



بهینه‌یابی استخراج پکتین از ضایعات سیب درختی به روش سطح-پاسخ

حامد جمشیدیان^۱، علی رافع^{۲*}، سید مهدی میرزابابایی^۳

۱- دانشجوی دکتری، گروه فرآوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

۲- دانشیار گروه فرآوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

۳- استادیار، گروه ماشین‌آلات مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۱۷

کلمات کلیدی:

استخراج،

بهینه‌یابی،

پکتین،

سیب، ژل.

DOI: 10.52547/fsct.18.117.207

* مسئول مکاتبات:

a.rafe@rifst.ac.ir

پکتین هتروپلی ساکارید و جزء ساختاری مهم دیواره سلولی گیاهان است که به طور گسترده‌ای به عنوان عامل ژل دهنده و پایدارکننده در صنایع غذایی استفاده می‌شود. این پژوهش با هدف بهینه‌یابی و ارزیابی کمی و کیفی استخراج پکتین از تفاله سیب درختی به روش هیدرولیز اسیدی در دمای بالا به عنوان روش سنتی از عمده‌ترین ضایعات صنایع تبدیلی کشور انجام گرفت. راندمان استخراج در دامنه pH ۱/۵ تا ۲، زمان ۶۰ تا ۹۰ دقیقه و دمای ۷۵ تا ۹۰ درجه سانتیگراد با استفاده از روش سطح-پاسخ (RSM) و طرح مربع مرکزی بهینه‌یابی شد. همچنین درجه استریفیکاسیون، مقدار اسید گالاکتورونیک، وزن معادل، محتوای متوکسیل، فعالیت و پایداری امولسیفایری و ظرفیت نگهداری آب و روغن پکتین تفاله سیب در شرایط بهینه تعیین گردید. نتایج نشان داد که در روش سنتی استخراج در pH ۱/۵، دمای ۹۰ درجه سانتیگراد و زمان ۹۰ دقیقه حداکثر بازده استخراج (۸/۸۳٪) مشاهده گردید. تحت شرایط بهینه استخراج (۹۰ دقیقه، دمای ۹۰ درجه سانتیگراد و pH ۱/۵)، پکتین با درجه استریفیکاسیون ۵۴٪ و اسید گالاکتورونیک ۶۸ mg/g حاصل گردید. وزن معادل، محتوای متوکسیل، فعالیت امولسیفایری و ظرفیت نگهداری آب پکتین تفاله سیب استحصالی نیز به ترتیب ۹/۸۱٪، ۵۵/۸٪، ۴ بدست آمد. نتایج نشان داد با تغییر شرایط استخراج می‌توان به پکتین با ویژگی‌های متفاوت فیزیکوشیمیایی دست یافت. همچنین، پکتین حاصل به روش سنتی از فعالیت امولسیفایری و پایدارکنندگی بسیار خوبی برخوردار است که می‌تواند در فرمولاسیون انواع محصولات امولسیون‌ی مورد استفاده قرار گیرد.

۱- مقدمه

کربوکسیلی استری شده به کل گروه‌های کربوکسیلی را درجه استری شدن (DE) می‌نامند، که نقش مهمی در خواص ژل‌کنندگی پکتین دارد. بسته به درجه استری شدن پکتین تجاری به دو گروه اصلی پکتین با متوکسیل بالا ($DE > 50\%$) و پکتین با متوکسیل پایین ($DE < 50\%$) (شکل ۱) طبقه‌بندی می‌شود [۶]:

High methoxyl pH: (۲-۳/۵) و مقدار زیادی قند (۷۵-۵۵ درصد)

Low methoxyl pH: (۲-۶)، با یا بدون مقدار زیادی قند و یا در حضور یون‌های دو ظرفیتی (Ca^{2+})

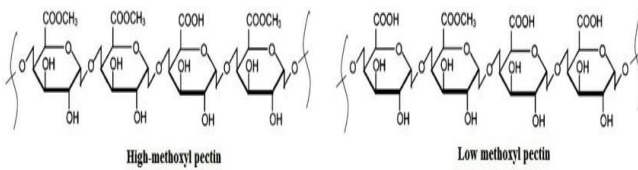


Fig 1 Chemical structure of high and low methoxyl pectin

پکتین در آب حل می‌شود ولی در الکل و یا سایر حلال‌های آلی حل نمی‌شود. باتوجه به ویژگی‌های حلالیتی آن، به صورت سنتی از بافت گیاهی مثل تفاله سیب و چغندر قند در حلال‌های آبی استخراج و توسط حلال‌های آلی رسوب داده می‌شود. با این وجود استخراج پکتین تنها به کمک آب کار دشواری می‌باشد زیرا به دیواره سلولی متصل می‌باشد. بنابراین برای استخراج پکتین از بافت گیاهی، به طور سنتی از محلول‌های اسیدی (به طور کلی اسید کلریدریک) استفاده می‌شود. برای استخراج پکتین از تفاله سیب معمولاً از محلول‌های اسیدی ($pH=1/5-3$) در دمای بالا استفاده می‌شود [۸]. در فرآیند مرسوم استخراج پکتین در مقیاس صنعتی، پکتین با آب داغ (۱۰۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد) اسیدی شده با یک اسید معدنی (مانند سولفوریک، فسفریک، نیتریک و هیدروکلریک) که pH آن به ۳-۱/۳ رسانده شده است در مدت ۰/۵ تا ۶ ساعت استخراج می‌شود. البته تعدادی از اسیدهای ارگانیک و نمک‌های آنها مانند اگزالیک اسید، آمونیوم اگزالات، تارتاریک اسید و پلی‌فسفات‌ها نیز به کار می‌روند [۱۱]. جدول (۱) فاکتورهای مؤثر در فرآیند استخراج پکتین را نشان می‌دهد [۹].

سیب با نام علمی *Malus domestica* میوه درختی سردسیری از خانواده گل‌سرخیان است. میزان زیادی از سیب تولیدی صرف تولید آب سیب، شربت سیب، مربا و سرکه می‌شود که طبیعتاً حجم زیادی تفاله سیب در این بین تولید می‌گردد. سیب چهارمین میوه درختی مهم جهان بعد از مرکبات، انگور و موز می‌باشد. طبق آمار فائو تولید جهانی سیب حدود ۸۳ میلیون تن است که ایران با تولید حدود ۲ میلیون تن در سال بعد از چین، آمریکا، لهستان، ترکیه و هند، ششمین کشور تولیدکننده سیب در دنیا محسوب می‌شود. میزان جذب سالانه سیب درختی توسط صنایع تبدیلی حدوداً یک سوم تولید کل آن در کشور بوده که به صورت فرآورده‌های مختلف مثل کنسانتره و آب‌میوه مصرف می‌رسد [۱]. تفاله سیب تقریباً بین ۱۰ تا ۱۵ درصد پکتین برحسب وزن خشک دارد [۲]. با وجود این منبع غنی، بسیاری از کشورها و کارخانجات این بخش را تحت عنوان ضایعات دور می‌ریزند. علاوه بر این به علت مرطوب بودن و دارا بودن ترکیبات قندی باعث فساد و مشکلات زیست‌محیطی نیز می‌گردد. بدین منظور، به صورت سنتی جهت خوراک دام و کنسانتره‌های غذایی به کار می‌رود [۳].

پکتین پلی‌ساکاریدی است که در دیواره سلولی، در قسمت لاملای میانی، دیواره سلولی اولیه و ثانویه بافت گیاهی وجود دارد [۴]. واژه پکتین برای اولین بار توسط شیمیدان فرانسوی به نام Heneri Braconnot در سال ۱۸۲۵ میلادی از زبان یونانی به معنی لخته^۱ اقتباس و به کار گرفته شد. میزان پکتین در سیب ۱/۵-۱ درصد؛ زردآلو ۱ درصد؛ گیلاس ۰/۴ درصد؛ پرتقال ۳/۵-۰/۵ درصد و در هویج تقریباً ۱/۴ درصد می‌باشد (۲۰). D-گالاکتورونیک اسید (D-GalA) که ایزومری از D-گلوکورونیک اسید (D-GlcA) می‌باشد به عنوان تشکیل دهنده اولیه کلیه پکتین‌ها شناخته شده است، که به این ساختار خطی زنجیره‌های جانبی قندهای خنثی دیگری مانند ال-رامنوز، ال-آرابینوز، دی-زایلوز و دی-گالاکتوز^۲ متصل شده است. شکل ۱ ساختار پکتین را نشان می‌دهد [۵].

برخی از گروه‌های کربوکسیلی واحدهای گالاکتورونیک اسید ممکن است با متانول استری شده باشند. نسبت گروه‌های

1. congealed, curdled

2. L-rhamnose, L-arabinose, D-xylose and D-galactose.

Table 1 Factors affecting the extraction of pectin [9,10]

Factor	effect
Operational conditions	<ol style="list-style-type: none"> 1. Temperature: Increases extraction efficiency but may cause poor pectin quality due to over-depolarization. 2. Extraction performance: increases and then decreases until the most optimal state. 3. Materials and Methods: As the solvent ratio increases, the extraction efficiency increases, but care must be taken to decompose the pectin. 4. Low pH (1 to 3) to break protopectin: Better quality pectin at lower efficiencies can be obtained at higher pH.
Matrix properties	<ol style="list-style-type: none"> 1. Particle size: Smaller particles lead to higher rates and performance to the extent that a large surface area allows contact between the solvent and the matrix. 2. The particle distribution should be low so that smaller particles do not prevent the solvent from coming into contact with larger particles. 3. The composition may affect how pectin binds to the material and the amount of binding.
Solvent properties	<ol style="list-style-type: none"> 1. Higher viscosity reduces mass transfer and production. 2. The polarity of the contrast between the matrix and the solvent is affected, thus affecting the yield, quantity and quality. 3. Toxicity is a factor for quality and safety. The use of GRAS solvents is essential in the food industry.
Preliminary operations	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cutting and extrusion make the particles smaller, which increases the extraction rate and efficiency. 2. Drying reduces moisture, changes the bond between pectin and the material, and achieves different extraction efficiencies. 3. Cellular disruption caused by the use of electric field or ultrasound intermittently or permanently to create better tissue will have better results in mass transfer rate, efficiency and extraction performance.

اتانول انجام شد. لین و همکاران (۱۹۷۸) اعلام کردند که افزودن مقداری اسید هیدروکلریک اسید به رسوب پکتین سبب درختی، موجب خالص سازی بهتر پکتین با اتانول می گردد. کیم و همکاران (۱۹۷۸) حلال های متفاوتی را برای استخراج پکتین در دماهای ۷۵ و ۹۵ درجه سانتیگراد به کار بردند و اعلام کردند بیشترین بازده استخراج به ترتیب توسط هیدروکلریک اسید، سولفوریک اسید، اگزالات آمونیوم و سدیم هگزامتافسفات و در دماهای ۹۵ و ۷۵ درجه سانتیگراد به دست آمد. زافیریس و اورئوپولو (۱۹۹۲) پکتین را از تفاله پرتقال توسط اسید نیتریک استخراج کردند، و درصد گالاکتورونیک اسید آن را بین ۶۸/۵ تا ۷۵ گزارش کردند. بر این اساس هدف این تحقیق استخراج پکتین از ضایعات سبب به روش اسیدی در دامنه دما و pH مختلف می باشد که به کمک تکنیک سطح-پاسخ شرایط بهینه استخراج تعیین و سپس ویژگیهای فیزیکی شیمیایی پکتین مورد بررسی قرار گرفت.

پانجو و همکاران (۱۹۸۹) سیتیک استخراج پکتین از تفاله سبب درختی را با استفاده از ۰/۰۵ درصد اسید نیتریک در دماهای ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سانتیگراد بررسی کردند و مشخص شد که بیشترین استخراج در بالاترین دما خواهد بود. در تحقیق دیگری استخراج پکتین با استفاده از تفاله سبب درختی در حضور اسید کلریدریک در دماهای مختلف صورت پذیرفت. نتایج پیش بینی شده نشان داد که پلی ساکاریدهای محلول در دماهای بالاتر به راندمان بالاتری دست می یابند [۱۲]. الناوایی و شواتا (۱۹۸۷) بیان کردند که کاهش اندازه ذرات به دلیل افزایش سطح تماس بین ماتریس و حلال، راندمان استخراج افزایش می یابد. لازم به ذکر است که ذرات بیش از حد کوچک می توانند مانع جریان حلال شود. علاوه بر این، توزیع اندازه ذرات بایستی کاملاً محدود باشد تا از فرار گرفتن ذرات بسیار کوچک در بین ذرات دیگر و آفت فشار جریان حلال اجتناب گردد [۱۳]. برادک و همکاران (۱۹۷۸) با استفاده از اسید نیتریک یک نرمال در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد و مدت ۶۰ دقیقه، پکتین را با بازده ۴/۱٪ از تفاله لیمو ترش (Meyer Lemon) استخراج کردند. ارسالان و طغرل (۱۹۹۶) توانستند توسط هیدروکلریک اسید، پکتین را با بازده ۲۱/۸٪ از پوست گریپ فروت استخراج کنند. پس از استخراج با اسید، رسوب گذاری پکتین و خالص سازی آن با استفاده از

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تفاله سبب

تفاله مرطوب سبب درختی (که در تهیه پوره سبب درختی به کار می رود) را از مجتمع صنایع غذایی اصفهان (آیدا بین

اضافه شد. درب ارلن مایر گذاشته و روی هات پلیت به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق همزدن صورت گرفت. سپس، ۱۰ میلی-لیتر اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال اضافه کرده و تا ظهور رنگ صورتی با سود ۰/۵ نرمال (V₂) تیتراسیون ادامه یافت. درجه استریفیکاسیون از رابطه زیر بدست آمد [۱۶].

$$DE = V_2 / V_2 + V_1 \times 100$$

۲-۵- محتوای گالاکتورونیک اسید

۱ میلی‌لیتر از محلول پکتین (۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر ۱۰/ میلی گرم پکتین) با ۶ میلی لیتر محلول اسید سولفوریک غلیظ مخلوط شده و به مدت ۲۰ دقیقه استراحت داده شد. سپس، ۲۰۰ میکرولیتر محلول کاربوزول ۰/۱٪ (در حلال اتانول) اضافه شده و برای رسیدن به رنگ صورتی ۲ ساعت استراحت داده شد. جذب اتمی در ۵۲۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفومتر انجام گرفت. میزان گالاکتورونیک اسید از محلول استاندارد گالاکتورونیک اسید (۰-۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) قرائت و به صورت (mg/gr) بیان گردید [۱۷].

۲-۶- وزن معادل

۰/۵ گرم پکتین با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و در ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت همزده، و پس از افزودن ۱ گرم NaCl با NaOH ۰/۱ نرمال در حضور معرف فنل فتالین (۵ قطره) تیترا شد. وزن معادل از رابطه زیر محاسبه شد [۱۷].

$$Eq.W =$$

$$\frac{\text{گرم وزن پکتین} \times 1000}{\text{میلی لیتر سود مصرفی} \times \text{نرمالیه سود مصرفی}}$$

میلی لیتر سود مصرفی × نرمالیه سود مصرفی

۲-۷- محتوای متوکسیل (%)

به وسیله محلول خنثی حاصل از روش سنجش Eq.W حاصل شد. محلول خنثی با ۲۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۲۵ مولار NaOH مخلوط شده و برای ۳۰ دقیقه در دمای اتاق استراحت داده شد. سپس، ۲۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۲۵ مولار HCL اضافه کرده و با NaOH ۰/۱ مولار تیترا گردید. مقدار متوکسیل از رابطه زیر بدست آمد [۱۷].

$$= \text{محتوای متوکسیل}$$

$$\frac{1,3 \times \text{میلی لیتر سود مصرفی} \times \text{نرمالیه سود مصرفی}}{\text{گرم وزن پکتین}}$$

$$\text{گرم وزن پکتین}$$

الملل) تامین شد. ساقه، هسته و دیگر مواد خارجی به صورت دستی جدا شد. سپس، تفاله سیب درون آسیاب ریخته شده تا اندازه ذرات کوچک‌تر شود.

۲-۲- استخراج به روش سنتی

۱۰ گرم پودر تفاله سیب را در حمام آب گرم با کنترل دما و همزن با نسبت جامد به حلال، ۱:۲۵ (حجمی/وزنی) به اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال اضافه کردیم. پس از خنک شدن سوسپانسیون تا دمای اتاق در آب سرد، در ۱۵۰۰ RPM به مدت ۶۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. قسمت رویی لوله‌های فالكون را جمع آوری و تا یک چهارم حجم اولیه تغلیظ شد. سپس، pH محلول را با NaOH ۰/۱ نرمال به ۲ رسانده و پکتین را با افزودن ۲ برابر اتانول ۹۶٪ رسوب دادیم. نمونه به مدت ۱۲ ساعت استراحت داده تا دو فاز شود. قسمت رسوب کرده توسط فیلتراسیون جدا و دو مرحله با اتانول ۶۰٪ و دو مرحله با اتانول ۷۰٪ و در نهایت یک مرحله با اتانول ۹۶٪ شستشو داده شد. تمامی مراحل شستشو با اتانول روی همزن به مدت ۳۰ دقیقه برای حذف ناخالصی‌هایی همچون مونو و دی‌ساکاریدها خواهد بود. آنگاه، پکتین حاصله را برای حذف الکل پرس کرده و در آن تحت خلا ۴۰ درجه سانتیگراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد. پکتین حاصله در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد در تاریکی نگهداری شد [۷ و ۱۴]. در این روش دما (۷۵-۹۰ درجه سانتیگراد)، زمان استخراج (۶۰-۹۰ دقیقه) و pH (۱/۵ تا ۲) به عنوان فاکتورهای مستقل در نظر گرفته شدند.

۲-۳- اندازه‌گیری راندمان

مقدار بازده پکتین با تقسیم مقدار پکتین خشک استخراج شده بر مقدار ماده خشک اولی بدست آمد [۱۵]:

$$= \text{راندمان استخراج}$$

$$\frac{100 \times \text{وزن خشک شده پکتین}}{\text{وزن پودر تفاله}}$$

$$\text{وزن پودر تفاله}$$

۲-۴- درجه استریفیکاسیون

۲۰ میلی‌گرم نمونه پکتین را به وسیله اتانول مرطوب شد. سپس در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر در ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت قرار داده شد. ۵ قطره معرف فنل فتالین به محلول اضافه کرده و با سود ۰/۵ نرمال تیترا گردید (V₁). سپس ۱۰ میلی‌لیتر سود ۰/۵ نرمال جهت هیدرولیز به محلول

ریاضی است و برای مدل کردن و تجزیه و تحلیل مسائلی که در آن متغیر پاسخ تحت تأثیر چندین متغیر مستقل است به کار می رود. با کمک این طرح آماری، تعداد آزمایش‌ها کاهش یافته و کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل فاکتورها، قابل برآورد هستند. مهم‌ترین مسأله این تحقیق بررسی آثار اصلی و متقابل فاکتورها بود، از این رو طرح آماری سطح-پاسخ انتخاب شد. مدل مورد استفاده در RSM عموماً رابطه درجه دوم می‌باشد [۲].

روش سطح پاسخ، جهت یافتن حالت بهینه برهمکنش فاکتورها و برآورد بهترین شرایط بهینه فرآیند با کمترین تعداد آزمایش قابل اجراست. در این پژوهش به منظور بررسی ارتباط بین متغیرهای مستقل با متغیرهای پاسخ (وابسته) راندمان استخراج (%) معادله جمله‌ای مرتبه دوم زیر استفاده شد:

$$y_k = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} x_j^2 + \sum_{i < j}^k \beta_{ij} x_i x_j$$

که در معادله فوق y_k پاسخ‌های پیش‌بینی شده، X_i متغیرهای کد گذاری شده متغیرهای طبیعی (مستقل)، k تعداد متغیرها، β_0 ثابت مدل، β_j ضرایب متغیرها، β_{jj} ضرایب پارامتر درجه دوم و β_{ij} ضرایب اثرات متقابل متغیرها می‌باشند. ضرایب β از طریق انجام آزمایش و نهایتاً رگرسیون بدست آمدند. برآزش سطوح پاسخ و بهینه‌یابی فرآیند استخراج با استفاده از نرم افزار دیزاین-اکسپرت نسخه ۷ انجام شد، و تجزیه واریانس (ANOVA) روی ضرایب مدل درجه دوم با این نرم افزار انجام شد. این پژوهش، به روش کاملاً تصادفی در قالب طرح مرکب مرکزی مرکز سطح، بهینه‌یابی شد. هر فاکتور در سه سطح مختلف (۱-، ۰، ۱+)، دو نقطه محوری ($+\alpha$ و $-\alpha$) و شش تکرار در نقطه مرکزی برای و تخمین خطای آزمایش مطالعه شد (جدول ۲). در طرح مکعب مرکزی ۲۰ واحد آزمایشی حاصل شد (جدول ۵) [۲]. آخرین مرحله این مدل آماری، شامل ارائه گرافیکی رابطه مدل و تعیین شرایط عملیاتی بهینه بود که به وسیله نمودار رویه پاسخ و کنتور^۴ انجام پذیرفت.

۲-۸- فعالیت و پایداری امولسیفایری

ساختار امولسیفایری: برای (EA) Emulsifying activity و (ES) Emulsion stability امولسیون روغن در آب تهیه گردید: برای این روش ۵ میلی‌لیتر روغن آفتابگردان به ۵ میلی‌لیتر محلول ۰.۵٪ آبی (۰.۵٪ وزنی/وزنی) به همراه ۰.۲٪ سدیم آزاید به عنوان نگهدارنده اضافه شد. سپس محلول پیش امولسیون به وسیله هموژنایزر ۱۰۰۰۰g برای مدت ۴ دقیقه مخلوط شده و سپس در ۴۰۰ RPM به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. از رابطه زیر میزان فعالیت امولسیفایری تعیین گردید [۱۵].

Emulsion Activity% =

$$100 \times \frac{\text{ELV (حجم لایه ی امولسیون)}}{\text{TVS (حجم لایه ی سیستم)}}$$

برای پایداری امولسیون از روش مشابهی استفاده گردید. پس از ۱ و ۳۰ روز نگهداری امولسیون در دمای اتاق و یخچال (به ترتیب ۲۵ و ۴ درجه سانتیگراد) به روش زیر محاسبه شد [۱۵].

Emulsion Stability% =

$$100 \times \frac{\text{REL (حجم باقیمانده لایه ی امولسیون)}}{\text{IEL (حجم اولیه لایه ی امولسیون)}}$$

2-9- ظرفیت نگهداری آب (WHC) و

ظرفیت نگهداری روغن (OHC)

۱ گرم پکتین به ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر یا روغن آفتابگردان (با چگالی ۰/۹ گرم بر میلی‌لیتر) اضافه شده و سپس به مدت ۱ دقیقه همزده و به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. قسمت رویی حذف و قسمت زیرین وزن شد. WHC یا OHC به صورت گرم آب یا روغن که به وسیله ۱ گرم پکتین نگه داشته می‌شود بیان گردید [۱۵].

۲-۱۰- طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل آماری

روش سطح-پاسخ (RSM) مجموعه‌ای از روش‌های آماری و

Table 2 Experimental scope of the design used in Design Expert software

Levels			Code	Unit	Factor
+1	0	-1			
90	82.5	75	X1	oC	Temperature
90	75	60	X2	min	Time
2	1.75	1.5	X3	-	pH

Table 3 Pectin extraction process conditions for traditional extraction method by Design Expert software with variable response values (efficiency)

Response		Variables			Run	Response		Variables			Run
Efficiency	pH	Temperature	Time	Efficiency		pH	Temperature	Time			
6.34	1.75	82.5	75	11	6.33	1.75	82.5	75	1		
5.83	2	82.5	75	12	5.5	1.75	82.5	60	2		
6.67	1.5	82.5	75	13	6	1.5	90	60	3		
6.67	1.5	75	60	14	5.5	2	75	90	4		
6.34	1.75	82.5	75	15	5.17	2	75	60	5		
6.17	2	90	60	16	6.83	1.75	90	75	6		
7.17	1.5	75	90	17	5.67	1.75	75	75	7		
6.5	1.75	82.5	75	18	6.17	1.75	82.5	75	8		
7	1.75	82.5	90	19	8.17	2	90	90	9		
6.5	1.75	82.5	75	20	8.83	1.5	90	90	10		

۳- نتایج و بحث

استفاده شد. نتایج آزمون lack of fits مدل‌های مختلف و ضرایب رگرسیون مدل‌های چند جمله‌ای مرتبه دوم در جدول ۴ آورده شده است.

در این پژوهش از روش سطح پاسخ طرح مرکب مرکزی مرکز سطح به منظور بهینه‌یابی استخراج پکتین به روش سنتی

Table 4 Lack of fits for different models and regression coefficients of second order polynomial models

Source	sum of squares	df	Mean squares	F value	P-value P>F	R ²	Adj R ²	Pred R ²
Linear	3.89	11	0.35	22.47	0.0015	0.96	0.93	0.80
2FI	0.88	8	0.11	6.96	0.0235	0.93	0.91	0.78
Quadratic	0.26	5	0.053	3.34	0.1056	0.97	0.95	0.84
Cubic	0.20	1	0.20	12.84	0.0158	0.94	0.93	0.82
Pure Error	0.079	5	0.016	-	-			

که pH آن به ۳-۳/۱ رسانده شده است در مدت ۰/۵ تا ۶ ساعت استخراج می‌شود. با افزایش دما و زمان استخراج و اسیدی‌تر شدن محیط (pH پایین‌تر) راندمان افزایش می‌یابد. بیشترین راندمان استخراج در دمای ۹۰ درجه، مدت زمان ۹۰ دقیقه و در pH ۱/۵ صورت گرفت (جدول ۳).

۳-۱- تأثیر متغیرهای مستقل بر راندمان

استخراج پکتین در روش سنتی

پکتین با آب داغ (۶۰-۱۰۰°C) اسیدی شده با یک اسید معدنی (مانند سولفوریک، فسفریک، نیتریک و هیدروکلریک)

Table 5 Results of analysis of variance (ANOVA) quadratic response level model for traditional extraction efficiency

Source	sum of squares	df	Average squares	F-Value	P-Value
Model	13.9	6	2.32	47.77	< 0.0001
A-pH	2.03	1	2.03	41.75	< 0.0001
B-Temp	3.40	1	3.40	70.15	< 0.0001
C-Time	5.14	1	5.14	105.89	< 0.0001
AB	0.89	1	0.89	18.33	< 0.0001
BC	2	1	2	41.23	0.0009
A2	0.45	1	0.45	9.28	< 0.0001
Remaining	0.63	13	0.049		
Pure error	14.53	19	2.32		

افزایش بازده استخراج پکتین با افزایش دما احتمالا به دلیل افزایش حلالیت این پلی ساکارید در حلال و به دنبال آن افزایش انتقال جرم آن از ذرات ترکیب جامد به داخل حلال می باشد [۲۱]. به طور کلی بالا بودن بازده استخراج پکتین در pH های پایین تر مربوط به تاثیر اسید بر دیواره سلولی ماده جامد اولیه و آزاد سازی پکتین در حلال می باشد. لذا هرچه pH استفاده شده پایین تر باشد تخریب دیواره سلولی بیشتر و میزان استخراج پکتین نیز بیشتر می شود [۲۲].

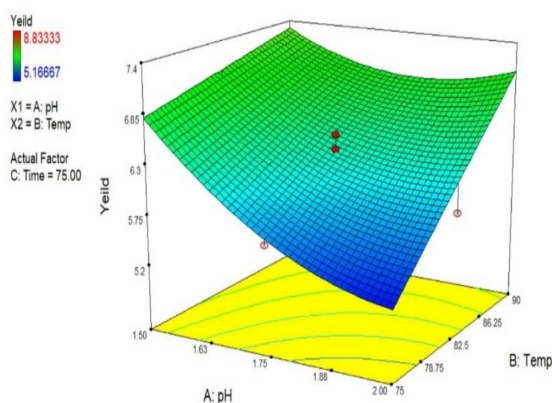


Fig 2 A 3D graph display; Simultaneous effect of pH and temperature on extraction efficiency in traditional method

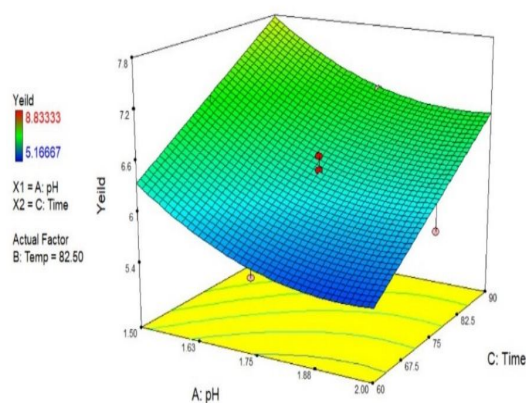


Fig 2 B 3D graph display; Simultaneous effect of pH and extraction time on extraction efficiency in traditional method

۲-۳- آزمون های فیزیکو شیمیایی پکتین

در جدول ۶ ویژگی های پکتین استخراج شده در حالت بهینه روش سنتی آورده شده است. که تاثیر زمان و دمای بالا بر کیفیت پکتین استخراج شده مشهود بود.

مطابق جدول ۵، آزمون برازش مربوط به مدل برازش یافته (چند جمله ای درجه دوم) بر پاسخ معنی دار می باشد ($p < 0.0001$). با توجه به مقادیر R^2 مندرج در جدول ۴ مربوط به مدل ها می توان دریافت؛ مدل چند جمله ای درجه دوم دارای مقادیر بالاتری است، بنابراین در برازش داده ها توان بیشتری را دارا می باشد. همچنین بر اساس Lack of fit حاصله، نرم افزار دیزاین اکسپرت مدل quadratic را پیشنهاد داده است. با توجه به جدول ۵، مدل درجه دوم کاسته برای راندمان از نظر آماری معنی دار بود ($p < 0.005$). مقدار بالای R^2 بیانگر قدرت بالای مدل در پیش بینی می باشد. نتایج حاصل از آنالیز واریانس بیانگر تاثیر معنی دار ($p < 0.005$) زمان، pH و دما بر بازده استخراج بود. از میان آثار متقابل فاکتورهای مورد بررسی اثر متقابل بین فاکتورها برای بازده از نظر آماری معنی دار بود که نشان دهنده وجود رابطه خطی توأم بین فاکتورهای مورد بررسی بر میزان بازده بود.

اثر همزمان pH - دما در زمان ۷۵ دقیقه بر بازده استخراج در شکل ۲A و اثر همزمان pH - زمان استخراج در دمای ثابت ۸۲/۵ درجه سانتی گراد بر بازده استخراج در شکل ۲B نشان داده شده است. بر این اساس، با افزایش دما از ۷۵ تا ۹۰ درجه سانتی گراد بازده به صورت خطی در محدوده تغییرات افزایش یافت؛ تاثیر مستقل pH بر بازده، بدون لحاظ نمودن سایر متغیرها، تقریبا به صورت خطی است به طوری که با کاهش pH، میزان بازده به نسبت بیشتری افزایش می یابد و معنی دار بودن اثر خطی pH مؤید آن است. زیاری و همکاران (۲۰۱۰)، مصباحی و همکاران (۲۰۰۵)، گارنا و همکاران (۲۰۰۷) و پاگان و همکاران (۲۰۰۱) نتایج مشابه را گزارش کردند [۱۶]. تجزیه پروتوپکتین موجود در تفاله سیب در pH اسیدی تر و دمای بالاتر دلیل اصلی این امر می باشد. همچنین با افزایش زمان استخراج از ۶۰ تا ۹۰ دقیقه نیز بازده استخراج پکتین افزایش می یابد.

محققین زیادی از جمله یاپو و همکاران در [۱۸] ۲۰۰۷، وای و همکاران در [۱۹] ۲۰۱۰ و چان و همکاران در [۲۰] ۲۰۱۳ دما را به عنوان یکی از فاکتورهای مهم در استخراج ترکیبات مختلف پلی ساکاریدی نظیر پکتین گزارش کرده اند. اگرچه احتمالا استفاده از دماهای بالاتر از ۹۰ درجه باعث افزایش راندمان استخراج می گردد اما بدلیل تخریب حرارتی بیش از حد پکتین استفاده از این دماها توصیه نمی شود [۱۹].

Table 6 Properties of pectin extracted in the traditional method

WHC	Emulsification stability				Emulsification activity	Metoxy Content	Eq.W	GLA	Degree of Esterification	Efficiency (%)	pH	Time (min)	T(°C)
	30 Day		1 Day										
	24 (°C)	4 (°C)	24 (°C)	4 (°C)									
4	86.9	89.5	89.75	92.1	48.8	7.9	909	54	58.73	8.83	1.5	90	90

۳-۳- بهینه‌یابی

دست آمد. نرم افزار شرایط بهینه متغیرهای مستقل را بر اساس هدف بیشینه یا کمینه متغیرهای پاسخ تعیین کرد و در این پژوهش برای استخراج، شرایط بهینه‌ای بر اساس بیشینه مقدار متغیر پاسخ راندمان استخراج و کمینه مقادیر متغیرهای دما و زمان استخراج و بیشینه مقدار pH (جهت کمترین آسیب به پکتین استخراجی) در نظر گرفته شد. جدول ۷ محلول‌های پیشنهادی را نشان می‌دهد.

با استفاده از روش تابع مطلوبیت (با استفاده از نرم افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۷)، چندین محلول برای تعیین شرایط بهینه داده‌های آزمایشی حاصل از استخراج پکتین به روش سنتی ارائه شد. محلول‌های پیشنهادی با استفاده از تابع مطلوبیت با درجه اهمیت ۳ نشان داد که شرایط بهینه استخراج پکتین در دمای ۸۲/۳۱ درجه سانتیگراد، زمان ۷۲/۰۷ دقیقه و pH ۲ به

Table 7 Results of optimization of pectin extraction by traditional method with response surface method (RSM)

Degree of desirability	Efficiency	Time	Temperature	pH	R
0.805	6.00624	72.07	82.31	2	1
0.805	5.99856	72.12	82.22	2	2
0.805	5.9991	71.77	82.38	2	3
0.805	5.99764	72.33	82.13	2	4
0.805	5.97781	71.67	82.22	2	5
0.805	5.04515	71.80	82.79	2	6
0.815	5.99959	70.84	82.80	2	7
0.823	5.81751	60	75	1.67	8
0.875	5.82926	60	75	1.66	9

۴- نتیجه گیری

را انتخاب کرد. بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نیز نشان داد که پکتین تفاله سیب، از فعالیت امولسیفایری و پایدارکنندگی بسیار خوبی برخوردار است، در نتیجه این نوع پکتین می‌تواند در فرمولاسیون انواع محصولات امولسیون کاربرد داشته باشد. نتایج نشان داد با تغییر شرایط استخراج می‌توان به پکتین با ویژگی‌های متفاوت فیزیکوشیمیایی دست یافت. همچنین، پکتین حاصل به روش سنتی از فعالیت امولسیفایری و پایدارکنندگی بسیار خوبی برخوردار است که می‌تواند در فرمولاسیون انواع محصولات امولسیون مورد استفاده قرار گیرد.

برای استخراج پکتین از بافت گیاهی، به‌طور سنتی از محلول‌های اسیدی (به‌طور کلی اسید کلریدریک) استفاده می‌شود. پارامترهای عملیاتی در فرآیند استخراج پکتین شامل زمان، pH و دما تأثیرات متفاوتی بر عملکرد و کیفیت پکتین از لحاظ کیفی و کمی داشته است. از بین آنها، زمان در تمام تجزیه و تحلیل‌ها قوی‌ترین تأثیر را نشان داده است. به‌طور کلی، افزایش زمان باعث افزایش عملکرد استخراج پکتین گردید. افزایش دما و کاهش pH نیز تأثیر معنی‌داری بر عملکرد پکتین داشتند. بیشترین راندمان پکتین در شدیدترین شرایط استخراج (دمای ۹۰ درجه سانتیگراد، مدت زمان ۹۰ دقیقه و pH ۱/۵) بدست آمد. همچنین می‌توان با تغییر پارامترهای فرآوری مرحله استخراج پکتین، راندمان‌ها و کیفیت‌های مختلف پکتین را بدست آورد. بنابراین، می‌توان شرایط عملیاتی مناسب بر اساس نیاز واقعی به عملکرد پکتین

۵- منابع

- [1] Lopez, N., Puertolas, E., Condon, S., Raso, J., and Alvarez, I. 2009b. Enhancement of the solidliquidextraction of sucrose from sugar beet (*Beta vulgaris*) by pulsed electric fields. *LWT-Food Sci Technol* 42: 1674-1680.

- engineering, vol. 2 – Particle echnology and separation processes. 5th ed. Woburn, MA: Elsevier.
- [14] Almohammed, Fouad, Houcine Mhemdi, and Eugène Vorobiev. "Purification of juices obtained with innovative pulsed electric field and alkaline pressing of sugar beet tissue." *Separation and Purification Technology* 173 (2017): 156-164.
- [15] Decareau, R. V. 1986. Microwave application in the food industry: A technical overview. Proceedings of the workshop on microwave applications in the food and beverage industry. Ontario Hydro, Toronto.
- [16] El-Nawawi SA, Shehata FR. 1987. Extraction of pectin from Egyptian orange peel. Factors affecting the extraction. *Biol Waste* 20(4):281-90.
- [17] Endreß, H. U. 2000. High quality resulting from product integratedenvironment protection-PIUS. *Fruit Processing*, 10, 273-276.
- [18] Fishman, M.L., Chau, H.K., Hoagland, P.D. and Hotchkiss, A.T., 2006. Microwave-assisted extraction of lime pectin. *Food Hydrocolloids*, 20(8):1170-1177.
- [19] Gachovska, Tanya, David Cassada, Jeyamkondan Subbiah, Milford Hanna, Harshavardhan Thippareddi, and Daniel Snow. "Enhanced anthocyanin extraction from red cabbage using pulsed electric field processing." *Journal of food science* 75, no. 6 (2010): E323-E329.
- [20] Guo, X. et al. 2012. Extraction of pectin from navel orange peel assisted by ultra-high pressure, microwave or traditional heating: A comparison. *Journal of Carbohydrate Polymers* 88, 441-446.
- [21] Huang, X., Li, D. and Wang, L.-j. 2017. Characterization of pectin extracted from sugar beet pulp under different drying conditions. *Journal of Food Engineering* 211: 1-6.
- [22] I.Hartati, I.Riwayati, E. Subekti, "Solvent Selection For Microwave Assisted Extraction Of Watermelon Rind Pectin", Proceeding of International Conference on Green Technology, ISSN:2355-3456, September 3rd, 2014.
- [23] Kai, P., Yan, Z., Sijin, W., Xiaojun, L. and Xiaosong, H. 2008. Effect of microwave drying pretreatment on extraction of pectin from apple pomace. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*.
- [2] Decareau, R., Microwave food processing equipment throughout the world. *Food technology (USA)*, 1986.
- [3] Rust S, and Buskirk D. 2008. Feeding apples or apple pomace in cattle diets. *Cattle Call* 13(4):2-3.
- [4] Marić, M., Antonela, N.G., Zhenzhou, Z., Francisco, J. Barba, M., and Suzana, R.B. 2018. An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in food science & technology* 76: 28-37.
- [5] Panchev, I. N., Kirtchev, N. A., & Kratchanov, C. 1988. Improvingpectin technology. II. Extracting using ultrasonic treatment. *InternationalJournal of Food Science and Technology*, 23, 337-341.
- [6] Richardson JF, Harker JH, Backhurst JR. 2002. Coulson and Richardson's chemical engineering, vol. 2 – Particle echnology and separation processes. 5th ed. Woburn, MA: Elsevier.
- [7] Adetunji, L. R., Adekunle, A., Orsat, V. and Raghavan, V. 2017. Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: A review. *Food Hydrocolloids* 62: 239-250.
- [8] Wikiera A, Mika M, Grabacka M. 2015a. Multicatalytic enzyme preparations as effective alternative to acid in pectin extraction. *Food Hydrocolloids* 44:156-61.
- [9] Oliveira, C.F., Giordani, D., Gurak, P.D., Cladera-Olivera, F., and Marczak, L.D.F. 2015. Extraction of pectin from passion fruit peel using moderate electric field and conventional heating extraction methods. *Innov Food Sci Emerg Technol* 29:201-208.
- [10] Yang N, Jin Y, Tian Y, Jin Z, Xu X. 2016. An experimental system for extraction of pectin from orange peel waste based on the o-core transformer structure. *BiosystEng* 148:48-54.
- [11] Kammerer, D.R., Kammerer, J., Valet, R., and Carle, R. 2014. Recovery of polyphenols from the by-products of plant food processing and application as valuable food ingredients. *Food Res Intl* 65(Part A):2-12.
- [12] Cho, Y. J., & Hwang, J. K. 2000. Modeling the yield and intrinsicviscosity of pectin in acidic solubilization of apple pomace. *Journal ofFood Engineering*, 44: 85-89.
- [13] Richardson JF, Harker JH, Backhurst JR. 2002. Coulson and Richardson's chemical



Optimization of pectin extraction from apple pomace by response surface methodology

Jamshidian, H. ¹, Rafe, A. ^{2*}, Mirzababae, S. M. ³

1. Ph.D student, Department of Food Processing, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.
2. Associate Professor, Department of Food Processing, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Food Machinery, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received 2021/ 01/ 23
Accepted 2021/ 06/ 07

Keywords:

Apple,
Extraction,
Optimization,
Pectin, Pomace,
Gel.

DOI: [10.52547/fsct.18.117.207](https://doi.org/10.52547/fsct.18.117.207)

*Corresponding Author E-Mail:
a.rafe@rifst.ac.ir

Pectin is a heteropolysaccharide which is widely used as a gelling and stabilizing agent in the food industry. The study aimed to optimize and evaluate the quantity and quality of pectin extraction from apple pomace by acid hydrolysis at high temperatures as a traditional method of the main wastes of the apple juice industries. Extraction efficiency was optimized in the pH from 1.5 to 2, 60 to 90 minutes and 75 to 90 °C by response-surface method (RSM) with using the central composite design. In addition, the esterification degree, amount of galacturonic acid, equivalent weight, methoxyl content, emulsion activity, stability of emulsifier and water/oil holding capacity of pectin were determined under optimal conditions. The results showed that the maximum extraction efficiency (8.83%) was achieved at pH 1.5, 90 °C and 90 minutes. The extracted pectin with a degree of esterification of 54% and galacturonic acid 68 mg/g was obtained at optimal conditions. Equivalent weight, methoxyl content, emulsifying activity and water holding capacity of extracted apple pectin were 916, 8.9%, 55.8% and 4, respectively. In overall, it can be possible to obtain different pectin with varying physicochemical properties with changing the extraction conditions. Furthermore, the extracted pectin had proper emulsion activity and stability which can be utilized in different emulsion based products.