

شفاف سازی ملاس چغندر با استفاده از بنتونیت و ژلاتین: بررسی و بهینه سازی فرآیند

ادریس آرژه^{۱*}، میر خلیل پیروزی فرد^۲، سجاد پیرسا^۳

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۰۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۲/۱۴)

چکیده

در این پژوهش به منظور بررسی و بهینه سازی تأثیر متغیرهای تیمار شیمیایی با بنتونیت و ژلاتین بر شاخص های کیفی ملاس چغندر از روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی (سه فاکتور در سه سطح) استفاده شد. از این رو تأثیر غلظت بنتونیت (۱۰-۲ گرم بر لیتر)، غلظت ژلاتین (۰/۱-۰/۱۱ گرم بر لیتر) و pH (۳-۷) روی کدورت، رنگ، خاکستر و غلظت کلونیدهای ملاس نهایی چغندر قند مطالعه و به خوبی توسط یک مدل چند جمله ای درجه دوم برازش گردید ($R^2 > 0/85$). نتایج نشان داد که pH مهمترین متغیر تأثیرگذار بر شاخص های شفاف سازی می باشد، چرا که روی تمامی پاسخ ها تأثیر معنی دار داشت. بنتونیت و ژلاتین نیز به عنوان دو ترکیب شفاف کننده متداول موجب بهبود شاخص های کیفی ملاس شدند، هر چند توانایی بنتونیت به مراتب بالاتر بود. شرایط بهینه برای به حداقل رساندن کدورت، رنگ، غلظت کلونیدها و خاکستر از نظر غلظت بنتونیت، غلظت ژلاتین و pH به ترتیب ۸/۳ گرم بر لیتر، ۰/۰۸ گرم بر لیتر و ۴/۰۳ به دست آمد. در این شرایط، کدورت، رنگ، خاکستر و غلظت کلونیدها به ترتیب برابر $12/1 NTU$ ، $2573 IU$ ، 27 درصد و $0/9$ گرم بر لیتر بود.

کلید واژگان: ملاس چغندر قند، بنتونیت، ژلاتین، روش سطح پاسخ

* مسئول مکاتبات: E.arjeh@gmail.com

۱- مقدمه

ملاس چغندر به آخرین پساب^۱ حاصل از مرحله کریستالیزاسیون اطلاق می‌گردد که نمی‌توان به روش‌های متداول، ساکارز بیشتری به صورت کریستال از آن جدا کرد. ملاس تقریباً شامل ۵۰ درصد قند (ساکارز و قند اینورت) و ۸۰ درصد ماده خشک می‌باشد و به عنوان با ارزش‌ترین محصول جانبی کارخانه قند شناخته می‌شود. فرآیند تخمیر به منظور تولید محصولات با ارزش افزوده، داروسازی و صنایع خوراک دام نیز از مهمترین مصارف آن به شمار می‌آیند [۱].

ملاس حاوی ناخالصی‌های مختلفی از جمله رنگدانه‌ها، مواد معدنی (پتاسیم، سدیم، کلسیم، منیزیم، ...)، اسیدهای آمینه، ترکیبات فنولی، پروتئین، پکتین، بتائین و ... می‌باشد. ترکیبات رنگی ملاس چغندر، پلی‌مرهای با وزن ملکولی بالا، ساختار و خصوصیات متفاوت می‌باشند. ملانین‌ها، ملانوئیدین‌ها، محصولات تخریب قلیایی هگزوزها و کارامل‌ها طی فرآوری چغندر قند بوجود می‌آیند. اغلب این رنگدانه‌ها طی فرآیند شفاف‌سازی با آهک-کربن دی‌اکسید حذف می‌شوند. اما با توجه دمای بالای مراحل تبخیر و کریستالیزاسیون دوباره تشکیل و وارد ملاس می‌شوند [۱]. پکتین و پروتئین ماکروملکول‌های هستند که به دلیل دافعه الکترواستاتیکی در یک حالت پایدار کلونیدی هستند. تقریباً همه ناخالصی‌های کلونیدی دارای بار منفی هستند [۲]. این ترکیبات که اغلب محلول هستند بر کیفیت ملاس تأثیر نامطلوب دارند و کاربرد آن را در صنایع غذایی محدود می‌کنند. بنابراین بایستی تحت فرآیند شفاف‌سازی و تصفیه قرار گیرد.

در صنایع غذایی برای شفاف‌سازی شربت‌ها اغلب از ترکیبات جاذب مانند بنتونیت و ژلاتین به عنوان عوامل شفاف‌ساز استفاده می‌شود. هنگامی که محلول حاوی جاذب‌ها به ملاس اضافه گردد یک رسوب لخته‌ای سنگین تشکیل می‌شود. این لخته‌ها هنگام ته‌نشین شدن موجب ترسیب ذرات معلق و ناخالصی‌های داخل

ملاس و در نتیجه شفاف‌سازی ملاس می‌گردند. دلیل فعالیت ترسیبی اختلاف بار بین ناخالصی‌ها و عوامل لخته‌ساز است [۳، ۴].

بنتونیت یک ترکیب رسی متعلق به گروه مونتموریلونیت‌ها با بار سطحی منفی می‌باشد که توانایی اتصال به ناخالصی‌ها با بار مثبت مانند پروتئین‌ها را دارد. علاوه بر این، بنتونیت می‌تواند از طریق جذب سطحی نیز ناخالصی‌هایی مانند فلزات سنگین، آفت‌کش‌ها و رنگدانه‌ها را جذب و حذف کند [۵]. در پژوهش‌های پیشین نیز برخی از محققان به توانایی بنتونیت در بهبود ویژگی‌های شربت خام چغندر قند اشاره کرده‌اند [۶، ۷]. اردوغان و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند که تیمار شربت خام با بنتونیت موجب کاهش ۲۹ درصدی در میزان رنگ و کدورت نمونه‌های شربت می‌شود. توانایی جذبی بنتونیت تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله pH، دما و غلظت آن می‌باشد. به طوری که با افزایش دما و کاهش pH توانایی جذب آن افزایش پیدا می‌کند [۶]. اما ژلاتین یک ترکیب جاذب پروتئینی است که موجب ته‌نشینی ذرات با بار منفی مانند پلی‌فنول‌ها و ترکیبات پکتیکی (عوامل کدورت ثانویه) می‌شود. تیمار ژلاتین اغلب با بنتونیت و سیلیکا سل کامل می‌گردد. در مطالعات پیشین مکانیسم و کاربردهای ژلاتین به خوبی مورد بررسی قرار گرفته شده است [۸، ۹]. ژلاتین ترجیحاً ملکول‌های با گروه‌های فنولی بیشتر و توانایی بالا در ایجاد پیوند هیدروژنی را جذب و حذف می‌کند [۸].

هدف اصلی از این مطالعه بررسی توانایی شفاف‌کننده‌های متداول (بنتونیت و ژلاتین) جهت بهبود شاخص‌های تصفیه چون رنگ، خاکستر و کلونیدها از ملاس چغندر می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

این پژوهش در سطح آزمایشگاهی در کارخانه قند پیرانشهر صورت گرفت. نمونه‌گیری از ملاس با بریکس ۷۹ در انتهای

1. runoff

بخش کریستالیزاسیون کارخانه انجام گرفت. عوامل شفاف‌ساز شیمیایی (جاذب‌های شیمیایی) شامل بنتونیت (Na-Ca Bentonite ERBSLÖH, Geisenheim, Germany) و ژلاتین (type-A; 100 bloom, Erbigel, Germany) بودند که از کارخانه آذراکام ارومیه تهیه شدند. دیگر مواد شیمیایی (هیدروکسید سدیم، هیدروکلریک اسید و اتانول) مورد استفاده در این تحقیق دارای درجه آنالیز آزمایشگاهی بودند و از شرکت‌های معتبر تهیه شدند.

۲-۲- روش آزمون

برای هر یک از آزمایش‌ها، ۲۰۰ میلی لیتر نمونه ملاس رقیق شده با آب مقطر (بریکس ۲۵) در نظر گرفته شد و سپس تحت شرایط مورد نظر با استفاده از بنتونیت و ژلاتین شفاف‌سازی گردید (جدول ۱). pH نمونه‌ها با استفاده از سیتریک اسید در pHهای مورد نظر تنظیم گردید. دمای مورد نظر (۷۵ درجه

سانتی گراد) برای انکوباسیون نیز با استفاده از یک حمام آب (ممرت، آلمان) تأمین گردید. برای انجام آزمایشات ابتدا بنتونیت را اضافه کرده و بعد از انجام واکنش توسط بنتونیت (۱۰ دقیقه همراه همزدن)، مقادیر مورد نظر ژلاتین به ارلن حاوی نمونه افزوده شد و در حال همزدن بعد از مدت زمان ۱۰ دقیقه به داخل حمام آب با دمای ۷۵ درجه سانتی گراد منتقل و پس از ۸۰ دقیقه، توسط آب تا دمای محیط سرد شد. سپس نمونه‌های سرد شده توسط فیلترهای کاغذی صاف و بلافاصله پارامترهای مورد نظر اندازه‌گیری گردید.

برای انجام بهتر واکنش‌ها بنتونیت ۸-۱۲ ساعت قبل از انجام آزمایشات در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به صورت محلول ۱۰ درصد در آب مقطر خیسانده شد. اما برای آماده سازی ژلاتین تنها یک ساعت قبل از آزمایشات محلول دو درصد آن در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد آماده و مورد استفاده قرار گرفت.

Table 1 The central composite rotatable design employed for treating beet molasses with bentonite and gelatin in coded and actual value.

NO.	Coded value			Actual value		
	Ben	Gel	pH	Ben (g/L)	Gel (g/L)	pH
1	0	0	-2	6.00	0.055	3.0
2	0	0	0	6.00	0.055	5.0
3	0	2	0	6.00	0.100	5.0
4	0	0	0	6.00	0.055	5.0
5	2	0	0	10.00	0.055	5.0
6	1	-1	-1	8.38	0.028	3.8
7	0	0	2	6.00	0.055	7.0
8	1	1	1	8.38	0.082	6.2
9	1	-1	1	8.38	0.028	6.2
10	-2	0	0	2.00	0.055	5.0
11	0	0	0	6.00	0.055	5.0
12	0	0	0	6.00	0.055	5.0
13	1	1	-1	8.38	0.082	3.8
14	-1	1	-1	3.62	0.082	3.8
15	-1	-1	1	3.62	0.028	6.2
16	0	0	0	6.00	0.055	5.0
17	0	-2	0	6.00	0.010	5.0
18	0	0	0	6.00	0.055	5.0
19	-1	1	1	3.62	0.082	6.2
20	-1	-1	-1	3.62	0.028	3.8

۲-۳-آزمون‌ها

۲-۳-۱-کدورت

کدورت نمونه‌ها با استفاده از یک توریدومتر دیجیتالی (Hach Company, Box 389, Loveland, Colo, USA) تعیین گردید و نتایج بر حسب NTU گزارش گردید.

۲-۳-۲-رنگ

رنگ نمونه‌ها مطابق دستورالعمل ایکومزا تعیین گردید [۱۰]. برای این منظور ابتدا پ‌هاش نمونه‌ها به ۷ رسانده شد. طبق دستورالعمل برای افزایش و کاهش پ‌هاش به ترتیب از هیدرواکسید سدیم ۰/۱ مولار و اسید هیدروکلریک ۰/۱ نرمال استفاده شد. در مرحله بعد محلول با استفاده از کاغذ صافی با اندازه منافذ ۰/۴۵ میکرومتر صاف و دورن سل با قطر ۱ سانتی‌متر ریخته شد. سپس میزان جذب آن در طول موج ۴۲۰ نانومتر به وسیله اسپکتوفوتومتر (شکل ۱) مدل UV-6300 (JENWAY, Benchtop, USA) اندازه‌گیری گردید. نتایج نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه و بر حسب واحد ایکومزا (IU) گزارش گردید:

$$C(IU) = 10^5 \times A / (L \times \text{Brix} \times \rho) \quad (1)$$

که A جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر؛ L طول مسیر عبور نور (mm)؛ Brix غلظت مواد جامد محلول در نمونه‌ها و ρ دانسیته نمونه‌ها می‌باشد.

۲-۳-۳-خاکستر

خاکستر نمونه‌ها به روش ساده کندانکتومتری و با استفاده از کندانکتومتر دیجیتالی مدل (WTW LF538, Germany) تعیین گردید. برای این منظور ۵ گرم ملاس را وزن کرده و داخل یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری ریخته و با آب مقطر که درصد خاکستر آن کم بود، به حجم رسانده شد. پس از مخلوط کردن محتوای بالن، الکتروود دستگاه را چند بار با آب شسته و سپس

درصد خاکستر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌ها بایستی در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد انجام شود [۶]. در صورت استفاده از دستگاه هدایت سنج، مقدار خاکستر نمونه طبق رابطه زیر تعیین می‌شود.

$$AC(\%) = FA \times (AS - AW) \times (4.5/m + \text{Bx}/1000) \times 0.0018 \quad (2)$$

که AC درصد خاکستر به روش هدایت سنجی، FA فاکتور تصحیح (در صورتی که دستگاه کاملاً تنظیم باشد این فاکتور حذف می‌شود)، AS هدایت الکتریکی محلول اندازه‌گیری بر حسب میکروزیمنس (Sμ)، AW هدایت الکتریکی آب مصرفی بر حسب میکرو زیمنس (Sμ) m وزن نمونه ملاس (g) و BX درصد ماده خشک شربت می‌باشد.

۲-۳-۴-غلظت کلوئیدها

غلظت کلوئیدها با استفاده از روش چرنیاویسکایا و همکاران (۱۹۹۵) و محاسبه فرمولی تعیین گردید. مطابق با این روش ۵ میلی لیتر از نمونه با ۵۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد به مدت ۱۵ دقیقه در یک بالن حجمی جوشانده شد. بعد از سرد کردن و صاف کردن (ashless filter-paper) نمونه، باقیمانده مواد روی فیلتر با استفاده از ۱۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۰ درصد شسته و در انتها تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند. سپس غلظت کلوئیدها براساس روش وزنی محاسبه و بر حسب گرم در لیتر گزارش شدند.

۲-۳-۵-طرح آزمایشات و آنالیزهای آماری

در این پژوهش برای بررسی و بهینه‌سازی تاثیر پارامترهای فرآیند آنزیمی روی متغیرهای وابسته (پاسخ‌ها) از روش سطح پاسخ استفاده گردید. روش سطح پاسخ یک مجموعه ویژه از تکنیک‌های ریاضی و آماری است که برای طراحی آزمایشات، مدل‌سازی و بهینه‌سازی فرایندها مفید می‌باشد [۱۱].

جهت بررسی صحت مدل از ضریب تبیین (R^2)، R^2 اصلاح شده و آزمون عدم تطابق استفاده می‌شود. از نظر آماری مدلی مناسب است که آزمون عدم تطابق آن معنی‌دار نبوده و دارای بالاترین مقدار R^2 و R^2 اصلاح شده باشد.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس و برازش داده‌ها در طرح مرکب مرکزی در جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس این نتایج مشخص شد که مدل چند جمله‌ای درجه دوم به شکل مناسبی با متغیرهای پاسخ (Y) برازش پیدا کرده است. با توجه به مقادیر بالاتر R^2 ، R^2 اصلاح شده و همچنین غیرمعنی‌دار بودن آزمون عدم تطابق مربوط به مدل‌های درجه دوم نتیجه می‌گیریم که در برازش داده‌ها مدل درجه دوم توان بیشتری را دارا می‌باشد (جدول ۲). R^2 برای همه متغیرهای پاسخ بالاتر از ۰/۸۵ بود که نشان می‌دهد مدل مورد نظر به شکل مناسبی تغییرات در پاسخ‌ها را پیش‌گویی می‌کند.

۳-۲- کدورت

نتایج آماری حاصل از تاثیر تیمارهای بتونیت و ژلاتین روی کدورت در جدول ۳ و شکل ۱ نشان داده شده است. بررسی تاثیر متغیرهای مستقل روی کدورت نشان می‌دهد که اثرات خطی غلظت بتونیت و pH در سطح ۰/۰۰۱ دارای اثر معنی‌دار بودند. اما تغییرات غلظت ژلاتین تاثیر معنی‌داری روی آن نداشته است ($P > 0/05$). همچنین می‌توان مشاهده کرد که از بین اثرات متقابل و کوادراتیک (درجه دومی) نیز تنها اثرات کوادراتیک دارای اثر معنی‌دار بودند. به طور کلی نتایج نشان می‌دهد که در دما و زمان ثابت، کدورت عمدتاً تحت تاثیر غلظت بتونیت و pH و تا حد کمتری غلظت ژلاتین قرار دارد (جدول ۳).

طراحی آزمایشات و آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار دیزاین اکسپرت مدل ۱۰/۰/۱ انجام گرفت. آزمایشات بر اساس طرح مرکب مرکزی صاف (CCRD) در پنج سطح و سه فاکتور با شش تکرار در نقطه مرکزی طراحی گردید. غلظت بتونیت (۲-۱۰ گرم بر لیتر)، غلظت ژلاتین (۰/۰۱-۰/۱ گرم بر لیتر) و pH (۳-۷) نیز به عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند. دامنه متغیرها بر اساس آزمایشات اولیه و پژوهش‌های پیشین انتخاب گردید. در آخر داده‌های بدست آمده از آزمایشات با یک مدل چند جمله‌ای درجه دوم برازش داده شدند:

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 \quad (3)$$

که b_0 ضریب ثابت، b_1 ، b_2 ، b_3 ضرایب خطی، b_{11} ، b_{22} ، b_{33} ضرایب درجه دوم، b_{12} ، b_{13} ، b_{23} ضرایب برهمکنش و X_1 (غلظت بتونیت)، X_2 (غلظت ژلاتین) و X_3 (pH ملاس) متغیرهای وابسته بودند. توابع پاسخ (Y) شامل کدورت، رنگ خاکستر و غلظت کلئیدها بود. کفایت مدل با استفاده از R^2 تعدیل (اصلاح) شده^۲ و تست عدم تطابق^۳ مورد بررسی قرار گرفت. بهینه سازی پاسخ‌ها نیز با استفاده از روش‌های بهینه یابی عددی و گرافیکی نرم افزار مذکور انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مدل‌سازی RSM (گزینش مدل مناسب)

به منظور حصول مدل‌های تجربی برای پیش‌بینی هر کدام از پاسخ‌ها (رنگ، کدورت، غلظت کلئیدها و خاکستر)، رابطه‌های خطی و چند جمله‌ای درجه دوم (رابطه ۳) بر داده‌های به دست آمده از آزمایش‌ها برازش شدند. سپس این مدل‌ها تحت آنالیز آماری قرار گرفتند تا مدل مناسب گزینش گردد. به طور متداول

2. adjusted R2

3. lack of fit

Table 2 Statistical analysis results of fitted model on the response data.

Source	R ²	Adjusted-R ²	p-Value for lack of fit
Turbidity			
Linear	0.67	0.61	0.00
Quadratic	0.95	0.91	0.05 ^{ns}
Color			
Linear	0.25	0.11	0.03
Quadratic	0.88	0.78	0.46 ^{ns}
Ash			
Linear	0.79	0.85	0.00
Quadratic	0.88	0.96	0.13 ^{ns}
CCs			
Linear	0.57	0.49	0.02
Quadratic	0.85	0.72	0.51 ^{ns}

ns = not significant.

Table 3 regression coefficients of the second-order polynomial model for the response variables(actual values).

Regression coefficient	Turbidity	Color	Ash	CCs
b ₀	-95.50	17061	+2.7	-8.42
b ₁	+4.40***	-1635***	-0.13***	+0.55*
b ₂	+47.79	-6670	-0.05***	40.96
b ₃	+35.70***	-2694***	-0.30***	2.87
bb ₁₂	-0.92	-5.9	-0.01***	-0.11
bb ₁₃	-0.29	147.1	+0.06*	-0.08
bb ₂₃	-2.82	+605.7	+0.01	-2.74
b ₁₁	-0.32*	+24.47	+0.03*	-0.02
b ₂₂	-29.40**	+2491	+0.01	-268.91*
b ₃₃	-2.72***	+323.2*	+0.09***	-0.18**

Subscripts: 1 = Bentonite concentration, 2 = Gelatin concentration, 3 = pH.

* Significant at 0.05 level.

** Significant at 0.01 level.

*** Significant at 0.001 level.

میزان کدورت نمونه‌های ملاس شد. افزایش غلظت بنتونیت کویانسو و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که با افزایش غلظت بنتونیت کارایی جذب یا حذف ترکیبات عامل کدورت در آب سیب توسط بنتونیت افزایش می‌یابد. در حذف ناخالصی‌های ملاس با استفاده از بنتونیت دو عامل اصلی جذب سطحی و تاثیر بارهای متقابل دخالت دارند. که کاهش میزان کدورت با افزایش غلظت بنتونیت بخاطر افزایش ناحیه سطح جذبی و افزایش در دسترس بودن مکان‌های جذب می‌باشد [۱۱]. همچنین در نتایج دیگر محققان مشخص شده است که افزایش دما نیز موجب بهبود

همانطور که در شکل ۱ (الف و ب) مشاهده می‌شود در غلظت بنتونیت و pH ثابت، تاثیر ژلاتین روی کدورت بسیار کم می‌باشد که تاییدکننده نتایج آماری جدول ۳ نیز می‌باشد. حاتمی کیا و همکاران (۲۰۱۳) و بنیتز و همکاران (۲۰۰۷) نیز نتایج مشابهی گزارش شده است. این محققان پدیده مذکور را به رقابت بین پروتئین‌های با بار مثبت (ژلاتین و پروتئین‌های موجود در شربت) برای اتصال با بنتونیت با بار منفی مربوط می‌دانند [۹، ۱۰]. برخلاف ژلاتین، افزایش غلظت بنتونیت تا سطح ۱۰ گرم بر لیتر مکعب (شکل ۱-الف) موجب کاهش قابل توجهی در

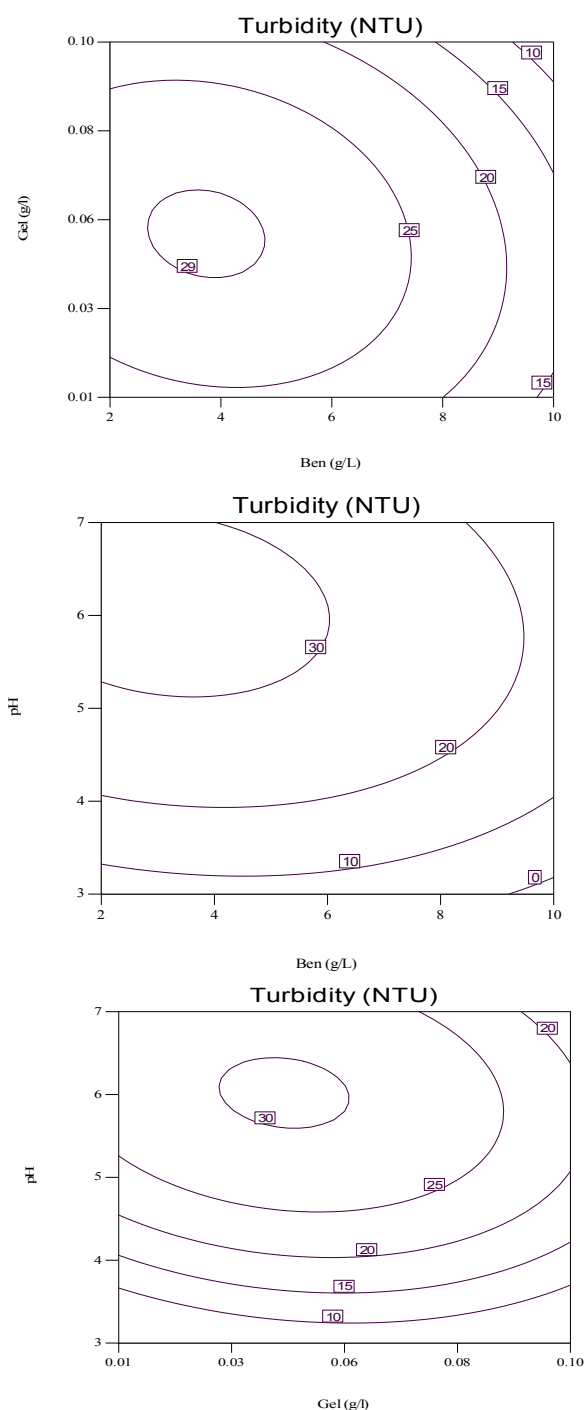


Fig 1 Contour plot for the effect of (a) bentonite concentrations and gelatin concentrations (pH = 5), (b) pH and gelatin concentrations (bentonite concentrations = 6), and pH and bentonite concentrations (gelatin concentrations = 0.055) on the turbidity of beet molasses.

شرایط جذب برای بنتونیت می‌گردد [۶، ۱۲] که در آزمایشات ما دمای ۷۵ درجه سانتی گراد مورد استفاده قرار گرفت. تغییرات pH نیز نشان داد که کاهش آن تاثیر بسیار قابل توجهی روی میزان کدورت نمونه‌ها دارد به طوری که با کاهش pH نمونه‌ها (تا حدود ۳) میزان کدورت نمونه‌ها تا سطح کمتر از ۱۰ NTU کاهش یافت. محققان کاهش کدورت بعد از کاهش pH را به تاثیر آن بر عملکرد ترکیبات شفاف‌کننده نسبت داده‌اند [۱۳]. یعنی pH به طور غیر مستقیم موجب کاهش کدورت می‌گردد. زیرا ترکیبات شفاف‌کننده (جاذب) در pHهای پایین دارای بار سطحی بیشتر و در نتیجه جایگاههای فعال بیشتری می‌باشند. در مطالعات پیشین نیز هنگام بررسی تاثیر pH روی کدورت شربت خام چغندر نتایجی مطابق با نتایج ما گزارش شده است [۶]. آنها گزارش کردند که با کاهش pH از ۶ به ۳/۵ جذب ناخالصی‌ها توسط بنتونیت به شکل قابل توجهی افزایش پیدا می‌کند. محققان استدلال کردند که pH مهمترین فاکتوری است که فرایند جذب ناخالصی‌ها توسط ترکیبات شفاف‌کننده را تحت تاثیر قرار می‌دهد. چرا که با کاهش آن یک برهمکنش الکترواستاتیکی قوی بین جاذب‌ها و ناخالصی‌ها صورت می‌گیرد [۱۴].

۳-۳- رنگ

بررسی اثر متغیرهای مستقل بر میزان رنگ نمونه‌های ملاس شفاف‌سازی شده با بنتونیت و ژلاتین نشان می‌دهد که میزان رنگ به غلظت بنتونیت و pH فرایند بستگی داشته و اثرات خطی آنها در سطح ۰/۰۰۱ در مدل معنی‌دار بود (جدول ۳). همچنین در جدول ۳ می‌توان مشاهده کرد که از بین اثرات متقابل و کوادراتیک نیز تنها اثر کوادراتیک pH ($P < ۰/۰۵$) دارای اثر معنی‌دار بود.

شکل ۲ اثر غلظت بنتونیت و ژلاتین (در pH ثابت)، غلظت ژلاتین و pH (در غلظت ثابت بنتونیت) و غلظت بنتونیت و pH (در غلظت ثابت ژلاتین) بر تغییرات رنگ را نشان می‌دهد.

این نتیجه رسیدند که کارایی حذف این ترکیبات توسط بنتونیت با کاهش pH افزایش می‌یابد. آنها گزارش کردند که بار سطحی بنتونیت در بازه‌ی pH مورد استفاده در آزمایشات (۱۱-۳) مثبت بود.

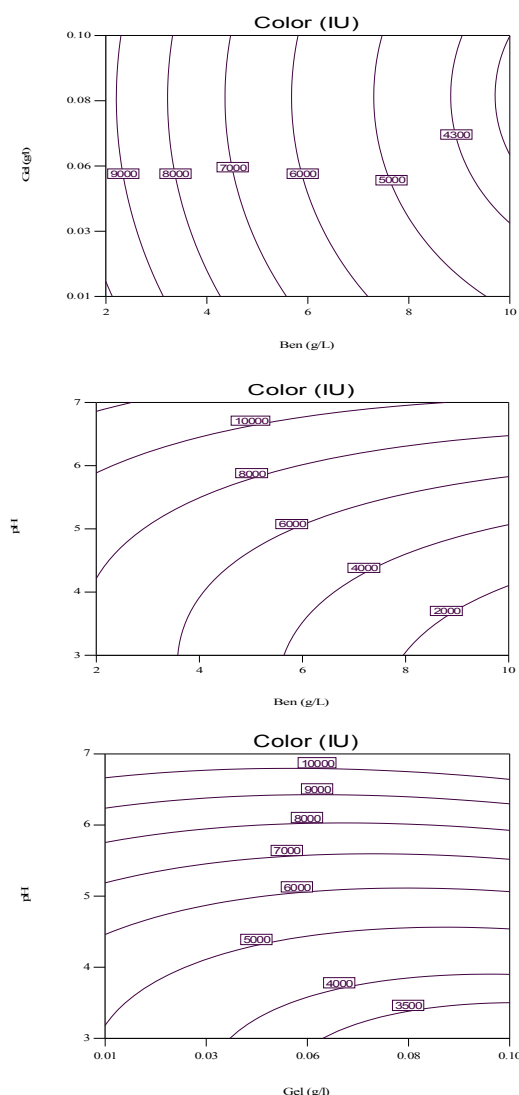


Fig 2 Contour plot for the effect of (a) bentonite concentrations and gelatin concentrations (pH = 5), (b) pH and gelatin concentrations (bentonite concentrations = 6 g/L), and pH and bentonite concentrations (gelatin concentrations = 0.055 g/L) on the color of beet molasses.

در pHهای پایین اکثر ملکول‌های رنگی می‌توانند جذب بنتونیت شوند. در ساختار رنگ‌های آنیونی گروه‌های SO_3^- وجود دارد.

۳-۴- خاکستر

به طور کلی، نتایج نشان داد که ژلاتین در حذف یا کاهش عوامل رنگی نمونه‌های ملاس چغندر مؤثر نیست. زیرا، در غلظت ثابت بنتونیت و pH ثابت، افزایش غلظت ژلاتین (۰/۱ تا ۱ گرم بر لیتر) تأثیر بررسی تیمارهای بنتونیتی نشان داد که افزایش غلظت بنتونیت می‌تواند سبب کاهش معنی‌داری در میزان رنگ ملاس شود (شکل ۲ الف و ب). کاهش رنگ در تیمار بنتونیت می‌تواند ناشی از جذب عوامل ایجادکننده رنگ روی فلوک‌های تشکیل شده در نتیجه اتصال بنتونیت با ناخالصی‌های با بار مثبت باشد. این نتایج مطابق با نتایج پژوهش آقا فرمانی و همکاران (۲۰۰۶) است. آنها گزارش کردند که کاهش عوامل ایجاد کننده رنگ و کدورت شربت خام نیشکر به وسیله بنتونیت در مدت زمان زمان ۶۰ دقیقه بسیار قابل توجه بود. همچنین، حذف ترکیبات کدورت‌زا و مواد رنگی را نیز به جذب سطحی و یا تأثیر متقابل بارها نسبت داده‌اند.

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها و نمودارهای رنگ نشان داد که pH تأثیر بسیار قابل توجهی بر میزان رنگ نمونه‌ها دارد، به طوری که با کاهش pH، میزان رنگ ملاس روند کاملاً نزولی را نشان می‌داد (شکل ۲). نتایج بدست آمده با تحقیقات برخی از محققان که به بررسی اثر بنتونیت-ژلاتین بر حذف ناخالصی‌ها از شربت چغندر پرداخته‌اند، مطابقت داشت [۶، ۱۵]. از شکل ۲-ج می‌توان دریافت که تأثیر همزمان کاهش pH و افزایش غلظت بنتونیت موجب کاهش قابل توجهی (> ۸۰٪) در محتوای رنگدانه‌های ملاس می‌گردد که با نتایج مودوگا و همکاران (۲۰۰۸) قابل مقایسه می‌باشد. آنها هنگام استفاده از تیمار زغال فعال روی رنگ شربت شکر و ملاس کاهش ۳۰ تا ۹۰ درصدی را گزارش کردند. در پژوهشی دیگر، قریب و همکاران (۲۰۱۷) کاهش ۸۵ درصدی در محتوای رنگدانه‌های شربت خام چغندر بعد از تیمار اکسیداسیون پیشرفته با هیدروژن پراکسید مشاهده کردند [۱۶]. همانطور که قبلاً ذکر شد غلظت بار منفی بنتونیت بسته به pH محیط و جنس بنتونیت متغیر می‌باشد. در pHهای اسیدی زتاپتانسیل بنتونیت از نظر بار منفی بالا است و به همین دلیل این نوع بنتونیت در محیط اسیدی برای جذب سطحی بهتر عمل می‌کند [۶]. لی و همکاران (۲۰۱۰) و شن و همکاران (۲۰۰۹) هنگام بررسی میزان جذب رنگ‌های آنیونی توسط انواع بنتونیت، به

خاکستر به نمک‌های محلول در آب ترکیبات معدنی و غیرمعدنی اطلاق می‌گردد که در ملاس اغلب به روش هدایت‌سنجی تعیین می‌گردد. خاکستر یکی از پارامترهای مهم برای تولیدکنندگان شکر است زیرا موجب ملاس‌زایی^۴ می‌گردد [۱]. بررسی تاثیر متغیرهای مستقل بر خاکستر نمونه‌های ملاس بعد از اعمال تیمارهای مختلف شیمیایی در جدول ۳ آورده شده است. نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده‌های خاکستر نشان می‌دهد که مقدار خاکستر به غلظت بتنونیت، ژلاتین و pH ملاس بستگی داشته و اثرات خطی متغیرهای بتنونیت ($p < 0/001$)، ژلاتین ($p < 0/001$) و pH ملاس ($p < 0/001$) و همچنین اثرات متقابل بتنونیت و pH و اثرات کوادراتیک pH معنی‌دار بود (جدول ۳).

همانطور که در شکل ۳ نیز پیدا است، میزان خاکستر نمونه‌های ملاس چندان تحت تاثیر ژلاتین قرار نگرفته است. با این وجود افزایش غلظت ژلاتین تا سطوح بالا (نزدیک به ۱ گرم بر لیتر) یا کاهش pH محیط به سطوح پایین‌تر (۳-۵)، موجب کاهش میزان خاکستر شده است. این کاهش می‌تواند ناشی از افزایش میزان بارهای مثبت در سطح ژلاتین باشد که در pHهای پایین شکل می‌گیرد و توانایی ژلاتین را برای جذب ترکیبات و عناصر با بار منفی افزایش می‌دهد. بر خلاف ژلاتین، افزایش مقدار بتنونیت تاثیر قابل توجهی بر خاکستر ملاس داشت به طوری که با افزایش غلظت بتنونیت میزان خاکستر نمونه‌ها به شکل معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۳). جاهد و همکاران (۲۰۱۴) نتایج مشابهی را هنگام شفاف‌سازی شربت خام چغندر با بتنونیت گزارش کرده‌اند [۶]. این نتایج همچنین مطابق با پژوهش مکمیر و همکاران (۲۰۰۸) است که گزارش کردند با افزایش غلظت بتنونیت در بازه ۰/۲ تا ۱۰ گرم بر لیتر درصد جذب کبالت در محلول آبی افزایش می‌یابد [۱۲]. دلیل افزایش درصد جذب عناصر با افزایش غلظت بتنونیت ناشی از افزایش ناحیه سطح جذبی و افزایش در دسترس بودن مکان‌های جذب می‌باشد [۱۷].

بررسی داده‌های حاصل از تاثیر متغیرهای مختلف (شکل ۳) بر خاکستر نشان داد که pH بیشترین تاثیر را بر میزان آن داشت، به طوری که با افزایش pH میزان خاکستر نمونه‌ها به شکل

چشمگیری کاهش پیدا نمود. جاهد و همکاران (۱۳۹۱) و آقا فرمانی و همکاران (۱۳۸۴) نیز نتایج مشابهی را برای شفاف‌سازی شربت خام چغندر و نیشکر (به ترتیب) گزارش کرده‌اند. مکمیر و همکاران نشان دادند که با افزایش pH در بازه ۲ تا ۶، جذب کبالت از محلول آبی توسط بتنونیت افزایش می‌یابد. آن‌ها عنوان کردند که افزایش pH موجب کاهش رقابت بین پروتون‌ها و یون‌های فلزی برای مکان‌های جذب در سطح بتنونیت می‌شود و در نتیجه یک افزایش جذب قابل توجهی در جذب یون‌های فلزی توسط بتنونیت صورت می‌گیرد [۱۲].

۳-۵- غلظت کلئیدها (CCs)

در ملاس چغندر ترکیبات پکتیکی به عنوان محافظ کلئیدها عمل می‌کنند [۱۸]. با اضافه کردن ترکیبات شفاف‌کننده به ملاس، پایداری کلئیدها از بین رفته و بدنبال آن ته‌نشینی توده‌ها می‌گردد. نتایج آماری حاصل از تاثیر تیمارهای بتنونیت و ژلاتین روی کلئیدها در جدول ۳ و شکل ۵ نشان داده شده است. بررسی تاثیر متغیرهای مستقل روی غلظت کلئیدها نشان می‌دهد که ضریب خطی غلظت بتنونیت در سطح ۰/۰۵ دارای اثر معنی دار بود. اما تغییرات غلظت ژلاتین و pH تاثیر معنی‌داری روی آن نداشته است ($P > 0/05$). همچنین می‌توان مشاهده کرد که از بین اثرات متقابل و کوادراتیک (درجه دوم) نیز تنها اثرات کوادراتیک (ژلاتین و pH) دارای اثر معنی‌دار بودند. به طور کلی نتایج نشان می‌دهد که در دما و زمان ثابت، غلظت کلئیدها عمدتاً تحت تاثیر غلظت بتنونیت و pH و تا حد کمتری غلظت ژلاتین قرار دارد (شکل ۴).

همانطور که در شکل ۴ نیز پیدا است، میزان خاکستر نمونه‌های ملاس چندان تحت تاثیر ژلاتین قرار نگرفته است. با این وجود افزایش غلظت ژلاتین تاثیر کوادراتیکی (درجه دوم) روی نمونه‌های ملاس دارد. به طوری که در ابتدا موجب افزایش و سپس موجب کاهش غلظت کلئیدها می‌گردد. به طور کل می‌توان نتیجه‌گیری کرد که ژلاتین تنها در غلظت‌های بالا می‌تواند موثر باشد.

^۴ -Melassigenic

با این وجود، بنتونیت تاثیر قابل توجهی روی غلظت کلوئیدها داشت. به طوری که متناسب با افزایش غلظت آن، غلظت کلوئیدها کاهش پیدا نمود. در شکل ۴-الف می توان مشاهده کرد که افزایش غلظت بنتونیت از ۲ به ۱۰ گرم بر لیتر موجب کاهشی بیش از ۵۰ درصد در مقدار کلوئیدها شده است که با نتایج دیگر محققان روی شربت خام چغندر قند قابل مقایسه می باشد [۱۹، ۲۰]. آنها با استفاده از میدان الکتریکی پالسی خلوص شربت خام چغندر را ۴۰ تا ۵۰ درصد افزایش داده بودند. قریب و همکاران (۲۰۱۸) برای تصفیه شربت خام چغندر از روش اکسیداسیون پیشرفته فنتون استفاده کردند. آنها مشاهده نمودند که استفاده از پودر آهن و هیدروژن پراکسید موجب کاهش ۸۵ درصد در میزان کلوئیدهای شربت خام می گردد [۱۶]. بررسی داده های حاصل از تاثیر pH بر غلظت کلوئیدها نیز نشان داد که pH نیز تاثیر مثبتی بر میزان آن داشت، به طوری که با کاهش pH میزان کلوئید نمونه ها به شکل چشمگیری کاهش پیدا نمود. این کاهش ممکن است ناشی از تغییر بار سطحی کلوئیدها باشد که موجب از بین رفتن دافعه الکترواستاتیکی بین کلوئیدها و در نتیجه ته نشینی آنها گشته است [۱۸].

۳-۶- بهینه سازی

شرایط عملیاتی بهینه برای تصفیه ملاس با استفاده از بنتونیت، ژلاتین و pH روی پارامترهای رنگ، کدورت و خاکستر با استفاده از تکنیک های بهینه سازی عددی^۵ و گرافیکی^۶ نرم افزار Design Expert جستجو شد. در علم ریاضیات، واژه بهینه سازی عددی به مطالعه مسائلی اطلاق می شود که جستجو برای یافتن حداکثر یا حداقل یک تابع حقیقی با استفاده از گزینش سیستماتیک مقادیر متغیرهای حقیقی یا صحیح از میان یک مجموعه امکان پذیر انجام می شود. در تکنیک مذکور، فضای پاسخ با استفاده از مدل های ایجاد شده و به منظور یافتن بهترین شرایطی که اهداف بهینه سازی مورد نظر را برآورده می کنند، جستجو می شود [۶، ۲۱]. بدین منظور، در ابتدا اهداف بهینه سازی را مشخص کرده و سپس سطوح پاسخ ها و متغیرهای مستقل تنظیم خواهد شد. برای این منظور رنگ، کدورت، خاکستر و غلظت کلوئیدها در حداقل مقدار خود در نظر گرفته شدند.

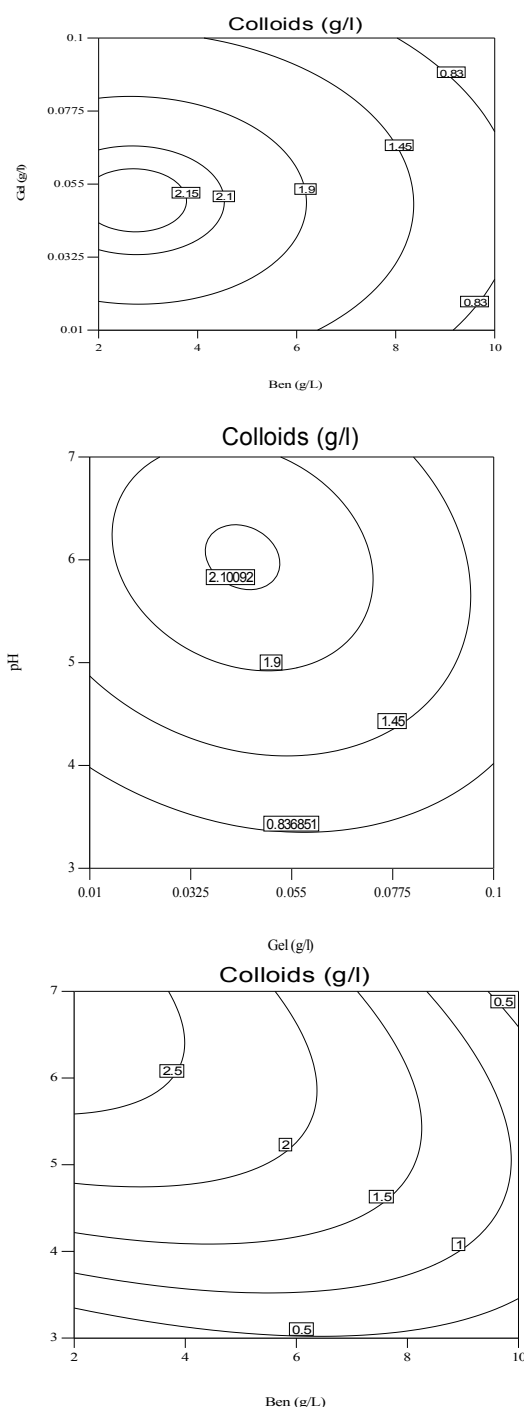


Fig 4 Contour plot for the effect of (a) bentonite concentrations and gelatin concentrations (pH = 5), (b) pH and gelatin concentrations (bentonite concentrations = 6 g/L), and pH and bentonite concentrations (gelatin concentrations = 0.055 g/L) on the colloid concentration of beet molasses.

5. Numerical optimization

6. Graphical optimization

در این نمودار نواحی که دارای بهترین شرایط ترکیبی از فاکتورها می‌باشند، نشان شده است.

۴- نتیجه‌گیری

در این مطالعه، دو ترکیب شفاف‌کننده بنتونیت و ژلاتین به طور موفقیت آمیزی برای شفاف‌سازی و حذف ناخالصی‌های عمده‌ی ملاس چغندر مورد استفاده قرار گرفتند. تأثیر شرایط عملیاتی (غلظت بنتونیت، غلظت ژلاتین و pH) روی شاخص‌های شفاف‌سازی (کدورت، رنگ و خاکستر) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بنتونیت به عنوان ترکیبی با بار سطحی منفی توانایی بالایی در حذف ناخالصی‌های عامل کدورت و رنگ از ملاس دارد. ژلاتین (با بار سطحی مثبت) نیز در بهبود شاخص‌های کیفی مورد مطالعه مؤثر بود، هرچند در مقایسه با بنتونیت کارایی به مراتب پایین‌تری داشت. تغییرات pH نیز مشخص کرد که با کاهش آن کارایی حذف ناخالصی‌های عامل کدورت و رنگ توسط ترکیبات شفاف‌کننده افزایش می‌یابد. برخلاف کدورت و رنگ، کاهش خاکستر تنها در pHهای بالا مشاهده گردید.

۵- منابع

- [1] Asadi, M., Beet-sugar handbook. 2006: John Wiley & Sons.
- [2] Lević, L., et al., Optimization of pH value and aluminium sulphate quantity in the chemical treatment of molasses. European Food Research and Technology, 2005. 220(1): p. 70-73.
- [3] Türkyılmaz, M., O. Yemiş, and M. Özkan, Clarification and pasteurisation effects on monomeric anthocyanins and percent polymeric colour of black carrot (*Daucus carota* L.) juice. Food chemistry, 2012. 134(2): p. 1052-1058.
- [4] Varnam, A. and J. Sutherland, Beverages: technology, chemistry and microbiology. Vol. 2. 1994: Springer Science & Business Media.
- [5] Koyuncu, H., et al., Adsorption of dark compounds with bentonites in apple juice. LWT-Food Science and Technology, 2007. 40(3): p. 489-497.

بنابراین، با منطبق کردن شرایط و نمودارهای این چهار پارامتر پاسخ (شکل ۶) شرایط بهینه برای شفاف‌سازی شربت خام چغندر بدست آمد که به شرح زیر می‌باشد:
غلظت بنتونیت: ۸/۳ گرم بر لیتر؛ غلظت ژلاتین: ۰/۰۸ گرم بر لیتر و pH: ۴/۰۳.

شربت شفاف‌سازی شده با این شرایط دارای حداقل مقدار کدورت (۱۲/۱ NTU)، رنگ (۲۵۷۳ IU)، خاکستر (۲/۷٪) و غلظت کلئیدها (۰/۹ g/L) بود. تصاویر نمونه شفاف‌سازی شده در نقطه بهینه و نمونه شاهد در شکل ۵ آورده شده است.

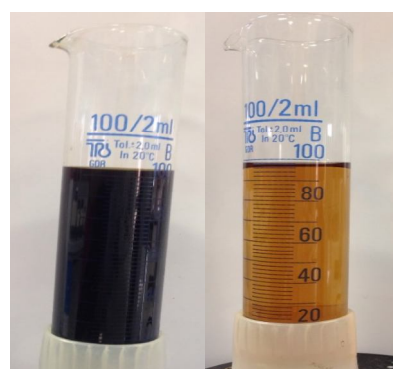


Fig 5 The image of clarified molasses syrup (right side) was refined at optimum condition and its comparison with control sample (left side).

شکل ۶ نمودار حاصل از منطبق سازی نمودارهای پاسخ برای بهینه‌سازی شرایط شفاف‌سازی را نشان می‌دهد.

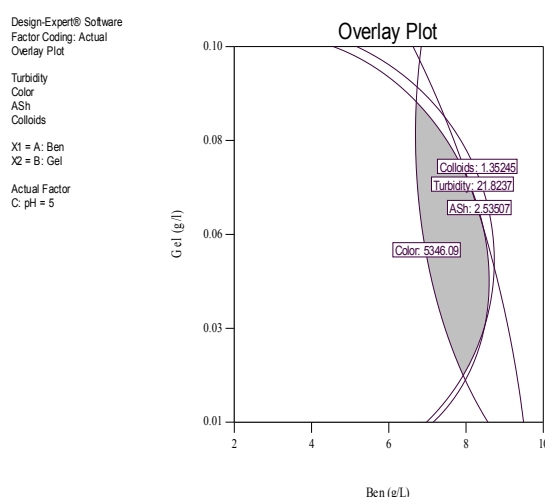


Fig 6 Optimum region (gray zone) identified by overlaying plots of the four responses (turbidity, color, concentration of colloids and Ash) as functions of pH and bentonite concentration at constant pH (5)

- bentonites. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2007. 15(5): p. 632-638.
- [15] Agha, F.B., K.M.H. Hadad, and J. Hesari, refining of raw sugarcane juice using bentonite and gelatin and its effects on colorants. Journal of Food Research 2010. 19/1(2): p. 1-11.
- [16] Gharib-Bibalan, S., et al., Better lime purification of raw sugar beet juice by advanced fenton oxidation process. 2018. 40(1): p. 54-63.
- [17] Elahi, M., The investigation of bentonite and gelatin effects on purification indexes of raw sugar beet juice to production of liquid sugar. Food Science and Technology, 2015. 12(48): p. 175-190.
- [18] Lević, L., et al., CaCl_2 , CuSO_4 and AlCl_3 & NaHCO_3 as possible pectin precipitants in sugar juice clarification. 2007. 42(5): p. 609-614.
- [19] Loginova, K., et al., Better lime purification of sugar beet juice obtained by low temperature aqueous extraction assisted by pulsed electric field. 2012. 46(1): p. 371-374.
- [20] Almohammed, F., et al., Purification of juices obtained with innovative pulsed electric field and alkaline pressing of sugar beet tissue. 2017. 173: p. 156-164.
- [21] Sit, N., S.C. Deka, and S. Misra, Optimization of starch isolation from taro using combination of enzymes and comparison of properties of starches isolated by enzymatic and conventional methods. Journal of food science and technology, 2015. 52(7): p. 4324-4332.
- [6] Jahed, E., M.H.H. Khodaparast, and A.M. Khaneghah, Bentonite, temperature and pH effects on purification indexes of raw sugar beet juice to production of inverted liquid sugar. Applied Clay Science, 2014. 102: p. 155-163.
- [7] Erdoğan, B., Ş. Demirci, and Y. Akay, Treatment of sugar beet juice with bentonite, sepiolite, diatomite and quartz to remove color and turbidity. Applied Clay Science, 1996. 11(1): p. 55-67.
- [8] Zoecklein, B., Bentonite fining of juice and wine. 1988: Virginia Cooperative Extension Service.
- [9] Benítez, E.I. and J.E. Lozano, Effect of gelatin on apple juice turbidity. Latin American applied research, 2007. 37(4): p. 261-266.
- [10] Hatamikia, M., A. Sani, and S. Zomorodi, Effect of different clarifying agents on the physico-chemical and microbial properties of grape juice concentrate. Journal of Innovation in Food Science and Technology, 2013. 5(1).
- [11] Garg, V., et al., Adsorption of chromium from aqueous solution on treated sawdust. Bioresource Technology, 2004. 92(1): p. 79-81.
- [12] Mekhemer, W., et al., Thermodynamics and kinetics of Co (II) adsorption onto natural and treated bentonite. 2008.
- [13] Bergaya, F. and M. Vayer, CEC of clays: measurement by adsorption of a copper ethylenediamine complex. Applied clay science, 1997. 12(3): p. 275-280.
- [14] Xifang, S., et al., Adsorption of protein from model wine solution by different

Purification of beet molasses using bentonite and gelatin: process evaluation and optimization

Arjeh, E.^{1*}, Pirouzifard, M. K.², Pirsā, S.³

1. PhD student in Food Technology, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia, iran
2. Associate Professor of Urmia University Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia, Iran

(Received: 2018/11/28 Accepted: 2019/05/04)

In this research, response surface methodology based on 3-factor 5-level central composite design was used to determine the effect of refining pretreatment variables on quality indexes of beet molasses. Hence, the effect of bentonite concentration (2-10 g/L), gelatin concentration (0.01-0.1 g/L) and pH (3-7) on turbidity, color, concentration of colloids (CCs) and ash of beet molasses were studied and well fitted by a quadratic polynomial model ($R^2 > 0.85$). The results showed that the pH was the main factor affecting the purification indexes as it had a significant effect on all responses. Bentonite and gelatin as two common clarifying agents improved the quality of molasses, although the ability of bentonite was much higher. The optimum condition for purification pretreatment was found as 8.3 g/L for bentonite, 0.08 g/L for gelatin and 4.03 for pH which were determined on minimization of the turbidity, color, concentration of colloids (CCs) and ash. At this condition, the turbidity, color, ash and concentration of colloids were calculated as 12.1 NTU, 2573 IU, 2.7, 0.9 g/L respectively.

Keywords: Beet Molasses, Bentonite, Gelatin, Response Surface Methodology

* Corresponding Author E-Mail Address: E.arjeh@gmail.com