأمثلة شروطها للوصول إلى طرائق أكثر كفاءة.

3- استمرار دراسة تطبيقات المواد الفعالة المستخلصة من قشور الحمضيات.

هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل (501100020595).

المراجع References:

1- Abdullah, S, R., Abdul Razaq, R (2018). Extracting carotenoids pigments from Citrus peel and studying their functional properties, Tikrit Journal for Agricultural Sciences, 18 (4): 146-163.
2- Abou-Elseoud, W, S., Hassan, E A., Hassan, M, L (2021). Extraction of pectin from sugar beet pulp by enzymatic and ultrasound-assisted treatments, Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, 2: 100042.
3- Ademosun, A, O (2022). Citrus peels odyssey: from the waste bin to the lab bench to the dining table, Applied Food Research, 2 (1), 100083: 1-7.
4- Al-Askar, A, A (2016). Bioactive compounds produced by *Trichoderma harzianum* 1-SSR for controlling *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg and growth promotion of *Sorghum vulgare*, Egyptian Journal of Biological Pest Control, 26 (2): 379-386
5- AlHafez, M., Kheder, F., AlJoubbeh, M (2014) Polyphenols, flavonoids and (-)-epigallocatechin gallate in tea leaves and in their infusions under various conditions, Nutrition & Food Science, 44 (5): 455-463.
6- Al-Ubeed, H, M, S., Bhuyan, D, J., Alsherbiny, M, A., Basu, A., Vuong, Q, V, A (2022). Comprehensive review on the techniques for extraction of bioactive compounds from medicinal cannabis, Molecules, 27, 604: 1-18.
7- Andriopoulos, V., Gkioni, M, D., Koutra, E., Mastropetros, S, G., Lamari, F, N., Hatziantoniou, S., Kornaros, M (2022). Total phenolic content, biomass composition, and antioxidant activity of selected marine microalgal species with potential as aquaculture feed, Antioxidants, 11, 1320: 1-21.
8- Azaat, A., Babojian, G., Issa, N (2022). Phytochemical screening, antioxidant and anticancer activities of *Euphorbia hyssopifolia* L. against MDA-MB-231 breast cancer cell line, Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry, 9 (1): 295–310.
9- Bora, H., Kamle, M., Mahato, D, K., Tiwari, P., Kumar, P (2020). Citrus essential Oils (CEOs) and their applications in food: An overview, Plants, 9, 357; 1-25.
10- Bradford, M, M (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, Analytical Biochemistry, 72 (1-2), 248-254.
11- Camacho, M, d, M., Zago, M., García-Martínez, E., Martínez-Navarrete, N (2022). Free and Bound Phenolic Compounds Present in Orange Juice By-Product Powder and Their Contribution to Antioxidant Activity, Antioxidants, 11 (9), 1748: 1-10.
12- Campos, V., Tappy, L., Bally, L., Sievenpiper, J, L., Lê, K (2022). Importance of carbohydrate quality: What does it mean and how to measure it?, The Journal of Nutrition, 152: 1200–1206.
13- Clevenger, J, F (1928). Apparatus for the determination of volatile oil, Journal of the American Pharmaceutical Association, 17 (4): 345-349.
14- Crawford, C, B., Quinn, B (2017). The interactions of microplastics and chemical pollutants, Microplastic Pollutants, 131-157.
15- Devrnja, N., Milutinovi´c, M., Savi´c, J (2022). When scent becomes a weapon—plant essential oils as potent bioinsecticides, Sustainability, 14, 6847: 1-16.
16- Dey, S., Basha, G, C., Baby, G, V., Nagendra, T (2021). Characteristic and biosorption capacities of orange peels biosorbents for removal of ammonia and nitrate from contaminated water, Cleaner Materials, 1: 100001.
17- FAO (2021). Food and Agriculture Organization of the United Nations.
18- Ghosh, S., Sarkar, T., Das, A., Chakraborty, R (2022). Natural colorants from plant pigments and their encapsulation: An emerging window for the food industry, LWT - Food Science and Technology, 153, 112527: 1-12.
19- Guntero, V, A., Ferretti, C, A (2022). Valorization of Orange peels as a source of pectins, Chemistry Proceedings, 8, 81: 1-6.
20- Hammond, E, W (2003). Vegetable oils, types and properties, Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition): 5899-5904.
21- Henson, I, E (2012). a brief history of the oil palm, palm oil production, processing, characterization and uses, AOCS Press, Published by Elsevier Inc.

22- Kamoun, O., Ayadi, I., Guerfali, M., Belghith, H., Gargouri, A., Trigui-Lahiani, H (2018). *Fusarium verticillioides* as a single-cell oil source for biodiesel production and dietary supplements, Process Safety and Environmental Protection, 118: 68-78.
23- Kumar, M., Tomar, M., Punia, S., Dhakane-Lad, J., Dhumal, S., Changan, S., Senapathy, M., Berwal, M, K., Sampathrajan, V., Sayed, A, A, S., Chandran, D., Pandiselvam, R., Rais, N., Mahato, D, K., Udikeri, S, S., Satankar, V., Anitha, T., Reetu, Radha, Singh, S., Amarowicz, R., Kennedy, J, F (2022). Plant based proteins and their multifaceted industrial applications, LWT - Food Science and Technology, 154, 112620: 1-15.
24- Lado, J., Alós, E., Manzi, M., Cronje, P, J, R., Gómez-Cadenas, A., Rodrigo, M, J., Zacarías, L., (2019). Light regulation of carotenoid biosynthesis in the peel of Mandarin and Sweet orange fruits, Frontiers in Plant Science, 10: 1288.
25- Li, B, B., Smith, B., Hossain, M, M (2006). Extraction of phenolics from Citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method. Separation and Purification Technology, 48 (2): 182-188.
26- Lu, Q., Huang, N., Peng, Y., Zhu, C., Pan, S (2019). Peel oils from three Citrus species: volatile constituents, antioxidant activities and related contributions of individual components, Journal of Food Science and Technology, 56 (10): 4492–4502.
27- Lupascu, L., Petuhov, O., Timbaliuc, N., Lupascu, T (2022). Study of the adsorption of *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* bacteria on enterosorbent obtained from Apricot kernels, Journal of Carbon Research, 8 (38): 1-11.
28- Mahesh, N., Balakumar, S., Indumathi, P., Ayyadurai, A., Vivek, R (2012). Production and optimization of Mevastatin using *Penicillium citrinum* NCIM 768, Journal of Microbial & Biochemical Technology, 4 (1): 1-4.
29- Manuranjan, G., Lalduhsanga, P., Lalhlenmawia, H., Bibhuti, K., Thanzami, K (2019). Physicochemical, antibacterial and antioxidant properties of fixed and essential oils extracted from the peels of *Citrus macroptera* Fruit, Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 81 (1): 82-88.
30- Marimuthu, C., Srinivasan, S., Periyasamy, K., Ganesan, B., Manickam, J., Gnanasekaran, V., Veeramalai, K (2010). Study of Diacyl Glycerides Profile and Content in Cooking Oils using Thin Layer Chromatography and Gel Permeation Chromatography, International Journal of Biotechnology and Biochemistry, 6 (1): 35-44.
31- Miyoshi, Y., Miyakoshi, K., Takagi, T (2016). Methylene blue adsorption test method for bentonite : Dependence of the results on the procedures, Journal of the Clay Science Society of Japan (in Japanese), 54 (2): 65-73.
32- Novianty, R., Saryono., Awaluddin, A., Pratiwi, N, Y., Hidayah, A., Juliantari, E (2021). The diversity of fungi consortium isolated from polluted soil for degrading petroleum hydrocarbon, Biodiversitas, 22 (11): 5077-5084.
33- Pandharipande, S., Makode, H (2012). Separation of oil and pectin from Orange peel and study of effect of ph of extracting medium on the yield of pectin, Journal of Engineering Research and Studies, 3 (2): 6-9.
34- Putnik, P., Kovaˇcevi´c, B, D., Jambrak, A, R., Barba, F, J., Binello, G, C, A., Lorenzo, J, M., Shpigelman, A (2017). Innovative "green" and novel strategies for the extraction of bioactive added value compounds from Citrus wastes—A review, Molecules, 22, 680: 1-24.
35- Qaisar, U., Afzal, M., Tayyeb, A (2019). Commercial applications of plant pigments, International Journal of Biotech Trends and Technology, 9 (3): 18-22.
36- Raajeswari, P, A., Nischala, (2017). Dehydration, nutrient analysis, phytochemical analysis and shelf life assay of Citrus fruit peel, Nutrition & Food Science International Journal, 4 (2): 555634.
37- Ragunathan, T., Wood, D, C., Husin, H (2022). The influence of palm oil additives on the pour point and wax deposition tendencies of Chenor crude oil, Journal of Petroleum Exploration and Production Technology, 12: 589–599.
38- Ramadan, K., Nader, S., Ibrahim, A (2018). Orange peel fixed oil (*Citrus sinensis* "Valencia"), physiochemical properties, fatty acids profile, potential uses and the effect of environmental factors on it, Bulgarian Journal of Agricultural Sciences, 24 (1): 91–98.
39- Rathi, B, S., Kumar, P, S (2021). Application of adsorption process for effective removal of emerging contaminants from water and wastewater, Environmental Pollution, 280: 116995.
40- Saeid, A., Ahmed, M (2021). Citrus fruits: nutritive value and value-added products. In Citrus - Research, Development and Biotechnology. IntechOpen.

41- Safdar, M, N., Kausar, T., Jabbar, S., Mumtaz, A., Ahad, K., Saddozai, A, A (2016). Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (*Citrus reticulate* L.) peel using ultrasound and maceration techniques, Journal of Food and Drug Analysis, 25 (3): 488-500.
42- Sarkar, R., Nain, L., Dutta, A, Kundu, A., Saha, S (2022). Unraveling the utilization feasibility of citrus peel solid distillation waste as potential source for antioxidant as well as bioethanol, Biomass Conversion and Biorefinery.
43- Scopes, R, K (1994). Protein purification, Text in chemistry Springer-vertag, New York.
44- Sinha, M., Sørensen, A., Ahamed, A., Ahring, B, K (2015). Production of hydrocarbons by *Aspergillus carbonarius* ITEM 5010, Fungal Biology, 119: 274-282.
45- Siram, K., Habibur Rahman S, M., Balakumar, K., Chandraseka, R., Hariprasad, R (2019). Pharmaceutical nanotechnology: Brief perspective on lipid drug delivery and its current scenario, Biomedical Applications of Nanoparticles: 91-115.
46- Sulyman, M., Glerak, A (2020). Green environmental approach for adsorption of hazardous dye from water using tree and sea plant leaves (Dead L.), Acta Scientific Agriculture, 4 (2): 1-10.
47- Suri, S., Singh, A., Nema, P, K (2022). Current applications of citrus fruit processing waste: A scientific outlook, Applied Food Research, 2 (1): 100050.
48- Tanthapanichakoon, W., Ariyadejwanich, P., Japthong, P., Nakagawa, K., Mukai, S, R., Tamon, H (2005). Adsorption–desorption characteristics of phenol and reactive dyes from aqueous solution on mesoporous activated carbon prepared from waste tires, Water Research, 39: 1347–1353.
49- Vanitha, T., Khan, M (2019). Role of pectin in food processing and food packaging, Pectins - Extraction, Purification, Characterization and Applications, IntechOpen.
50- Wedamulla, N, E., Fan, M., Choi, Y., Kim, E (2022). Citrus peel as a renewable bioresource: Transforming waste to food additives, Journal of Functional Foods, 95, 105163: 1-19.
51- Wellburn, A, R (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution, Journal of Plant Physiology, 144 (3): 307-313.
52- Zhang, H., Yuan, Y., Zhu, X., Xu, R., Shen, H., Zhang, Q., Ge, X (2022). The effect of different extraction methods on extraction yield, physicochemical properties, and volatile compounds from field muskmelon seed oil, Foods, 11, 721.
53- Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., Zhang, Y (2022). A brief review of phenolic compounds identified from plants: their extraction, analysis, and biological activity, Natural Product Communications, 17 (1): 1–14.