

بهینه‌سازی استخراج پکتین از تفاله گوجه‌فرنگی به کمک امواج فراصوت با استفاده از روش

سطح پاسخ

مهدی زاهدی¹ - زهره حمیدی^{2*} - حسن احمدی گاولیقی³

تاریخ دریافت: 1396/12/06

تاریخ پذیرش: 1397/08/10

چکیده

پکتین هتروپولی‌ساکارید ساختاری دیواره سلولی گیاهان است و پس از استخراج به‌عنوان عامل ژله‌کننده در محصولات غذایی استفاده می‌شود. این پژوهش با هدف بهینه‌سازی و ارزیابی کمی و کیفی استخراج پکتین از تفاله گوجه‌فرنگی به‌عنوان یکی از عمده‌ترین ضایعات صنایع تبدیلی کشور انجام گرفت. همچنین از امواج فراصوت به‌عنوان روشی نوین و کارآمد جهت استخراج پکتین استفاده شد. راندمان استخراج و درصد گالاکتورونیک اسید پکتین در دامنه pH (1/5-2/5)، دمای (60-90°C)، زمان استخراج (30-6 دقیقه) و چگالی توان فراصوت (0/15-0/3 W/ml) با روش سطح پاسخ (RSM) بهینه‌سازی شد. همچنین درجه استری، ویسکوزیته ذاتی و خصوصیات امولسیفایری پکتین تفاله گوجه‌فرنگی در شرایط بهینه تعیین گردید. با توجه به نتایج حاصل، بیشترین راندمان (10/5%) و درجه خلوص پکتین (65%) در شرایط pH برابر 2، دمای 86°C، زمان 30 دقیقه و چگالی توان فراصوت 0/3 W/ml به‌دست آمد. تحت شرایط بهینه استخراج، پکتین با درجه استری و ویسکوزیته ذاتی به‌ترتیب 76% و 2/6 dl/g حاصل گردید. خصوصیات امولسیفایری پکتین استخراج شده در نقطه بهینه در سه سطح غلظت پکتین 0/25، 0/5 و 1% مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین فعالیت امولسیفایری (87/5%) در غلظت 1 درصد حاصل شد. با نگرانی امولسیون در دو دمای 4°C و 23°C، میزان پایداری امولسیون قابل توجهی (99%) در غلظت 0/25% در دوره زمانی سی روزه به‌دست آمد. نتایج نشان داد، تفاله گوجه‌فرنگی می‌تواند به‌عنوان منبع ارزان قیمتی از پکتین مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: استخراج پکتین، تفاله گوجه‌فرنگی، امواج فراصوت، فعالیت امولسیفایری.

مقدمه

استراز شکسته شده که منجر به نرمی بافت گیاه می‌گردد. پکتین به‌عنوان یک ترکیب محلول در آب بسیار سریع‌تر از سایر بسپارهای تشکیل‌دهنده بافت گیاهی توسط حلال‌های آبی خارج می‌شود و قابلیت استخراج آن بین گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است (Van Buren, 1991; Santos *et al*, 2013).

بسپارهای پکتین پیچیده‌ترین و متنوع‌ترین ساختار را در بین پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی گیاهان دارند. در کل مواد پکتینی شامل اسیدهای پکتیک استری شده با متانول، شکل استرزدایی شده پکتین یا نمک‌های اسید پکتیک می‌باشند. زنجیره‌های پکتین می‌توانند در برخی نقاط دارای استخلاف‌هایی از بسپارهای فندهای خنثی از جمله آرابینان، گالاکتان و آرابینوگالاکتان باشند. اصطلاح پروتوپکتین در واقع به شکل اولیه پکتین در ساختار دیواره سلولی قبل از استخراج، اطلاق می‌گردد (Willats *et al*, 2006).

پکتین به‌عنوان یک افزودنی طبیعی در بسیاری از صنایع به‌ویژه صنایع غذایی، دارویی و پزشکی کاربردهای فراوانی دارد. در صنعت غذا از خاصیت تشکیل ژل، تثبیت‌کنندگی، ایجاد بافت، امولسیفایری، قوام‌دهندگی، پرکنندگی و جایگزین چربی آن استفاده می‌شود.

پکتین هتروپولی‌ساکارید ساختاری است که در دیواره سلولی گیاهان دو لپه‌ای و برخی از تک لپه‌ای‌ها یافت شده و در حدود 35 درصد از ترکیبات تشکیل‌دهنده دیواره سلولی این گیاهان را شامل می‌شود. پکتین اساساً از به هم پیوستن واحدهای D-گالاکتورونیک اسید با پیوندهای گلیکوزیدی (4 و 1) تشکیل شده که در برخی نقاط زنجیره، می‌تواند با گروه‌های متیل، استری شده باشد. این ترکیب به‌صورت آزاد یا پروتوپکتین در دیواره سلولی اولیه و تیغه میانی سلول‌های گیاهی یافت می‌شود و از جمله وظایف آن؛ نقش به‌هم پیوستگی سلول‌های مجاور، استحکام دیواره سلولی، حفاظت‌کنندگی در مقابل بیماری‌ها و کنترل تخلخل دیواره‌ی سلولی می‌باشد. البته در طی رسیدن گیاه، توسط آنزیم‌های پکتیناز و پکتین

1، 2 و 3- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران.

* - نویسنده مسئول: (Email: hamidy_z@modares.ac.ir)

DOI: 10.22067/ifstrj.v15i2.71212

در فراوری صنعتی گوجه‌فرنگی، مقادیر زیادی از محصولات جانبی باقی می‌ماند که بیشتر پوست، دانه و اندکی پالپ گوجه‌فرنگی را شامل می‌شود. این محصولات در حال حاضر یا به‌عنوان ضایعات دفع می‌شوند و یا به مصرف خوراک دام می‌رسند، اما مقدار فراوانی از ترکیبات زیست فعال در این محصولات وجود دارد که آن‌ها را به‌عنوان منبعی ارزان قیمت جهت استخراج ترکیبات مفید و زیست فعال از جمله فیبر رژیمی مناسب می‌سازد (Grassino et al., 2016b). تاکنون در زمینه استخراج پکتین از تفاله گوجه‌فرنگی به روش متداول تحقیقاتی انجام گردیده است (Alancay et al., 2017). اما در رابطه با استخراج به کمک امواج فراصوت، بهینه‌سازی و مطالعه خواص امولسیفایری پکتین تفاله گوجه‌فرنگی گزارشی موجود نیست.

این پژوهش با هدف 1- ارزیابی تفاله گوجه‌فرنگی به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین ضایعات صنایع تبدیلی کشور ایران جهت استخراج پکتین از نظر کمیت و کیفیت پکتین، 2- استفاده از امواج فراصوت به‌عنوان روشی کارآمد در کاهش زمان استخراج و افزایش درجه خلوص، 3- بهینه‌سازی اثر متغیرهای فرایند برای دستیابی به بیشترین راندمان و درجه خلوص و 4- ارزیابی خواص امولسیفایری پکتین تفاله گوجه‌فرنگی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تفاله گوجه‌فرنگی از شرکت صنایع غذایی آتا، تولیدکننده رب گوجه‌فرنگی و محصولات کنسروی واقع در شهر تهران تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. تفاله به مدت 36 ساعت در دمای 60 درجه سلسیوس در آون خشک گردید، سپس توسط آسیاب برقی پودر شده و از الک با مش 60 عبور داده شد. پودر یکنواخت به‌دست آمده جهت مصارف تحقیقاتی بعدی در ظروف پلی‌اتیلنی در دمای محیط نگهداری گردید. سایر مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل نیتریک اسید، هیدروکلریک اسید، سدیم هیدروکسید، سدیم آزید، فنل فتالین و متانول از شرکت مرک آلمان، 3 و 5 دی متیل فنل و D- گالاتورونیک اسید از شرکت سیگما، کلرید سدیم، اتانول 96% و کلروفرم از شرکت مجلی ایران و روغن آفتابگردان محصول شرکت اویلا مورد استفاده قرار گرفتند.

حذف چربی از پودر تفاله گوجه فرنگی

به‌منظور حذف چربی و رنگدانه‌ها از روش ال-اکونا و همکاران (2011) با اندکی تغییرات، استفاده گردید. بدین ترتیب ابتدا توسط بافر سدیم استات (50mM با pH برابر 5) به مدت 5 دقیقه، در دمای 4°C سپس حلال کلروفرم-متانول (به نسبت 1:1) به مدت 30 دقیقه و در نهایت محلول آبی متانول (60% حجمی - حجمی) به مدت 35

همچنین در پزشکی و داروسازی از آن به‌عنوان فیبر غذایی برای درمان مشکلات گوارشی استفاده می‌گردد. بیشترین کاربرد پکتین در صنایع غذایی، استفاده از آن در تولید مرباها و ژله‌ها به‌عنوان یک ماده ایجاد کننده ژل و قوام‌دهنده است (Xu et al., 2014; Grassino et al., 2016b).

روش متداول استخراج پکتین، با استفاده از محلول اسیدهای معدنی (سولفوریک، فسفریک، نیتریک، هیدروکلریک یا سیتریک اسید) در دماهای (60-100°C)، pH بین 3-1/5 و زمان 6-1/5 ساعت انجام می‌شود. این فرایند زمان‌بر بوده و از لحاظ کمی و کیفی معایبی دارد (Xu et al., 2014). بسیار مهم است که برای تولید پکتین با راندمان و کیفیت بالا به دنبال روش‌های جدید و یا اصلاح روش‌های موجود باشیم. یکی از روش‌های نوین، استخراج به کمک امواج فراصوت است که تاکنون به صورت گسترده مورد بررسی قرار گرفته است (Xu et al., 2014). مطالعاتی در زمینه تأثیر امواج فراصوت بر ساختار سلولی بافت‌های گیاهی مختلف انجام شده و مشاهده شده است که این امواج باعث تخریب بافت‌های گیاهی و تسریع خروج محتویات داخل سلولی می‌شوند (Supardan et al., 2013; Anese et al., 2011). نتایج پژوهش‌های محققان در زمینه استخراج پکتین به کمک امواج فراصوت نشان از تأثیر این امواج در افزایش راندمان و کاهش مدت زمان استخراج دارد (Bagherian et al., 2011; Maran and Priya, Grassino et al., 2016a, b; Wang et al., 2015; Minjares-Fuentes et al., 2014; Xu et al., 2014, 2015).

منابع اصلی استخراج پکتین، تفاله سیب و پوست مرکبات می‌باشند اما با توجه به اینکه پکتین استخراج شده از منابع مختلف، بر اساس نوع مصرف، ممکن است خصوصیات منحصر به فردی داشته باشند لذا تحقیقات برای یافتن منابع جدید پکتین و مطالعه خصوصیات آن‌ها همچنان ادامه دارد و تاکنون مطالعات بر روی منابعی از جمله پوست گوجه‌فرنگی از ضایعات کارخانه کنسرو گوجه‌فرنگی (Grassino, et al., 2016a, b)، تفاله گوجه فرنگی (Alancay et al., 2017)، تفاله چغندر قند (Yapo et al., 2007)، طبق آفتابگردان (Iglesias et al., 2004)، پوست میوه کاکائو (Chan et al., 2013)، پوست درخت شاه توت (Liu et al., 2010)، تفاله هلو (Pagan et al., 1999)، ضایعات گیاه سیسال¹ (Santos et al., 2013)، پوست هندوانه (Prakash et al 2014)، غلاف دانه‌های سویا (Gnanasambandam et al, 1999)، کدو تنبل (Ptitchkina et al, 1994)، پوست موز (Hppi Emaga et al, 2008) و به ژاپنی² (Li et al, 2014) انجام گرفته است.

1 Sisal waste
2 Chaenomeles

روی پاسخ‌های مذکور با استفاده از روش سطح پاسخ و طرح باکس بنکن (Box behnken) با سه تکرار در نقطه مرکزی مورد مطالعه قرار گرفت. در نهایت شرایط بهینه استخراج با در نظر گرفتن بیشینه راندمان و درصد گالاکتورونیک اسید انتخاب شد و تایید کارایی بهترین فرمول ارائه شده توسط مدل نیز از طریق مقایسه نتایج حاصل از تولید آن با نتایج پیشگویی شده توسط مدل مورد بررسی قرار گرفت. متغیرها و سطوح انتخاب شده در جدول 1 مشاهده می‌شود.

جدول 1- نمایش سطوح کد شده و واقعی متغیرهای مستقل

سطوح			متغیرها
-1	0	1	Coded
1/5	2	2/5	X ₁
60	75	90	X ₂
6	18	30	X ₃
0/15	0/225	0/3	X ₄

اندازه‌گیری ویسکوزیته ذاتی

جهت تعیین ویسکوزیته ذاتی از ویسکومتر شیشه‌ای لوله موئین Cannon Instruments Co., No. 150, Cannon-Fenske,) (Germany; $k = 0.04137 \text{ mm}^2/\text{s}^2$ و معادلات هاگینز¹ و کرامر² طبق گزارش ایگلسیاس و لوزانو (2004) استفاده گردید (Iglesias et al, 2004).

اندازه‌گیری خصوصیات امولسیفایری پکتین

فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون با استفاده از روش دالو و سیمونو (1995) و یاپو و همکاران (2007) با اعمال تغییرات جزئی و در سه غلظت متفاوت از پکتین، و در سه تکرار اندازه‌گیری شد (Yapo et al, 2007; Dalev and Simeonova, 1995) بدین منظور ابتدا سه غلظت (0/5، 0/25، 0/5 و 1%) از نمونه پکتین در آب مقطر تهیه شد. در ادامه 5 میلی‌لیتر روغن آفتابگردان با 5 میلی‌لیتر محلول پکتین مخلوط گردید. در مرحله بعد جهت تهیه امولسیون، نمونه‌ها توسط هموژنایزر T18 (IKA، آلمان) با دور 10000 g به مدت سه دقیقه مخلوط گردیدند. سپس امولسیون ایجاد شده به لوله سانتریفیوژی 15 میلی‌لیتری منتقل و برای پنج دقیقه در دور 527 سانتریفیوژ شد. فعالیت امولسیونی با توجه به معادله 1 محاسبه شد.

$$EA\% = \frac{ELV}{W_v} \times 100 \quad (1)$$

در این معادله EA فعالیت امولسیفایری، ELV حجم لایه امولسیون شده و W_v حجم کل سامانه می‌باشد.

دقیقه عمل شستشوی چربی موجود در تفاله انجام گردید. در نهایت مخلوط حاصل، صاف شده و تفاله چربی گرفته در آون با دمای 50°C به مدت 12 ساعت خشک گردید. از تفاله چربی گرفته برای استخراج پکتین استفاده شد.

استخراج پکتین

بدین منظور از دستگاه فراصوت پروبی (فطر پروب 12 میلی‌متر، فرکانس 20kHz و حداکثر توان 400W)، ساخت شرکت توسعه فناوری مافوق صوت استفاده گردید. جهت تنظیم دمای فرایند استخراج، ظرف واکنش (رآکتور) از نوع دوجداره انتخاب شد و جریان آب برای تنظیم دما در جداره ظرف واکنش از طریق سیرکولاتور صورت گرفت. به‌منظور استخراج پکتین از تفاله گوجه‌فرنگی چربی گرفته به کمک فراصوت، ابتدا مقدار 2/5 گرم از پودر تفاله را وزن کرده و در 100 میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید (نسبت 1:40) سپس با استفاده از نیتریک اسید، pH بر روی مقدار مورد نظر تنظیم شده و به داخل ظرف واکنش منتقل گردید. نوک پروب دستگاه را به میزان 15 میلی‌متر پایین‌تر از سطح محیط در داخل ظرف واکنش قرار داده و استخراج به‌صورت پالسی (5 ثانیه روشن، 10 ثانیه خاموش) انجام گرفت. در پایان فرایند استخراج، محتویات ظرف واکنش را از صافی پارچه‌ای عبور داده و عصاره عبوری از صافی (حاوی پکتین) تا دمای محیط، سرد گردید. سپس محلول حاصل را با دور 12000g به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ کرده و عصاره رویی جدا شد. عصاره رویی را به نسبت 1:3 با الکل 96% مخلوط کرده و به مدت 12 ساعت در دمای یخچال نگهداری گردید. پکتین در داخل الکل نامحلول است و به‌صورت ابری شناور از محیط آب و الکل جدا شده و در سطح آن رسوب می‌کند. در نهایت پکتین با استفاده از الکل با مش 325 صاف شده و جهت دستیابی به خلوص بیشتر، دو بار با الکل 80% شستشو داده شد. در ادامه از آون با دمای 45°C به مدت 24 ساعت جهت خشک کردن پکتین استفاده گردید.

آزمون‌های شیمیایی

میزان رطوبت براساس روش استاندارد شماره 920/36 (AOAC, 1995)، درصد گالاکتورونیک اسید پکتین با روش اسکات (1979) و معرف 5و3 دی متیل‌فنل اندازه‌گیری شد (Scott, 1979). تعیین درجه استری به روش تیتراسیون و طبق گزارش Santos و همکاران (2013) انجام گرفت.

طراحی آزمایشات

برای بهینه‌سازی فرایند استخراج، راندمان و درصد گالاکتورونیک اسید به‌عنوان پاسخ در نظر گرفته شدند و اثر متغیرهای مستقل بر

4 مشاهده می‌شود؛ مدل رگرسیونی درجه دوم برازش داده شده برای راندمان پکتین در سطح آماری 5% از سطح معنی‌داری بالایی ($P < 0/0001$) برخوردار بوده و آزمون ضعف برازش مربوط به آن غیر معنی‌دار است. ضریب تبیین این مدل 0/98 و ضریب تبیین اصلاح شده آن برابر با 0/957 می‌باشد. این نشان می‌دهد که مدل به‌خوبی توانسته است تغییرات مشاهده شده در مقادیر راندمان را پیش‌بینی کند. همچنین نتایج آنالیز واریانس برای درصد گالاتکترونیک اسید در جدول 5 نشان می‌دهد که مدل درجه دوم از معنی‌داری خوبی برخوردار بوده ($P < 0/05$) و آزمون ضعف برازش مربوط به آن معنی‌دار نیست. R^2 و R^2 adjusted برای این مدل به ترتیب 0/838 و 0/925 به‌دست آمد و نشان می‌دهد مدل درجه دوم برای درصد گالاتکترونیک اسید نیز به‌خوبی برازش گردیده است.

معادلات زیر به‌عنوان مدل رگرسیونی برای پیش‌بینی پاسخ‌های راندمان و درصد گالاتکترونیک اسید به‌دست آمد که ارتباط تجربی بین پاسخ‌ها و متغیرهای فرایند را به‌صورت کدگذاری شده نشان می‌دهد (در این معادلات پارامترهای بدون اثر معنی‌دار حذف شده‌اند).

$$\text{Yield} = 91.7 - 98.1 X_1 + 29.2 X_2 + 62.0 X_3 + 15.1 X_4 - 59.0 X_{12} - 57.0 X_{42} - 6.0 X_1 X_2 - 75.0 X_1 X_4$$

$$\%GA = 35.66 + 75.2 X_1 - 88.2 X_2 - 92.1 X_3 - 84.0 X_4 - 41/3 X_1 X_1 - 82.3 X_2 X_2 + 41.2 X_1 X_2 + 1.2 X_1 X_3 + 91.2 X_3 X_4$$

اثر متغیرهای مستقل بر راندمان استخراج پکتین

نتایج آنالیز واریانس برای راندمان استخراج پکتین (جدول 4) نشان می‌دهد که اثر خطی هر چهار فاکتور معنی‌دار بوده ($P < 0/05$) و فاکتور دما بیشترین تأثیر را در افزایش میزان راندمان نشان داد. همچنین اثر درجه دوم متغیرهای pH و توان و اثر متقابل pH-توان مشاهده و pH-دما نیز معنی‌دار بودند. مطابق شکل 1 (الف، ج و د) مشاهده می‌شود که با افزایش دما، زمان استخراج و چگالی توان فراصوت، راندمان استخراج افزایش می‌یابد و شکل 1 (ب) بیانگر اثر معکوس pH بر راندمان استخراج پکتین است. در این منحنی‌ها ملاحظه می‌شود که شیب افزایش راندمان با افزایش دما نسبت به سایر متغیرها بالاست. افزایش دما و توان فراصوت در pH‌های پایین نسبت به pH‌های بالا، تأثیر بیشتری در افزایش راندمان استخراج دارد و این نشان‌دهنده معنی‌داری اثر متقابل pH با متغیرهای دما و توان فراصوت می‌باشد. تحقیقات انجام شده در زمینه استخراج پکتین نشان داده است که هر چقدر شرایط اسیدی قوی‌تر باشد باعث حالیت مقدار زیادی پکتین شده که وارد فاز حلال می‌گردد و باعث افزایش راندمان استخراج پکتین می‌شود. اگرچه ممکن است pH‌های پایین باعث تخریب ساختار پکتین شده و راندمان کاهش یابد (Moorthy *et al.*, 2015). عموماً با افزایش دما نیز آبکافت پروتوپکتین و نفوذ

برای مطالعه ویژگی پایداری امولسیون (ES)، به تعداد 4 نمونه امولسیون برای هر کدام از غلظت‌های پکتین و به ترتیبی که در بالا گفته شد، تهیه گردید. سپس نمونه‌ها همراه با 0/02% درصد سدیم آزید برای جلوگیری از رشد ریزاندامگان، به لوله‌های سانتریفوژ 15 میلی لیتری منتقل شدند. تعداد دو نمونه (به‌عنوان تکرار) تا دمای 4°C سرد شده و به مدت 5 دقیقه با دور 527g سانتریفوژ شد. حجم اولیه امولسیون (ELVi) یادداشت گردید و در دمای 4°C نگه‌داری شد. دو نمونه دیگر از امولسیون‌های تهیه شده به همان ترتیب و در دمای 25°C سانتریفوژ شد و پس از یادداشت حجم اولیه امولسیون، در همان دما نگه‌داری گردید. پس از دوره‌های یک و 30 روزه نمونه‌ها دوباره به ترتیبی که گفته شد، سانتریفوژ شده و حجم امولسیون باقی مانده (ELVf)، اندازه‌گیری شد. پایداری امولسیون با استفاده از معادله 2 محاسبه گردید.

$$ES\% = \frac{ELV_f}{ELV_i} \times 100 \quad (2)$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

طراحی آزمایش بهینه‌سازی و آنالیز نتایج حاصل از فرایند استخراج با استفاده از نرم‌افزار Design-Expert 7.0.0 انجام گرفت. ضرایب مدل با استفاده از رگرسیون خطی چندگانه (MLR) به‌دست آمد و برازش مدل به‌دست آمده با نتایج آزمایش، با استفاده از ضریب تبیین (R^2) و آزمون ضعف برازش (Lack of fit) ارزیابی شد. برای نشان دادن رابطه هر یک از متغیرهای وابسته در مدل رگرسیون با متغیرهای مستقل، نمودار سطوح آن‌ها به‌وسیله نرم‌افزار MODDE 7 (Umetric, Sweden) رسم گردید. به‌منظور مقایسه میانگین‌ها در آزمایش اندازه‌گیری خصوصیات امولسیفایری از نرم‌افزار SPSS 21 و آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید.

نتایج و بحث

گزینش مدل مناسب و تجزیه واریانس برای مدل‌های

برازش یافته با راندمان و درصد گالاتکترونیک اسید

نتایج حاصل از 27 تیمار فرایند استخراج برای راندمان و درصد گالاتکترونیک اسید در جدول 2 نشان داده شده است. پس از مقایسه R^2 ، R^2 تصحیح شده و R^2 پیش‌بینی شده برای مدل‌های مختلف (جدول 3)، مدل درجه دوم به‌عنوان مدل مناسب برای هر دو پاسخ انتخاب شد. به‌طور متداول جهت بررسی صحت مدل از ضریب تبیین (R^2) و آزمون ضعف برازش استفاده می‌شود. از نظر آماری مدلی مناسب است که آزمون ضعف برازش آن معنی‌دار نبوده و دارای بالاترین مقدار R^2 ، R^2 تصحیح شده و R^2 پیش‌بینی شده باشد. (Maran *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015). همانطور که در جدول

بالا است که باعث تخریب بافت گیاهی شده و راندمان استخراج پکتین افزایش می‌یابد. اما در دماهای بالا از میزان ویسکوزیته و کشش سطحی کاسته می‌شود و در نتیجه پدیده کاویتاسیون ماهیت خود را از دست داده و تضعیف می‌گردد که آن هم باعث کاهش میزان راندمان استخراج می‌گردد (Maran et al., 2015).

حلال به داخل بافت گیاهی بیشتر شده و در نتیجه پکتین بیشتری استخراج می‌شود. همچنین دما تاثیر بسیار مهمی در وقوع پدیده کاویتاسیون در هنگام استخراج با فراصوت دارد، به طوری که در دماهای پایین به دلیل ویسکوزیته بالای محیط و کشش سطحی بالا و همچنین بالا بودن میزان گازهای حل شده در محیط، تعداد هسته‌های کاویتاسیون و همچنین شدت انفجار حباب‌های ایجاد شده

جدول 2- تیمارهای استخراج با فراصوت و نتایج حاصل برای راندمان و درصد گالاتورونیک اسید

تیمار	متغیرهای مستقل				پاسخ‌ها	
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	راندمان (درصد)	گالاتورونیک اسید (درصد)
1	1/5	60	18	0/225	61/95±3/51	6/75±0/97
2	2/5	60	18	0/225	61/45±2/67	3/65±0/44
3	1/5	90	18	0/225	52/94±2/26	12/42±0/59
4	2/5	90	18	0/225	62/06±3/34	6/92±0/48
5	2	75	6	0/15	71/65±4/11	5/33±0/60
6	2	75	30	0/15	61/89±2/67	6/10±0/98
7	2	75	6	0/3	66/63±2/87	7/22±0/41
8	2	75	30	0/3	68/53±3/98	8/26±0/48
9	1/5	75	18	0/15	63/46±3/33	6/74±0/28
10	2/5	75	18	0/15	66/90±3/12	4/33±0/34
11	1/5	75	18	0/3	57/64±2/56	11/15±0/38
12	2/5	75	18	0/3	64/51±1/65	5/74±0/39
13	2	60	6	0/225	68/62±1/75	5/36±0/17
14	2	90	6	0/225	61/6±1/87	9/45±0/53
15	2	60	30	0/225	62/06±4/23	6/17±0/23
16	2	90	30	0/225	59/29±3/78	11/7±0/96
17	1/5	75	6	0/225	62/8±1/45	8/29±0/59
18	2/5	75	6	0/225	65/66±1/88	4/40±0/35
19	1/5	75	30	0/225	55/38±3/67	9/39±0/93
20	2/5	75	30	0/225	66/65±4/06	5/90±0/56
21	2	60	18	0/15	67/1±2/91	4/95±0/30
22	2	90	18	0/15	58/76±2/21	8/55±0/91
23	2	60	18	0/3	65/19±3/03	6/06±0/28
24	2	90	18	0/3	57/13±2/76	11/42±0/76
25	2	75	18	0/225	66/68±2/04	8/47±0/24
26	2	75	18	0/225	64/25±3/55	7/21±0/67
27	2	75	18	0/225	68/18±2/44	8/07±0/78

جدول 3- مقایسه ضریب تبیین مدل‌های مختلف برای دو پاسخ راندمان و درصد گالاتورونیک اسید

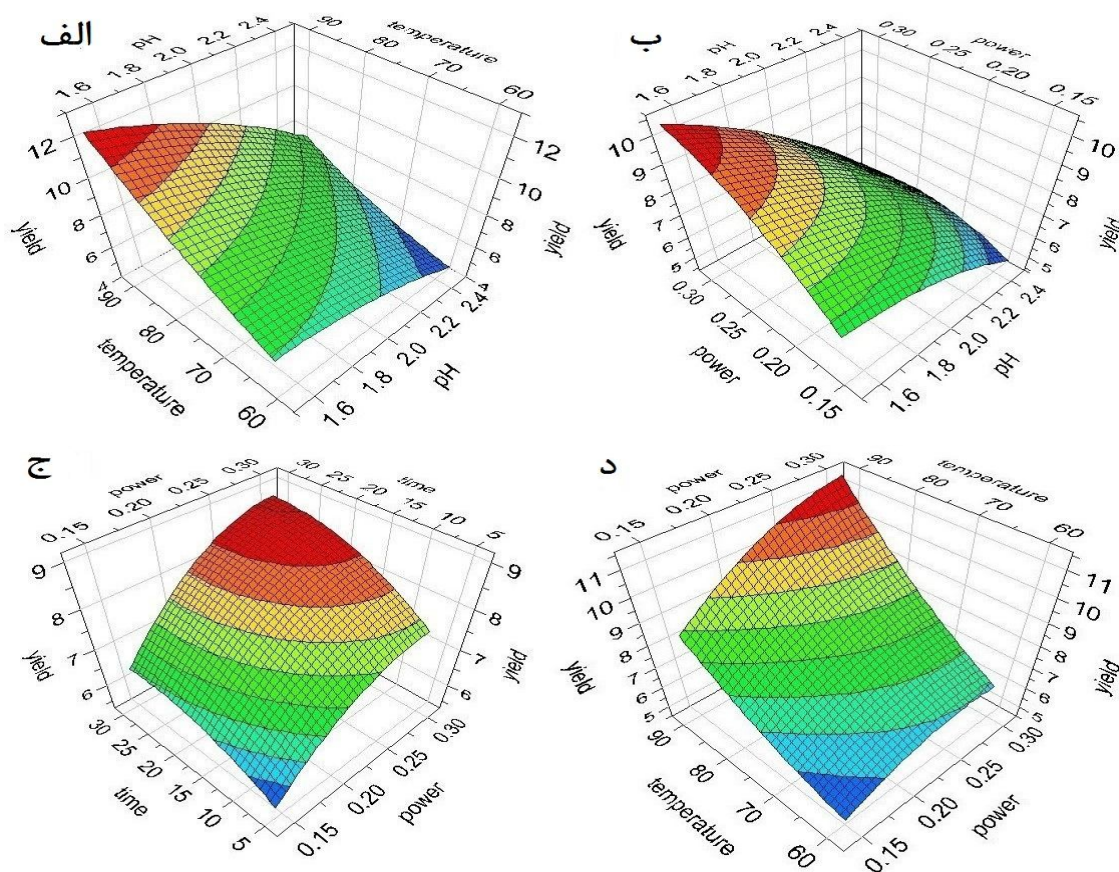
مدل	راندمان استخراج			درصد گالاتورونیک اسید		
	R ²	R ² اصلاح شده	R ² پیش بینی شده	R ²	R ² اصلاح شده	R ² پیش بینی شده
خطی	0/90	0/89	0/86	0/48	0/38	0/21
درجه دوم	0/98	0/96	0/91	0/93	0/84	0/62
مکعب	0/98	0/92	-0/02	0/97	0/84	-0/33

راندمان به صورت مستمر افزایش پیدا می‌کند. دلیل این تفاوت‌ها به اختلاف در نوع منبع استخراج، متغیرها، سطوح انتخاب شده و روش‌های مورد استفاده جهت استخراج می‌باشد. به خصوص اینکه با اندازه‌گیری میزان پروتئین در پکتین استخراج شده در نقطه بهینه، مشخص شد که پروتئین با میزان 16 درصد عمده‌ترین ناخالصی این نوع پکتین است. با توجه به اینکه هر دو بسپار پروتئینی و پکتین در این شرایط از قابلیت استخراج برخوردار هستند، این امر منجر به پیچیدگی خاصی در فرایند استخراج پکتین از تفاله گوجه‌فرنگی شده است. به طوری که با بالا رفتن شدت متغیرهای فرایند، تمامی پکتین موجود در تفاله گوجه فرنگی استخراج شده و در ادامه فرایند با استخراج پروتئین، راندمان همچنان بالا می‌رود اما از طرف دیگر درجه خلوص پکتین به دلیل استخراج ترکیبات غیر از پکتین کاهش خواهد یافت. Grassino و همکاران (2016) با به کارگیری فراصوت (37KHz) جهت استخراج پکتین از ضایعات کارخانه کنسرو گوجه‌فرنگی به راندمان 15/2 الی 18/5 درصد تحت دما و زمان‌های متفاوت دست یافتند. افزایش زمان استخراج از 15 الی 90 دقیقه تاثیر معنی‌داری بر روی راندمان نشان نداد، اما افزایش دمای استخراج از 60 به 80°C باعث افزایش راندمان گردید.

اثر کاویتاسیون در طول فرایند استخراج منجر به افزایش جذب آب و نفوذ حلال در بافت گیاهی شده و مواد جامد متورم می‌شوند. در نتیجه این تورم، حفراتی در دیواره سلولی گیاه ایجاد شده و با ادامه کاویتاسیون، خروج محتویات سلول تسریع می‌گردد. هرچه از زمان استخراج می‌گذرد پکتین بیشتری وارد فاز حلال می‌شود، البته ممکن است با قرار گرفتن طولانی مدت پکتین در معرض حرارت‌های بالا از میزان راندمان پکتین کاسته شود (Moorthy *et al.*, 2015). هر چقدر امواج فراصوت با توان و انرژی بیشتری وارد محیط استخراج شوند، جت‌های مایع با سرعت بالاتری ایجاد شده که به دیواره سلول‌ها برخورد کرده و بافت گیاه را متلاشی می‌کند، در نتیجه نفوذ حلال بیشتر شده، بافت گیاه متورم می‌شود و راندمان استخراج افزایش می‌یابد (Maran *et al.*, 2015). تاکنون بهینه‌سازی راندمان استخراج پکتین به کمک امواج فراصوت از منابعی مانند تفاله انگور (Minjares-Fuentes *et al.*, 2014)، ضایعات گیاه Sisal (Maran Sisal *et al.*, 2015) و ضایعات پوست انار (Moorthy *et al.*, 2015) و پوست گریپ فروت (Wang *et al.*, 2015) انجام گرفته است. در این پژوهش‌ها گزارش شده است که با شدیدتر شدن شرایط استخراج (کاهش pH، افزایش دما، زمان و توان فراصوت) تا حد معینی، راندمان استخراج پکتین افزایش و پس از آن کاهش پیدا می‌کند. اما در این پژوهش مشاهده شد که با شدیدتر شدن شرایط استخراج،

جدول 4- نتایج آنالیز واریانس مدل درجه دوم راندمان استخراج

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	ارزش F	ارزش P
مدل	141/83	14	10/13	42/46	< 0/0001
اثرات خطی					
pH (X ₁)	47/21	1	47/21	197/85	< 0/0001
دما (X ₂)	63/17	1	63/17	264/74	< 0/0001
زمان (X ₃)	4/65	1	4/65	19/50	0/0008
چگالی توان (X ₄)	15/98	1	15/98	66/99	< 0/0001
اثرات درجه دوم					
X ₁ ²	1/87	1	1/87	7/83	0/0161
X ₂ ²	0/75	1	0/75	3/13	0/1024
X ₃ ²	0/68	1	0/68	2/84	0/1177
X ₄ ²	1/74	1	1/74	7/30	0/0192
اثرات متقابل					
X ₁ X ₂	1/42	1	1/42	5/97	0/0310
X ₁ X ₃	0/041	1	0/041	0/17	0/6871
X ₁ X ₄	2/25	1	2/25	9/43	0/0097
X ₂ X ₃	0/52	1	0/52	2/18	0/1653
X ₂ X ₄	0/77	1	0/77	3/21	0/0985
X ₃ X ₄	0/018	1	0/018	0/077	0/7858
باقی مانده	2/86	12	0/24		
Lack of Fit	2/03	10	0/20	0/48	0/8228
خطای خالص	0/84	2	0/42		



شکل 1- اثر متقابل متغیرها؛ الف: pH- دما، ب: pH- چگالی توان، ج: زمان - چگالی توان و د: دما- چگالی توان بر راندمان استخراج پکتین از نفاله گوجه‌فرنگی (دو متغیر دیگر در نقطه مرکزی ثابت در نظر گرفته شده است)

و پس آن به شدت کاهش می‌یابد (شکل 2 (الف و ب)). به عبارت دیگر در pHهای پایین‌تر از 2/1، با وجود افزایش راندمان، درجه خلوص کمتر خواهد شد. دلیل این اتفاق می‌تواند استخراج ترکیباتی غیر از پکتین و یا تخریب پکتین در pHهای پایین باشد و در صورتی که نسبت ناخالصی‌های استخراج شده بالا باشد، منجر به بالا رفتن راندمان و کاهش درجه خلوص خواهد شد.

در رابطه با دمای استخراج در شکل 2 (الف و ج) مشاهده می‌شود که با افزایش دما تا 75°C ، درصد گالاتورونیک افزایش و پس از آن به شدت کاهش می‌یابد. در این مورد هم تخریب حرارتی و یا استخراج ترکیبات غیر از پکتین می‌تواند دلیلی بر کاهش درجه خلوص در دماهای بالا باشد. Grassino و همکاران (2016) نیز گزارش کردند با افزایش دمای استخراج از 60 به 80°C در شرایط توان فراصوت و مدت زمان استخراج ثابت، درجه خلوص پکتین افزایش یافت. در شکل 2 (الف) اثر متقابل دو متغیر pH و دما باعث شده

اثر شرایط استخراج بر درصد گالاتورونیک اسید پکتین استخراج شده

تأثیر متغیرهای فرایند استخراج بر درجه خلوص پکتین با تأثیر آن‌ها بر راندمان استخراج متفاوت بود. به طوری که با کاهش pH و افزایش دما ابتدا درصد GA افزایش و پس از آن کاهش پیدا می‌کند و بیشترین درجه خلوص در زمان‌های کوتاه استخراج و توان پایین فراصوت حاصل شد. با توجه به نتایج آنالیز واریانس درصد گالاتورونیک اسید در جدول 5 مشاهده می‌شود که تمامی اثرات خطی به جز اثر خطی توان فراصوت معنی‌دار شده‌اند ($P < 0/05$)، همچنین اثر درجه دوم متغیرهای pH و دما و اثر متقابل pH- دما، pH- زمان و زمان- توان فراصوت نیز معنی‌دار بودند. در شکل 2 اثر متغیرهای فرایند استخراج بر روی درصد گالاتورونیک اسید به صورت منحنی‌های سطح پاسخ مشاهده می‌شود. به طوری که با کاهش pH تا حدود 2/1، درصد گالاتورونیک اسید با شیب کمی افزایش داشته

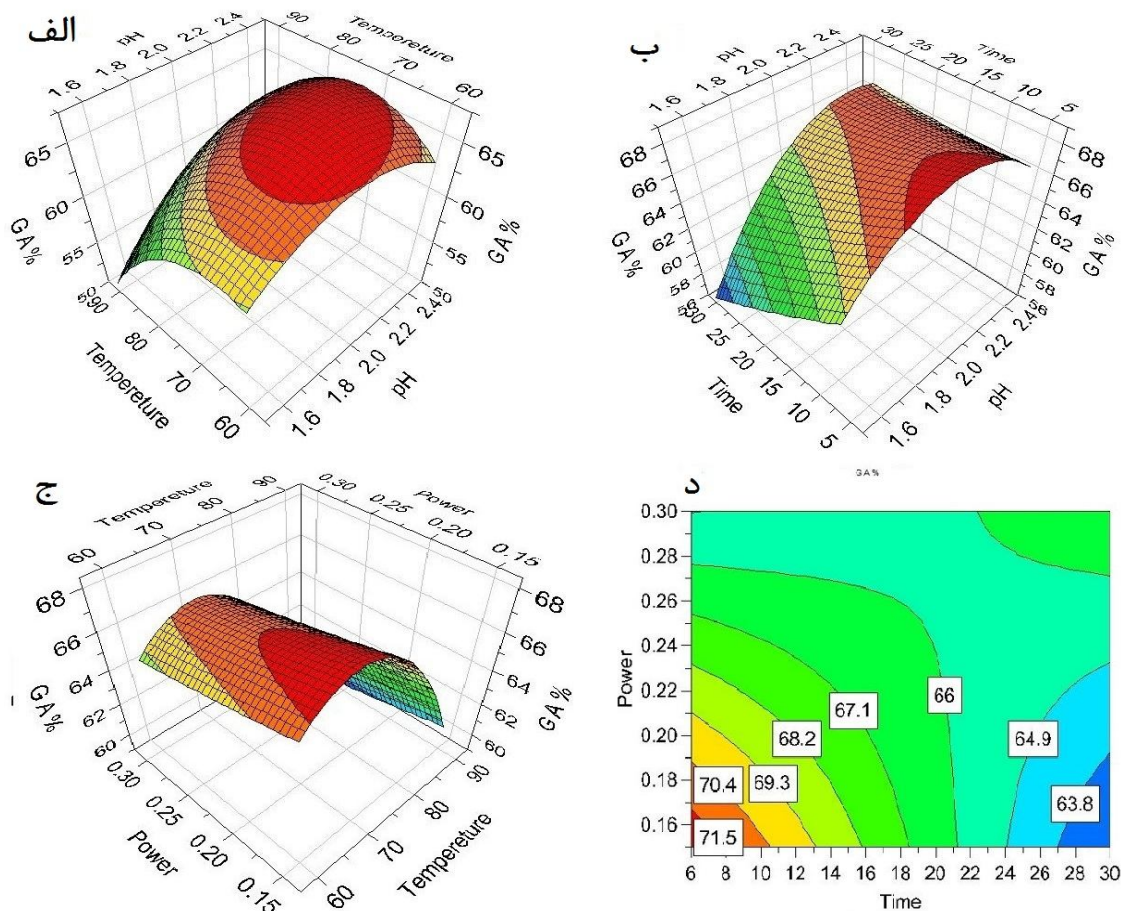
توان فراصوت اثر خطی معنی‌داری نداشت اما اثر متقابل آن با زمان معنی‌دار بود (شکل 2 د) به طوری که در زمان‌های کوتاه و توان پایین، درجه خلوص بیشتری حاصل شد و این نشان می‌دهد که در صورتی که پکتین به مدت طولانی در معرض امواج فراصوت با شدت بالا قرار گیرد تخریب شده و از میزان گالاکتورونیک اسید کاسته می‌شود. البته در این مورد هم استخراج ناخالصی‌ها در شرایط توان‌های بالا و زمان‌های طولانی می‌تواند در کاهش درجه خلوص پکتین موثر باشد.

Yapo و همکاران (2007) با بررسی اثر شرایط استخراج به روش متداول (pH، دما و زمان) بر درصد گالاکتورونیک اسید پکتین به این نتیجه رسیدند که در pHهای پایین، دماهای بالا و زمان‌های طولانی، درصد گالاکتورونیک اسید بیشتری حاصل می‌شود. با توجه به دلایلی که ذکر شد؛ از جمله تفاوت در ماهیت مواد اولیه، ابزار و شرایط استخراج، لذا نتایج آن‌ها متفاوت از نتایج حاصل از این پژوهش بود.

است که در شرایط pH بالا و دمای پایین درجه خلوص بهتری حاصل شود و این دو فاکتور به صورت همزمان بر روی هم اثرگذار هستند. زمان استخراج نیز تأثیر قابل توجهی بر روی درصد گالاکتورونیک نشان داد، به طوری که در زمان‌های پایین درصد گالاکتورونیک بیشتر بوده و با افزایش زمان استخراج، درجه خلوص کاهش پیدا می‌کند (شکل 2 ب و د). افزایش زمان قرار گرفتن پکتین در معرض حرارت بالا و pH پایین و همچنین استخراج ناخالصی‌ها در مدت زمان‌های بالا می‌تواند دلیل این پدیده باشد. البته با توجه به اینکه اثر متقابل زمان استخراج با pH معنی‌دار است، بنابراین در pHهای بالا، افزایش زمان استخراج، تأثیر کمی بر تخریب گالاکتورونیک اسید دارد (شکل 2 ب). Grassino و همکاران (2016) نیز با بررسی تأثیر مدت زمان استخراج پکتین با فراصوت بر درجه خلوص پکتین نتایج مشابهی به دست آوردند به طوری که با افزایش زمان استخراج در شرایط توان ثابت و دمای ثابت از میزان درصد ارونیک اسیدها کاسته شد.

جدول 5- نتایج آنالیز واریانس مدل درجه دوم درصد گالاکتورونیک اسید

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	ارزش F	ارزش P
مدل	473/76	14	33/84	10/58	0/0001
اثرات خطی					
pH (X_1)	90/95	1	90/95	28/43	0/0002
دما (X_2)	99/92	1	99/92	31/24	0/0001
زمان (X_3)	44/68	1	44/68	13/97	0/0028
چگالی توان (X_4)	8/53	1	8/53	2/67	0/1284
اثرات درجه دوم					
X_1^2	62/27	1	62/27	19/47	0/0008
X_2^2	78/03	1	78/03	24/39	0/0003
X_3^2	0/33	1	0/33	0/10	0/7540
X_4^2	0/033	1	0/033	0/01	0/9206
اثرات متقابل					
X_1X_2	23/29	1	23/29	7/28	0/0194
X_1X_3	17/68	1	17/68	5/53	0/0366
X_1X_4	2/93	1	2/93	0/92	0/3572
X_2X_3	4/51	1	4/51	1/41	0/2579
X_2X_4	0/02	1	0/02	0/006	0/9389
X_3X_4	34/01	1	34/01	10/63	0/0068
باقی مانده	38/38	12	3/20		
Lack of Fit	30/52	10	3/05	0/78	0/6824
خطای خالص	7/87	2	3/93		



شکل 2- اثر متقابل متغیرها الف: pH-دما، ب: pH-زمان، ج: چگالی توان- دما و د: منحنی دویعدی اثر متقابل چگالی توان- زمان بر درصد گالاکتورونیک اسید پکتین (در هر کدام از منحنی‌ها دو متغیر دیگر در نقطه مرکزی ثابت در نظر گرفته شده‌اند).

فراصوت، راندمان 4/5% و درصد گالاکتورونیک اسید 55% حاصل شد، که نشان می‌دهد استفاده از امواج فراصوت باعث افزایش راندمان و درجه خلوص پکتین گردیده است. Wang و همکاران (2015) با مقایسه دو روش متداول و فراصوت جهت استخراج پکتین از ضایعات میوه انگور مشاهده کردند که استفاده از فراصوت منجر به افزایش راندمان و درجه خلوص پکتین می‌گردد. به گزارش گراسینو و همکاران (1916) نیز استفاده از فراصوت در کاهش مدت زمان استخراج پکتین از پوست گوجه‌فرنگی بسیار موثر بود اما از نظر راندمان و درجه خلوص در روش متداول نسبت به روش فراصوت به نتایج بهتری دست یافتند به طوری که راندمان و درصد ارونیک اسید پکتین استخراج شده با روش متداول نسبت به روش فراصوت بیشتر بود. علت مغایر بودن نتایج این پژوهش می‌تواند به متفاوت بودن مواد اولیه، ابزار و شرایط استخراج مرتبط باشد. همچنین Alancay و

شرایط بهینه استخراج پکتین از تفاله گوجه‌فرنگی به کمک امواج فراصوت و مقایسه با روش متداول استخراج برای یافتن نقطه بهینه با حداکثر راندمان و درجه خلوص پکتین در نرم‌افزار Design Expert و طرح Box-Behnken، در قسمت بهینه‌سازی با هدف قرار دادن مقادیر بیشینه برای هر دو پاسخ شرایط بهینه توسط نرم‌افزار به دست آمد. بهترین شرایطی که این طرح آماری برای دستیابی به بیشترین راندمان پکتین با بیشینه درصد گالاکتورونیک اسید ارائه می‌دهد؛ pH برابر 2/1، دمای 85°C، زمان 30 دقیقه و چگالی توان 0/3 W/ml می‌باشد. مقادیر راندمان و درصد گالاکتورونیک اسید در این نقطه به ترتیب 10/4% و 65% توسط مدل پیش‌بینی شد. آزمون تأیید نشان داد؛ نتایج حاصل از این پژوهش، هماهنگی نزدیکی با نتایج پیش‌بینی شده توسط مدل داشت. با استخراج پکتین به روش متداول در شرایط بهینه استخراج با

میانگین این دو عدد (2/65 dl/g) به‌عنوان ویسکوزیته ذاتی نهایی انتخاب گردید.

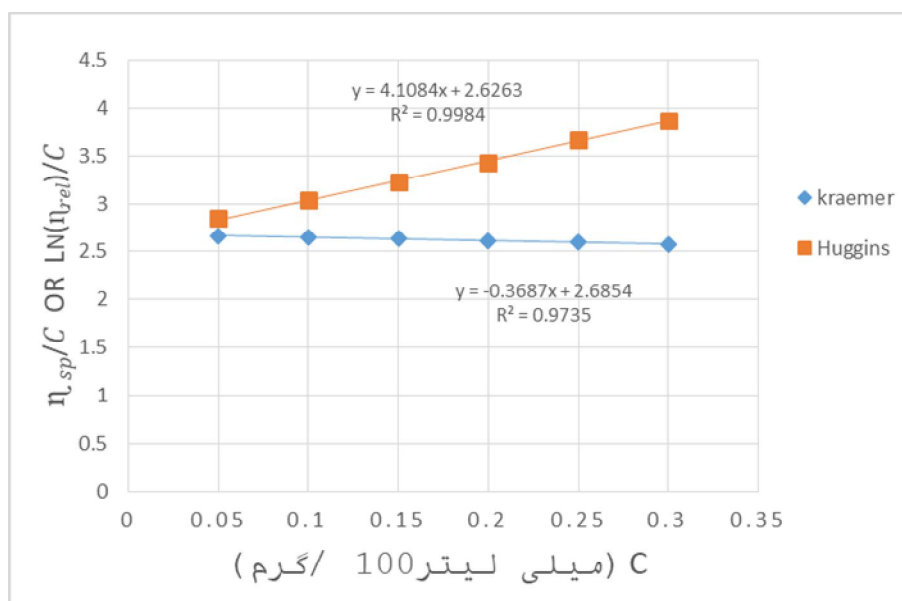
ویسکوزیته ذاتی در واقع برای نشان دادن حجم هیدرودینامیکی ماکرومولکول‌ها استفاده می‌گردد. وقتی مولکول‌های پکتین ساختار متراکم داشته باشند حجم هیدرودینامیکی و ویسکوزیته ذاتی کاهش می‌یابد. ویسکوزیته ذاتی مولکول‌های خطی از مولکول‌های شاخه‌دار بیشتر است. طبق گزارش Alancay و همکاران (2017) ویسکوزیته ذاتی پکتین تفاله گوجه‌فرنگی استخراج شده با محلول اسیدی و آبی به‌ترتیب برابر 4/2 dl/g و 1/8 dl/g بود. کار و ارسلان (1999) مقادیر ویسکوزیته ذاتی برای پکتین پوست پرتقال استخراج شده با سه نوع استخراج‌کننده هیدروکلریک اسید، آمونیوم اگزالات و EDTA را به‌ترتیب 0/262، 0/281 و 0/309 1/g گزارش کردند (Kar et al., 1999). Wang و همکاران (2015) با مقایسه روش متداول و روش فراصوت برای استخراج پکتین از پوست گریپ فروت به این نتیجه رسیدند که روش استخراج با فراصوت در مقایسه با روش متداول باعث کاهش ویسکوزیته ذاتی از 0/41 به 0/326 1/g شد. میزان ویسکوزیته ذاتی برای پکتین تفاله گوجه‌فرنگی استخراج شده در نقطه بهینه 2/65 dl/g به‌دست آمد که این میزان، در محدوده مقادیر گزارش شده برای پکتین استخراج شده از سایر منابع می‌باشد.

همکاران (2017) نیز طی پژوهشی موفق به استخراج پکتین از تفاله گوجه‌فرنگی به روش متداول با راندمان و درجه خلوص به‌ترتیب 28 و 80 درصد در مدت زمان استخراج 60 دقیقه شدند. با توجه به اینکه میزان پالپ موجود در تفاله گوجه‌فرنگی می‌تواند تأثیر چشمگیری بر راندمان و درجه خلوص پکتین داشته باشد لذا تفاوت در نسبت‌های بین پوست، دانه و پالپ موجود در تفاله گوجه‌فرنگی نیز می‌تواند در ویژگی‌های پکتین بسیار تأثیرگذار باشد.

درجه استری و ویسکوزیته ذاتی پکتین تفاله گوجه‌فرنگی

درجه استری یکی از ویژگی‌های بسیار مهم است که کاربردهای تجاری پکتین را تحت تأثیر قرار می‌دهد، Minjares-Fuentes et al. (2014). مشخص شد که پکتین تفاله گوجه‌فرنگی با درجه استری 76% و از نوع پکتین با درجه استری بالا می‌باشد (DE>50%). طبق نتایج Alancay و همکاران (2017) نیز درجه استری پکتین تفاله گوجه‌فرنگی 76% گزارش شده است. پکتین حاصل از پوست گوجه‌فرنگی را نیز از نوع درجه استری بالا (82%) گزارش کرده‌اند (Grassino, et al., 2016b).

منحنی‌های کرامر و هاگینز در شکل 3 مشاهده می‌شود. عرض از مبدأ این منحنی‌ها برابر با ویسکوزیته ذاتی می‌باشد که به‌ترتیب برابر با 2/68 و 2/62dl/g برای معادلات کرامر و هاگینز حاصل شد.



شکل 3- منحنی‌های کرامر و هاگینز برای پکتین تفاله گوجه‌فرنگی

کاهش نشان داد. معمولاً غلظت 0/5 درصد پکتین، برای بررسی خصوصیات امولسیفایری به کار گرفته می‌شود. طبق پژوهش‌هایی که قبلاً انجام شده است، فعالیت امولسیفایری؛ 47/1% برای پکتین تفاله چغندر قند (Yapo et al, 2007)، 45/8% برای پکتین تفاله سیب و 37% برای پکتین تفاله زردآلو (Baississe et al, 2010)، 40/7% برای پکتین پوست نارنج (Hosseini et al, 2016) و 35-40% برای پکتین تفاله چغندر قند (Ma et al, 2013) گزارش شده است. نتایج نشان داد؛ پکتین تفاله گوجه‌فرنگی در مقایسه با سایر منابع از فعالیت امولسیفایری بالاتری برخوردار است (62/5%). همینطور امولسیون ساخته شده با پکتین تفاله گوجه‌فرنگی از پایداری بسیار بالایی (94-100 درصد) در دوره‌های زمانی 1 و 30 روز برخوردار بود، به طوری که در مقایسه با دیگر گزارش‌ها؛ 62-79% برای پکتین تفاله چغندر قند (Ma et al, 2013) و 72-83% برای پکتین پوست نارنج (Hosseini et al, 2016)، پایداری امولسیون با پکتین تفاله گوجه‌فرنگی بیشتر است و می‌تواند به‌عنوان پایدارکننده امولسیون در فرمولاسیون‌های مختلف کاربرد داشته باشد.

خصوصیات امولسیفایری پکتین تفاله گوجه‌فرنگی

یکی از خواص مهم هیدروکلوئیدها خاصیت امولسیفایری و پایدارکنندگی امولسیون توسط آن‌ها است که در صنعت غذا کاربرد فراوانی دارد. طبق گزارش Leroux و همکاران (2003) وزن مولکولی کم، درجه متوکسیله شدن بالا و دارا بودن جزء پروتئینی از جمله عواملی هستند که موجب بهبود خصوصیات امولسیفایری پکتین می‌شوند (Leroux et al, 2003). نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون، در سه سطح غلظت 0/5، 0/25 و 1 درصد محلول پکتین، در جدول 6 نشان داده شده است. غلظت‌های مختلف پکتین حاصل از تفاله گوجه‌فرنگی، فعالیت امولسیفایری و پایدارکنندگی امولسیون خوبی از خود نشان دادند که می‌تواند به دلیل محتوای بالای پروتئین (16%) و درجه استری بالایی این نوع پکتین باشد. گروه‌های متیل و استیل در ساختار پکتین مستعد تشکیل پیوند با یون کلسیم بوده و با ایجاد پل‌های کلسیم می‌تواند در تشکیل ساختارهای کژوگه بین پکتین و پروتئین موثر باشد در نتیجه باعث افزایش خواص امولسیفایری پکتین می‌گردد (Leroux et al, 2003). با بالا رفتن غلظت پکتین فعالیت امولسیفایری بالا رفته اما ثبات امولسیون در غلظت‌های بالاتر نسبتاً

جدول 6- خصوصیات امولسیفایری پکتین استخراج شده به کمک امواج فراصوت در شرایط بهینه

پایداری امولسیون (%)		فعالیت امولسیفایری (%)		زمان (روز) دما (سانتی‌گراد)
30	1	23	4	
98/9±0/14 ^a	99/7±0/3 ^a	99/2±0/35 ^a	100±0/0 ^a	پکتین 0/25%
94/75±0/35 ^b	99/8±0/2 ^a	99 ± 0/14 ^a	100±0/0 ^a	پکتین 0/5%
90/76±0/75 ^c	94/5±0/4 ^b	97±0/16 ^b	99±0/7 ^a	پکتین 1%

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نیز نشان داد که پکتین تفاله گوجه‌فرنگی در مقایسه با سایر منابع، از فعالیت امولسیفایری و پایدارکنندگی امولسیون بسیار خوبی برخوردار است، در نتیجه این نوع پکتین می‌تواند در فرمولاسیون انواع غذاهای امولسیونی کاربرد داشته باشد. همچنین در این مطالعه از تفاله گوجه‌فرنگی استفاده شد که از اصلی‌ترین ضایعات بخش کشاورزی و صنایع تولید رب در ایران به‌شمار می‌آید و با مطالعات کاربردی بیشتر در این زمینه می‌تواند به‌عنوان منبع ارزان قیمتی از پکتین معرفی گردد.

نتیجه‌گیری

استخراج پکتین با استفاده از امواج فراصوت در کاهش مدت زمان استخراج و افزایش درجه خلوص پکتین تأثیر قابل توجهی نشان داد به طوری که با بهینه‌سازی شرایط استخراج پکتین از تفاله گوجه‌فرنگی توانستیم در مدت زمان کوتاه (30 دقیقه) پکتین با راندمان (10/5%) و درجه خلوص قابل قبولی (65%) استخراج کنیم در حالی که در روش متداول استخراج پکتین و با همین مدت زمان استخراج، میزان راندمان 4/5% و درصد گالاتورونیک اسید 55% حاصل شد. بررسی

منابع

- Alancay, M.M., Lobo, M.O., Quinzio, C.M. and Iturriaga, L.B. (2017). Extraction and physicochemical characterization of pectin from tomato processing waste. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4): 2119-2130.
- Anese, M., Mirolo, G., Beraldo, P., Lippe, G. (2013). Effect of ultrasound treatments of tomato pulp on microstructure and lycopene in vitro bioaccessibility. *Food Chemistry*, 136, 458-63.

- Assoi, S., Konan, K., Walker, L.T., Holser, R., Agbo, G.N., Dodo, H., Wicker, L. (2014). Functionality and yield of pectin extracted from Palmyra palm (*Borassus aethiopum* Mart) fruit. *LWT - Food Science and Technology.*, 58, 214-221.
- Bagherian, H., Zokaee Ashtiani, F., Fouladitajar, A. and Mohtashamy, M. (2011). Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50(11-12): 1237-1243.
- Baïssisse, S., Ghannem, H., Fahloul, D., Lekbir, A. (2010). Comparison of structure and emulsifying activity of pectin extracted from apple pomace and apricot pulp. *World Journal of Dairy & Food Sciences.*, 5, 79-84.
- Chan, S.Y., Choo, W.S. (2013). Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. *Food Chemistry.*, 141, 3752-8.
- Dalev, P.G., Simeonova, L.S. (1995). Emulsifying properties of protein-pectin complexes and their use in oil-containing foodstuffs. *J. Sci. Food Agric.*, 68, 203-206.
- Ele-Ekouna, J.P., Pau-Roblot, C., Courtois, B., Courtois, J. (2011). Chemical characterization of pectin from green tea (*Camellia sinensis*). *Carbohydrate Polymers.*, 83, 1232-9.
- Gnanasambandam, R., Proctor, A. (1999). Preparation of soy hull pectin. *Food Chemistry.* 65, 461-7.
- Grassino, A.N., Brnčić, M., Vikić-Topić, D., Roca, S., Dent, M. and Brnčić, S.R. (2016 a). Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. *Food Chemistry*, 198: 93-100.
- Grassino, A.N., Halambek, J., Djaković, S., Rimac Brnčić, S., Dent, M., Grabarić, Z. (2016 b). Utilization of tomato peel waste from canning factory as a potential source for pectin production and application as tin corrosion inhibitor. *Food Hydrocolloid.*, 52, 265-74.
- Happi Emaga, T., Ronkart, S.N., Robert, C., Wathélet, B., Paquot, M. (2008). Characterisation of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using an experimental design. *Food Chemistry.*, 108, 63-71.
- Hosseini, S.S., Khodaiyan, F., Yarmand, M.S. (2016). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers.*, 140, 59-65.
- Iglesias, M.T., Lozano, J.E. (2004). Extraction and characterization of sunflower pectin. *Journal of Food Engineering.*, 62, 215-23.
- Kar, F., Arslan, N. (1999). Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity-molecular weight relationship. *Carbohydrate Polymers.*, 40, 277-84.
- Leroux, J., Langendorff, V., Schick, G., Vaishnav, V., Mazoyer, J. (2003). Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloid.*, 17, 455-462.
- Liu, L., Cao, J., Huang, J., Cai, Y., Yao, J. (2010). Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark. *Bioresource Technology.* 101, 3268-73.
- Li, X., Liu, Z., Lu, B. (2014). Ultrasonic-assisted extraction of pectin from chaenomeles. *Journal of Central South University.* 21, 4115-20.
- Maran, J.P., Priya, B. (2015). Ultrasound-assisted extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate Polymers.*, 115, 732-8.
- Ma, S., Yu, S., Zheng, X., Wang, X., Bao, Q. Guo, X. (2013). Extraction, characterization and spontaneous emulsifying properties of pectin from sugar beet pulp. *Carbohydrate Polymers.*, 98, 750-753.
- Minjares-Fuentes, R., Femenia, A., Garau, M.C., Meza-Velázquez, J.A., Simal, S. and Rosselló, C. 2014. Ultrasound-assisted extraction of pectins from grape pomace using citric acid: A response surface methodology approach. *Carbohydrate Polymers*, 106: 179-189.
- Moorthy, I.G., Maran, J.P., Surya, S.M., Naganyashree, S., Shivamathi, C.S. (2015). Response surface optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from pomegranate peel. *International Journal of Biological Macromolecules.*, 72, 1323-8.
- Ngouémazong, E.D., Christiaens, S., Shpigelman, A., Loey, A. and Hendrickx, M. (2015). The Emulsifying and Emulsion-Stabilizing Properties of Pectin: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6): 705-718.
- Pagán, J., Ibarz, A. (1999) Extraction and rheological properties of pectin from fresh peach pomace. *Journal of Food Engineering.*, 39, 193-201.
- Prakash Maran, J., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., Sridhar, R. (2014). Microwave assisted extraction of pectin from waste *Citrullus lanatus* fruit rinds. *Carbohydrate Polymers.*, 101, 786-91.
- Ptichkina, N.M., Danilova, I.A., Doxastakis, G., Kasapis, S., Morris, E.R. (1994). Pumpkin pectin: gel formation at unusually low concentration. *Carbohydrate Polymers.*, 23, 265-73.
- Santos, J.D.G., Espeleta, A.F., Branco, A., de Assis, S.A. (2013). Aqueous extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate Polymers.*, 92, 1997-2001.
- Scott, R.W. (1979). Colorimetric determination of hexuronic acids in plant materials. *Analytical Chemistry.*, 51, 936-41.
- Supardan, M.D., Fuadi, A., Alam, P.N., Arpi, N. (2011). Solvent extraction of ginger oleoresin using ultrasound. *Makara Journal of Science.* 15, 163-7.

- Van Buren, J.P. (1991). CHAPTER 1 - Function of Pectin in Plant Tissue Structure and Firmness A2, in: Walter, Reginald H. The Chemistry and Technology of Pectin, *Academic Press.*, San Diego, pp 1-22.
- Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z., Ding, T., Ye, X. and Liu, D. 2015. Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method. *Food Chemistry*, 178: 106-114.
- Willats, W.G.T., Knox, J.P, Mikkelsen J.D. (2006). Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 97-104.
- Xu, Y., Zhang, L., Bailina, Y., Ge, Z., Ding, T., Ye, X., et al. (2014). Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel. *Journal of Food Engineering.*, 126, 72-81.
- Yapo, B.M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B., Paquot, M. (2007). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry.*, 100, 1356-64.

Optimization of Ultrasound-assisted Extraction of Pectin from Tomato Pomace Using Response Surface Methodology

M. Zahedi¹, Z. Hamidi-Esfahani^{*2}, H. Ahmadi-Gavlighi²

Received: 2018.02.25

Accepted: 2018.11.01

Introduction: Pectin is a structural heteropolysaccharide in the cell wall of plants and after extraction it is used as a gelling agent in food products. The main sources of pectin are apple and citrus peel, but pectin from various sources, may have unique properties. Therefore, research is ongoing to find new sources of pectin and study their properties. The conventional extracting method is performed using a solution of mineral acids, this process is time-consuming and has some disadvantages in terms of quantity and quality of extracted pectin. It is very important to look for new methods or modifications to produce pectin with high efficiency and quality. One of the new methods is ultrasonic extraction, which has been studied extensively. The aim of this study was to optimize and quantitative and qualitative evaluation of pectin extraction from tomato pomace as one of the major wastes of industries in Iran. Also Ultrasound was used as a new and effective method for extraction of pectin. Ultrasound assisted extraction (UAE) of pectin from waste tomato pomace was investigated and optimized using Box–Behnken response surface design. The individual and interactive effect of process variables (pH, temperature, extraction time and power density) on the pectin yield and purity was studied. Also, the degree of esterification, intrinsic viscosity and emulsifying properties were determined on optimized conditions.

Materials and methods: Tomato pomace was supplied from ATA Company located in Tehran, Iran. It was dried at 60 °C for 36 hours. Then was milled and sieved by 60 mesh size screen. Fatty acids and pigments were removed from tomato pomace and again dried. The obtained powder stored at ambient condition for further uses. Ultrasonic device (Ultrasonic Technology Development Company, IRAN and 400 w, 20 KHz) with 12 mm probe and double-shell tank was used to carry out the extraction. Response surface methodology (RSM) was carried out to study the effect of pH (1.5-2.5), temperature (60-90°C), extraction time (6-30 minutes), and power density (0.15-0.3 W/ml) as input variables on the yield and galacturonic acid (GalA) content as the output (responses). GalA content was determined by colorimetric method (titration), using the 3, 5- dimethylphenol as reagent and D-galacturonic acid as standard. To determine the degree of esterification, titration method was used. The intrinsic viscosity of pectin was determined by applying a capillary viscosimeter (Cannon Instruments Co., No. 150, Cannon-Fenske, Germany; $k = 0.04137 \text{ mm}^2/\text{s}^2$). Emulsifying properties of pectin extracted at the optimal point were investigated at three levels of pectin concentration %0.25, % 0.5 and %1.

Results and discussion: The experimental data obtained were analyzed by analysis of variance (ANOVA) and second-order polynomial models were developed using multiple regression analysis both for pectin yield and GalA content. The models developed from the experimental design were predictive and good fit with the experimental data with high coefficient of determination (R^2) value. Pectin yield and GalA content were more influenced by temperature. The highest extraction yield (10.5%) and galacturonic acid content (65%) was obtained at pH of 2, temperature of 86°C, time of 30 min, and power density of 0.3 W/ml, while in the conventional extraction method with the same extraction conditions, extraction yield of 4.5% and galacturonic acid content of 55% was obtained. According to results of this experiment, it can be concluded that main advantage of UAE is considerable shortening of extraction time with enhancement of pectin purity. Under optimal conditions, pectin with a degree of esterification 76% and intrinsic viscosity of 2.6 dl/g was obtained. The highest emulsifying activity (87.5%) was obtained at %1 concentration. By holding the emulsion at a temperature of 4°C and 23°C, the emulsion stability was significant (99%) at the concentration of %0.25 over a period of 30 days. These results showed that tomato pomace could be used as a good source of low cost pectin.

1, 2 and 3. MSc. Graduated, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

(*Corresponding Author Email: hamidy_z@modares.ac.ir)

Keywords: Pectin extraction, Tomato pomace, Ultrasound, Emulsifying activity.