

استخراج پکتین به روش پیش هیدرولیز از تفاله برخی از ارقام تجاری چغندر قند

(یادداشت تحقیقاتی)

عادل میرمجیدی* و بابک بابائی**

* نگارنده مسئول، نشانی: کرج، بلوار شهید فهمیده، مؤسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، ص. پ. ۳۱۵۸۵-۸۴۵، تلفن: ۲۷۰۵۳۲۰ (۰۲۶۱)،

پيام‌نگار: adelmirmajidi@yahoo.com

** به‌ترتیب عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی؛ و عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند

تاریخ دریافت: ۸۶/۹/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۶/۱۱

چکیده

پکتین به علت دارا بودن خاصیت تغلیظ‌کنندگی به عنوان عامل منعقدکننده در صنایع غذایی به کار می‌رود. تفاله چغندر قند یکی از منابع حاوی پکتین به‌شمار می‌آید. با توجه به اهمیت و کاربرد وسیع پکتین در صنایع غذایی و توسعه صنایع جانبی چغندر قند و نیز تأثیر مقدار پکتین موجود در ارقام مختلف چغندر قند در عملیات قندسازی، پژوهش حاضر در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند و مؤسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی به اجرا درآمد. در این تحقیق ابتدا روش پیش هیدرولیز برای استخراج پکتین به کار رفت. مقدار پکتین موجود در چغندر قند ارقام تجاری دوروتی، رسول، ۷۱۱۲، Bf1، و Ic اندازه‌گیری شد. تیمارها شامل: چهار عامل غلظت اسید، دمای هیدرولیز، زمان هیدرولیز، و حجم آب مصرفی برای استخراج پکتین بود. این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل $3 \times 3 \times 3$ با طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در بین تیمارهای مختلف، مناسب‌ترین مقدار پکتین استخراج شده از لحاظ خصوصیات کیفی با دو نوع پکتین با متوکسیل زیاد (HM) و متوکسیل کم (LM) که به عنوان شاهد در نظر گرفته شده بود، مقایسه شد. نتایج نشان می‌دهد که بهترین شرایط هیدرولیز با اختلاط یک قسمت تفاله خشک با ۲/۵ قسمت اسید کلریدریک ۵ درصد در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت به‌دست می‌آید. اختلاط تفاله هیدرولیز شده با ۴۵۰ میلی‌لیتر آب مناسب‌تر از بقیه سطوح آب است. فاکتورهای کنترل کیفی پکتین استخراجی با روش پیش هیدرولیز شامل بازده استخراج ۱۴/۹۶ درصد، درجه استری شدن ۵۸/۶۳ درصد، میزان گالاکترونیک اسید ۶۳/۹۲، و درجه جانشینی آمید ۱۴/۹۵ به‌دست آمد. مقایسه پکتین به روش پیش هیدرولیز با پکتین استخراجی با روش اسیدی و پکتین تجاری از لحاظ درجه استری شدن، گالاکترونیک اسید، و درجه جانشینی آمید نشان می‌دهد که درجه استری شدن با این روش ۱۰ درصد بیشتر از پکتین استخراجی با روش اسیدی ولی از پکتین تجاری ۱۰ درصد کمتر است. درصد گالاکترونیک اسید با این روش ۲۰ درصد از پکتین استخراجی با روش اسیدی و ۲۸ درصد از پکتین تجاری کمتر است. درجه جانشینی آمید با این روش ۶/۵ درصد از پکتین استخراجی با روش اسیدی و ۷/۵ درصد از پکتین تجاری بیشتر است. بنابراین، استنباط می‌شود که برای استخراج پکتین از تفاله چغندر قند روش پیش هیدرولیز نسبت به روش اسیدی برتری دارد و قابل توصیه است. ضمناً مقدار پکتین در ارقام ۷۱۱۲ و رسول به‌طور معنی‌دار بیشتر از ارقام دوروتی، Ic، و Bf1 است. با توجه به اینکه مقدار پکتین موجود در چغندر قند در عملیات قندسازی عاملی منفی است پیشنهاد می‌شود برای ارتقای کیفیت چغندر قند از نظر صنایع قندسازی این صفت مدنظر برنامه‌های به‌نژادی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی

استخراج، پکتین، تفاله، چغندر قند، هیدرولیز

به‌دست می‌آید؛ این ماده امروزه در صنایع غذایی کاربردی

مقدمه

پکتین، پلیمر کربوهیدرات تخلیص شده‌ای است که عملاً از تفاله سیب، لایه سفید داخلی پوست مرکبات، و... وسیع دارد. قسمت اصلی این ماده به‌صورت پلیمری از اسید گالاکترونیک با اتصال آلفا ۱ به ۴ است که تعدادی از



نسبت به کلسیم کنترل می‌کند. بالاترین درجه متوکسیلاسیون که می‌تواند با استخراج از ماده طبیعی به دست آید حدود هفتاد و پنج درصد است که ماده‌ای به نام پکتین HM سریع تولید می‌کند. پکتین HM با درجه بین ۷۵ تا ۸۵، از طریق متوکسیلاسیون پکتین HM با متانول به دست می‌آید (Vosoghi, 1997).

پکتین علاوه بر خصوصیات ذکر شده، با تشکیل ژل و محبوس کردن آب درون فیبرها، آب آزاد در دسترس میکروب‌ها را کاهش و در نتیجه مدت زمان نگهداری مواد غذایی را افزایش می‌دهد (Hosseini Nejad & Barzin Poor, 1998).

آمار واردات نشان می‌دهد که سالانه بیش از صد تن انواع پکتین با درجات خلوص مختلف به کشور وارد می‌شود (Hakimiyan, 1972).

چغندر قند یکی از محصولات کشاورزی است که با هدف استحصال شکر از آن در سطح وسیعی در کشور تولید می‌شود. طبق آمار سندیکای کارخانجات قند و شکر، سطح زیر کشت این محصول در سال زراعی ۱۳۸۴ حدود ۱۵۲ هزار هکتار و میزان تولید آن حدود ۴/۹ میلیون تن برای کل کشور بوده است (Anon, 2006). حدود ۵ درصد وزن چغندر تازه را مارک و ۴۸ درصد مارک را پکتین تشکیل می‌دهد (Sheikholeslami, 2003) که مشخص می‌شود در سال ۱۳۸۴ حدود ۱۱۷ هزار تن پکتین در تفاله چغندر قند تنها جهت خوراک دام استفاده شده است. تخمین زده می‌شود ائتلاف پکتین در کشور هر سال در همین حدود باشد که با اضافه کردن یک واحد استخراج پکتین به خط تولید هر کارخانه قند می‌توان از هدر رفتن این ماده گران بها جلوگیری کرد و واردات آن را کاهش داد. در حالی که امکان فراهم کردن سایر منابع حاوی پکتین از قبیل پوست سیب و مرکبات برای استخراج این ماده، در مقایسه با تفاله چغندر قند، محدودیت بیشتری دارد (Turquois et al., 1999).

عوامل کربوکسیل آن با متانول ترکیب شده و استر تشکیل داده‌اند (Fatemi, 1999). پکتین فاقد بو و دارای طعم مخصوص صمغ مانند است که در آب حل می‌شود و کلونید شفاف تشکیل می‌دهد و عملاً در الکل انحلال ناپذیر است (Anon, 1996). پکتین به علت دارا بودن خاصیت تغلیظ‌کنندگی، در صنایع غذایی به عنوان ماده نگهدارنده و عامل ژله‌کننده به کار می‌رود و علاوه بر پوست مرکبات و سیب در بسیاری از منابع طبیعی دیگر مانند چغندر قند نیز موجود است (Hosseini Nejad Ramhormozi & Barzin Poor, 1998).

ساختمان پکتین یک ساختمان خطی است که در هر مولکول از چند صد تا هزار واحد ساختمانی وجود دارد. وزن مولکولی متوسط پکتین از حدود پنجاه هزار تا هشتاد هزار گرم بر مول است. نسبت گروه‌های گالاکتورونیک اسید متوکسیله شده به کل گروه‌های گالاکتورونیک اسید موجود در ساختمان پکتین را درجه متوکسیلاسیون می‌نامند. این نسبت، اثر اساسی بر خواص پکتین به خصوص بر انحلال‌پذیری و شرایط ژله شده می‌گذارد. درجه متیلاسیون پنجاه درصد، یک معیار تقسیم‌بندی پکتین‌های تجاری به دو دسته متوکسیل زیاد (HM) و متوکسیل کم (LM) است. این دو گروه پکتین با مکانیزم‌هایی متفاوت ژله‌ای می‌شوند (Vosoghi, 1997).

پکتین‌های HM احتیاج به حداکثر مواد جامد انحلال‌پذیر و pH حدود ۳ دارند تا ژله‌ای شوند، در حالی که پکتین‌های LM برای ژله‌ای شدن نیاز به حضور مقادیر کنترل شده‌ای از یون‌های کلسیم دارند ولی احتیاج به قند یا اسید ندارند. درجه متوکسیلاسیون پکتین‌های HM، سرعت نسبی ژله‌شدن آنها را کنترل می‌کند؛ این سرعت با دو عبارت گروه پکتین‌های HM با سرعت کم و گروه پکتین‌های HM با سرعت زیاد مشخص می‌شود. گروه پکتین‌های LM، درجه متوکسیلاسیون حساسیت آنها را

استخراج پکتین به روش پیش هیدرولیز از تفاله برخی...

تکه‌ها یا رشته‌های تشکیل‌دهنده تفاله ۴-۲ سانتی‌متر و قطر آنها ۳-۲ میلی‌متر بود. جهت جلوگیری از تخمیر، رطوبت تفاله در آون و در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به ۲-۱ درصد کاهش داده شد (Sead & Sajadi, 1985; Parvaneh, 1993; Hosseini, 1999). تفاله به منظور استخراج پکتین به روش اسیدی در تنظیم پایان‌نامه کارشناسی ارشد به کار رفت (Haji-Esmaelli, 2002) و از قسمتی دیگر به منظور استخراج پکتین به روش پیش هیدرولیز در این تحقیق استفاده شد.

در روش پیش هیدرولیز، پس از آسیاب کردن تفاله خشک، ۳۰ گرم از نمونه آسیاب شده با مقادیر مختلف محلول اسید کلریدریک ۵ درصد به عنوان تیمارهای متفاوت شامل (A): ۴۵ گرم اسید (a_1)، ۷۵ گرم اسید (a_2)، و ۱۰۵ گرم اسید (a_3) مخلوط شد (Ferdinand & Steven, 1991).

سپس سه تیمار مختلف زمان هیدرولیز روی نمونه‌های تیمار شده با اسید اجرا شد که شامل (B): ۲۴ ساعت (b_1)، ۴۸ ساعت (b_2)، و ۷۲ ساعت (b_3) بود و هیدرولیز در دو دمای مختلف شامل (C): دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (c_1) و دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد (c_2) بود (Ferdinand & Steven, 1991; Haji-Esmaelli, 2002).

حجم آب برای پکتینازاسیون شامل (D): ۳۰۰ میلی‌لیتر (d_1)، ۴۵۰ میلی‌لیتر (d_2)، و ۶۰۰ میلی‌لیتر (d_3) بود (Ferdinand & Steven, 1991). پکتینازاسیون در دمای بین ۶۰ الی ۷۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان یک ساعت برای کلیه تیمارها انجام شد (Karpovich *et al.*, 1990). از همزن برقی برای متلاطم کردن مخلوط، تسریع، و افزایش بازده عملیات انتقال جرم استفاده شد. با این مراحل تفاله آماده برای جداسازی پکتین شد و با استفاده از پارچه کرباس، تفاله صاف شد و محلول زیر صافی برای تهیه پکتین مورد استفاده قرار گرفت.

اهمیت و کاربرد وسیع پکتین در صنایع غذایی، به‌کارگیری مواد زائد بخش کشاورزی و تبدیل آنها به مواد با ارزش افزوده بیشتر، و توسعه صنایع جانبی چغندرقد از دلایل اصلی اجرای این تحقیق هستند. از آنجا که مقدار پکتین موجود در ارقام مختلف چغندرقد متغیر و این امر در عملیات قندسازی مؤثر است، اندازه‌گیری این ماده در ارقام تجارتي موجود از اهداف دیگر اجرای این تحقیق است (Poor Sead & Sajadi, 1985).

برای استخراج پکتین از ضایعات محصولات کشاورزی و تفاله چغندرقد در داخل و خارج کشور، تاکنون تحقیقات متعددی انجام شده است که از بین آنها می‌توان به استخراج به روش آنزیمی (Aimukhamedova, 1988; Shelukhina, 1990; Sakamoto *et al.*, 1995) استفاده از ترکیبات چنگالی‌دهنده چون سدیم هگزا متافسفات، آمونیم اگزالات، و اتیلن دی آمین تتراستیک اسید (EDTA) (Salomov *et al.*, 1991; Miyamoto & Chang, 1992; Arsalan *et al.*, 1996; Haji-Esmaelli, 2002)؛ و روش اسیدی (Ferdinand & Steven, 1991; Miyamoto & Chang, 1992; Fox *et al.*, 1994; Arslan *et al.*, 1996; Kong *et al.*, 2000; Kalapathy & Proctor, 2001; Haji-Esmaelli, 2002) اشاره کرد.

pH، دما، و زمان استخراج از عوامل مؤثر بر بازده استخراج پکتین است (Yapo *et al.*, 2007). تحقیقات داخل کشور نشان می‌دهد که بازده استخراج پکتین از تفاله چغندرقد به روش اسیدی در مقایسه با روش ترکیبات چنگالی‌دهنده بیشتر است (Haji-Esmaelli, 2002). در این تحقیق بر اساس روش فردیناند و استیون (Ferdinand & Steven, 1991) به منظور افزایش کیفیت پکتین استخراجی از روش پیش هیدرولیز استفاده و مقدار پکتین ارقام تجارتي مورد مطالعه با این روش استخراج شد.

مواد و روش‌ها

تفاله چغندرقد مورد نیاز در این تحقیق که دارای ۱ درصد ساکاروز بود از کارخانه قند قزوین تهیه شد. طول

اضافی آن خارج شود. آنگاه یک شیشه ساعت وزن و پکتین به آن منتقل شد تا در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت تحت خلاء ۲۵۰ میلی‌متر جیوه خشک شود (Rahbar, 1996). پکتین به دست آمده، در آسیاب برقی (۶۰ مش) آسیاب شد. پکتین سفید بود که بعد از خشک شدن رنگ آن بین زرد تا کرم تغییر کرد. الکل مصرف شده برای رسوب‌گذاری پکتین حاوی اسید کلریدریک و محلول زیر صافی بود، که با دستگاه تبخیرکننده خلاء بازیافت شد (Hosseini, 1999).

با توجه به اینکه پکتین در اثر جذب رطوبت متورم خواهد شد، توصیه می‌شود از فویل آلومینیمی، سلولز روکش شده، LDPE، یا HDPE در این خصوص استفاده شود (Sedaghat, 1997).

کیفیت پکتین به دست آمده با اجرای آزمون‌های درجه استری شدن، درجه جان‌شینی آمید، مقدار گالاکترونیك اسید، و درجه ژله‌ای شدن تعیین شد (Miyamoto et al., 1992 ; Anon, 1996).

بنا به توصیه مؤسسه اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، مقدار پکتین چغندر قند در ارقام تجارتي رسول، دوروتی، ۷۱۱۲، Br1، و Ic اندازه‌گیری شد. به این منظور ارقام مذکور در قطعه زمینی به مساحت ۱۰۰۰ متر مربع در ایستگاه تحقیقاتی مؤسسه واقع در کمال‌آباد کرج کشت شدند. پس از برداشت محصول، نمونه‌هایی هر یک شامل ۲۵ تا ۳۰ تک ریشه هم وزن انتخاب و پس از شستشو، خمیرگیری شدند. خمیر حاصل در آزمایشگاه برای جداسازی تفاله ۴ بار با آب با دمای ۶۰ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه به شدت هم‌زده شد (Sheikholeslami, 1997). سپس تفاله در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در مدت ۲۴ ساعت خشک و پس از آسیاب شدن، استخراج پکتین در ۶ تکرار اجرا و مقدار این ماده در ارقام مذکور اندازه‌گیری شد.

محلول زیر صافی که حاوی پکتین بود تا دمای محیط سرد شد و pH آن با استفاده از کلرید آلومینیم تا ۰/۱ مقدار اولیه تغییر داده شد. در این مرحله، پکتین به صورت پکتینات آلومینیم درآمد (Ferdinand & Steven, 1991). برای تشکیل ژل، محلول آمونیاک غلیظ به مخلوط اضافه شد تا pH آن به حدود ۴/۵-۴ برسد.

پکتینات آلومینیم با دستگاه سانتریفوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه جدا شد. سپس، رسوب پکتینات آلومینیم به منظور جداسازی کلرید آلومینیم و افزایش درجه خلوص پکتین حاصل، دو بار با اتانول ۶۰ درصد و دو بار با اتانول ۹۶ درصد اسیدی با اسید کلریدریک دارای pH حدود ۲ آبکشی و به مدت ۵ دقیقه با همان سرعت سانتریفوژ شد. به این ترتیب فاز محلول حاوی کلرید آلومینیم بود که با اضافه کردن هیدروکسید پتاسیم تا pH حدود ۴/۵، به صورت رسوب هیدروکسید آلومینیم به طور کامل جداسازی شد؛ فاز نامحلول پکتین بود که برای کاهش مقدار خاکستر، مجدداً با اسید کلریدریک با pH حدود ۱ و سپس با اتانول ۶۰ درصد شستشو داده شد. برای خالص تر کردن پکتین به دست آمده، از سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد (Ferdinand & Steven, 1991).

این عصاره ممکن است مستقیماً جهت مصرف به کار رود، ولی در تولید پکتین‌های تجارتي و محلول‌های پکتینی برای اینکه پکتین استخراج شده به مصارف صنعتی برسد لازم است عملیات اضافه‌تری دنبال شود. اتانول اضافه شده به پکتین، در اثر حرارتی که در مرحله خشک کردن می‌بیند، از بین می‌رود و مقدار جزئی از اتانول که در پکتین باقی می‌ماند مشکل غذایی ندارد.

برای خشک کردن، پکتین به آرامی به درون کاغذ صافی چندلایه منتقل و به ملایمت فشار داده شد تا الکل

نتایج و بحث

اثر متقابل تیمارهای غلظت اسید و حجم آب روی مقدار پکتین و درجه استری شدن در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار است. اثر متقابل تیمارهای دمای هیدرولیز و غلظت اسید، زمان و دمای هیدرولیز علاوه بر معنی دار بودن بر صفات مقدار پکتین استخراج شده و درجه استری شدن، بر صفت میزان اسید گالاکترونیک نیز در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار است.

تأثیر هم‌زمان تیمارهای زمان هیدرولیز و حجم آب بر تمام فاکتورهای کمی و کیفی پکتین استخراجی در سطح ۱ درصد معنی دار است. ولی اثر هم‌زمان تیمارهای حجم آب و دمای هیدرولیز تنها روی صفت مقدار پکتین استخراجی در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار است.

تأثیر متقابل سه عامل غلظت اسید، حجم آب، و زمان هیدرولیز از لحاظ آماری و در سطح احتمال ۵ درصد تنها روی مقدار پکتین معنی دار است ولی بر سایر صفات معنی دار نیست.

جدول ۲ نشان می‌دهد که میانگین صفات مقدار پکتین، درجه استری شدن، و میزان گالاکترونیک اسید تحت تأثیر مقدار اسید اضافه شده به تفاله قرار می‌گیرند ولی میانگین pH استریفیکاسیون برای سطوح مختلف اسید تفاوت معنی دار ندارد. همچنین، افزایش مقدار اسید ابتدا موجب کاهش و سپس موجب افزایش مقدار پکتین استخراجی می‌شود. به‌علاوه، درجه استری شدن با افزایش میزان اسید ابتدا افزایش و سپس کاهش می‌یابد ولی میزان گالاکترونیک اسید با افزایش مقدار اسید ابتدا کاهش و سپس افزایش نشان می‌دهد.

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که غلظت اسید بر صفت مقدار پکتین استخراجی در سطح ۵ درصد و بر صفات درجه استری شدن و میزان اسید گالاکترونیک در سطح ۱ درصد معنی دار است. غلظت اسید در این مرحله بسیار با اهمیت است زیرا مقدار و کیفیت پکتین استخراجی عملاً تحت تأثیر این مرحله است. تأثیر مقدار اسید اضافی یا زمان طولانی و دمای نامناسب موجب تجزیه پکتین‌های محلول می‌شود که این امر می‌تواند تا حدی موجب افت خاصیت کلونیدی و میزان ژل‌سازی موادی شود که به‌صورت محلول‌اند (Vosoghi, 1997).

جدول ۱ نشان می‌دهد که تیمارهای زمان و دمای هیدرولیز به‌طور مجزا بر صفات مقدار پکتین استخراجی، درجه استری شدن، و میزان اسید گالاکترونیک از لحاظ آماری در سطح یک درصد معنی دار است ولی بر pH استریفیکاسیون پکتین تأثیر معنی دار ندارد. همچنین تیمار حجم آب بر مقدار پکتین استخراجی و اسید گالاکترونیک در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار است، در حالی که بر صفات pH استریفیکاسیون و درجه استری شدن معنی دار نیست.

اثر متقابل دو تیمار غلظت اسید و زمان هیدرولیز نیز روی دو صفت درجه استری شدن و میزان اسید گالاکترونیک در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار است. ولی بر صفات مقدار پکتین استخراجی و pH ژله‌ای شدن اثر معنی دار ندارد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت اسید، زمان هیدرولیز، و حجم آب مرحله پکتینه شدن بر صفات مقدار، pH استریفیکاسیون، پکتین استخراجی، درجه استری شدن و گالاکترونیک اسید

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییر
گالاکترونیک اسید (درصد)	درجه استری شدن (درصد)	پکتین استخراجی (درصد)	pH استریفیکاسیون		
۳۹۷/۰۱۲ **	۱۴۴۷/۸۰۰ **	۵/۴۴۴ *	۰/۰۰۷ ns	۲	غلظت اسید
۶۸/۳۳۶ **	۴۲۶/۴۸۶ **	۵۴/۵۹۹ **	۰/۰۰۵ ns	۲	زمان هیدرولیز
۴۰۰/۶۲۵ **	۷۱/۶۹۱ **	۱/۱۱۷ ns	۰/۰۱۳ ns	۴	زمان هیدرولیز × غلظت اسید
۲۳۹۲/۱۶۸ **	۷۹/۰۰۲ **	۲۲۱/۱۵۴ **	۰/۰۰۴ ns	۱	دمای هیدرولیز
۲۷۹/۳۹۷ **	۲۷/۸۴۴ **	۵۱/۷۱۸ **	۰/۰۵۰ ns	۲	دمای هیدرولیز × غلظت اسید
۵۶۴/۹۵۱ **	۱۰۲/۰۸۲ **	۷۷/۹۴۱ **	۰/۰۰۴ ns	۲	دمای هیدرولیز × زمان هیدرولیز
۲۹۵/۴۴۹ **	۲۳/۵۲۸ **	۵/۳۷۲ **	۰/۰۰۲ ns	۴	دمای هیدرولیز × زمان هیدرولیز × غلظت اسید
۱۰۵۰/۸۲۰ **	۸/۰۲۳ ns	۳۶/۶۰۲ **	۰/۰۴۲ ns	۲	حجم آب
۸/۹۱۳ ns	۲۸/۵۴۲ **	۷/۰۷۷ **	۰/۰۲۰ ns	۴	حجم آب × غلظت اسید
۳۴/۹۶۱ **	۱۹/۳۹۸ **	۴/۸۹۳ **	۰/۰۵۸ **	۴	حجم آب × زمان هیدرولیز
۱۷/۱۸۰ ns	۶/۲۱۹ ns	۲/۴۱۰ *	۰/۰۲۳ ns	۸	زمان هیدرولیز × حجم آب × غلظت اسید
۶/۶۶۹ ns	۰/۴۷۲ ns	۱۱/۰۱۱ **	۰/۰۳۸ ns	۲	دمای هیدرولیز × حجم آب
۱۷/۳۲۸ ns	۷/۸۲۰ ns	۳/۵۸۱ *	۰/۰۲۰ ns	۴	دمای هیدرولیز × حجم آب × غلظت اسید
۲۲/۱۷۸ ns	۱۰/۰۸۵ ns	۰/۸۷۷ ns	۰/۰۲۰ ns	۴	دمای هیدرولیز × حجم آب × زمان هیدرولیز
۸/۲۷۰ ns	۸/۱۵۸ ns	۲/۶۸ **	۰/۰۲۱ ns	۸	حجم آب × دمای هیدرولیز × زمان هیدرولیز × غلظت اسید
۴/۶۲	۲/۶۵	۰/۶۰۹	۰/۰۰۷۵	۱۰۸	خطا
۳/۷۲	۳/۴۳	۱۰/۵۹	۰/۸۱		ضریب تغییرات

** اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد، * اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، ns: نبود اختلاف معنی دار

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر سطوح اسید بر صفات pH استریفیکاسیون، مقدار پکتین استخراجی، درجه استری شدن، میزان گالاکترونیک اسید

صفات				تیمار
گالاکترونیک اسید (درصد)	درجه استری شدن (درصد)	پکتین استخراجی (درصد)	pH استریفیکاسیون	
۶۰/۵۴ a	۴۵/۱۱ b	۲۴/۵۳ b	۴/۳۲ a	۱ قسمت تفاله به علاوه ۱/۵ قسمت اسید (a ₁)
۵۵/۱۴ c	۵۳/۳۰ a	۲۳/۵۰ c	۴/۲۹ a	۱ قسمت تفاله به علاوه ۲/۵ قسمت اسید (a ₂)
۵۷/۴۳ b	۴۳/۷۲ c	۲۵/۶۰ a	۴/۳۱ a	۱ قسمت تفاله به علاوه ۳/۵ قسمت اسید (a ₃)

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

استخراج پکتین به روش پیش هیدرولیز از تفاله برخی...

بر اساس جدول ۳، اثر زمان هیدرولیز بر میانگین صفات مقدار پکتین استخراجی، درجه استری شدن، میزان اسید گالاکترونیک مؤثر و معنی دار است ($P < 0.05$).
 بر اساس جدول ۴، اثر دمای هیدرولیز نیز بر میانگین صفات مقدار پکتین استخراجی، درجه استری شدن، میزان اسید گالاکترونیک مؤثر و معنی دار است ($P < 0.05$).
 جدول ۵ نشان می‌دهد که حجم آب اضافه شده در مرحله پکتینازاسیون نیز بر میانگین صفات مقدار پکتین و گالاکترونیک اسید اثر معنی دار ($P < 0.05$) دارد ولی بر درجه استری شدن از نظر آماری اختلاف معنی دار ندارد.

جدول ۳- نتایج آزمون میانگین اثر زمان هیدرولیز بر صفات pH استریفیکاسیون، مقدار پکتین استخراجی، درجه استری شدن، میزان گالاکترونیک اسید

صفات				
تیما	pH استریفیکاسیون	پکتین استخراجی (درصد)	درجه استری شدن (درصد)	گالاکترونیک اسید (درصد)
زمان هیدرولیز ۲۴ ساعت (b ₁)	۴/۳۱ b	۲۸/۲۰ a	۴۶/۰۵ b	۵۸/۳۹ a
زمان هیدرولیز ۴۸ ساعت (b ₂)	۴/۳۰ c	۲۱/۶۳ c	۵۰/۶۱ a	۵۸/۳۲ a
زمان هیدرولیز ۷۲ ساعت (b ₃)	۴/۳۲ a	۲۳/۷۶ b	۴۵/۴۸ c	۵۶/۴۱ b

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر دمای هیدرولیز بر صفات pH استریفیکاسیون، مقدار پکتین استخراجی، درجه استری شدن، میزان گالاکترونیک اسید

صفات				
تیما	pH استریفیکاسیون	پکتین استخراجی (درصد)	درجه استری شدن (درصد)	گالاکترونیک اسید (درصد)
دمای هیدرولیز ۲۵ درجه سانتی‌گراد (C ₁)	۴/۳۱۳ a	۲۸/۴۳ a	۴۶/۶۸ b	۵۳/۸۶ b
دمای هیدرولیز ۴۵ درجه سانتی‌گراد (C ₂)	۴/۳۱۰ a	۲۰/۶۳ b	۴۸/۰۷ a	۶۱/۵۵ a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

جدول ۵- نتایج مقایسه میانگین اثر حجم آب اضافه شده در مرحله پکتینازاسیون بر صفات pH استریفیکاسیون، مقدار پکتین استخراجی، درجه استری شدن، میزان گالاکترونیک اسید

صفات				تیمار
گالاکترونیک اسید (درصد)	درجه استری شدن (درصد)	پکتین استخراجی (درصد)	pH استریفیکاسیون	
۶۲/۲۸ a	۴۷/۴۲ ab	۲۱/۵۳ c	۴/۳۴ a	حجم آب اضافه شده پس از هیدرولیز تفاله ۳۰۰ میلی لیتر (d ₁)
۵۷/۳۵ b	۴۶/۹۷ b	۲۵/۱۶ b	۴/۳۰ b	حجم آب اضافه شده پس از هیدرولیز تفاله ۴۵۰ میلی لیتر (d ₂)
۵۳/۴۸ c	۴۷/۷۴ a	۲۶/۹۳ a	۴/۲۸ b	حجم آب اضافه شده پس از هیدرولیز تفاله ۶۰۰ میلی لیتر (d ₃)

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

درجه استری شدن بر بقیه خصوصیات کیفی پکتین استخراجی تأثیر معنی دار داشت، البته در خصوص درجه استری شدن حجم‌های ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی لیتر در سطح ۵ درصد تأثیر معنی دار داشت. رقت بالا صاف کردن را ساده تر و میزان پکتین بیشتری نیز از تفاله استخراج می کند (در اثر حلال بیشتر) ولی آب اضافی در مرحله خشک کردن با صرف انرژی بیشتر از سیستم خارج می شود و از این رو حجم آب اضافه شده به میزان (۴۵۰ میلی لیتر) ارجح است.

برای تمامی تیمارها، pH پکتین استریفیکاسیون شده با کلرید آلومینیم بین ۴ و ۴/۵ بود که این نتیجه با نتایج تحقیقات فردیناند مطابقت دارد (Ferdinand & Steven, 1991).

خصوصیات کیفی پکتین استخراجی با خصوصیات کیفی پکتین استخراجی به روش اسیدی و پکتین تجارתי (HM) مقایسه شد (Haji-Esmaili, 2002). همان طور که در جدول ۶ مشاهده می شود، بازده استخراج پکتین با روش پیش هیدرولیز ۴ درصد کمتر از پکتین استخراجی به روش اسیدی است ولی درجه استری شدن با این روش ۱۰ درصد بیشتر و نسبت به پکتین تجارתי (HM) ۱۰

بنا بر نتایج به دست آمده، مقدار اسید لازم با توجه به مقدار و درجه استری شدن پکتین استخراجی تعیین شد و همان طور که نتایج نشان می دهد سطوح مختلف اسید بر مقدار پکتین (در هر سه سطح) معنی دار است. بالاترین بازده تولید و استخراج پکتین مربوط به سطح ۱ قسمت تفاله و ۳/۵ قسمت اسید است. ضمن آنکه مقدار پکتین حاصل از اسید با سطح ۲/۵ قسمت، کمتر از مقدار پکتین سطح ۳/۵ قسمت اسید است ولی به دلیل بالاتر بودن درجه استری شدن، این سطح اسید نسبت به سایر ارجح است. این نتیجه با نتایج تحقیقات فردیناند مطابقت دارد (Ferdinand & Steven, 1991).

بهترین زمان و دمای مناسب بر اساس درجه استری شدن و اسید گالاکترونیک پکتین استخراجی به ترتیب ۴۵ درجه سانتی گراد و ۴۸ ساعت انتخاب شد.

حجم آب اضافه شده در مرحله پکتینازاسیون به تفاله (۳۰۰، ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی لیتر) علاوه بر افزایش pH از ۰/۲۲ (pH اسید کلریدریک به تنهایی قبل از اضافه کردن تفاله خشک) به ۱ تا ۱/۵ موجب افزایش پکتین استخراجی شد که آن را می توان ناشی از انحلال پذیری پکتین دانست. علاوه بر این، حجم آب اضافه شده غیر از

استخراج پکتین به روش پیش هیدرولیز از تفاله برخی...

درصد کمتر است. میزان گالاکترونیک اسید با این روش ۲۰ درصد از پکتین استخراجی با روش اسیدی و ۲۸ درصد از پکتین تجارتي (HM) کمتر است. درجهٔ جانیشینی آمید با این مقدار با داده‌های جدول ۶ مطابقت دارد (Haji-Esmaelli, 2002).

جدول ۶- مقایسهٔ بین برخی خصوصیات کیفی پکتین تجارتي (HM)، پکتین تفاله چغندر (LM)، و پکتین استخراج شده به روش پیش هیدرولیز

نوع پکتین	درصد استخراج	درجهٔ استری شدن (درصد)	کل گالاکترونیک اسید (درصد)	درجهٔ جانیشینی آمید (درصد)	درجهٔ ژله‌ای شدن امتیاز
پکتین تجارتي (HM)	---	۶۸/۸	۸۸/۲۲	۷/۴۲	۱-۱۰
پکتین استخراج شده از تفاله چغندر قند توسط اسید	۱۹/۰۲	۴۷/۴۲	۸۲/۶۴	۸/۴۳	۶/۵
پکتین استخراج شده از تفاله چغندر قند با روش هیدرولیز با اسید کلریدریک	۱۴/۹۶	۵۸/۶۳	۶۳/۹۲	۱۴/۹۵	۷/۵

رسول به‌طور معنی‌دار بیشتر از ارقام دوروتی، Ic و Br1 است. با توجه به اینکه پکتین موجود در چغندر قند در عملیات قندسازی عاملی منفی تلقی می‌شود (Poor-Sead & Sajadi, 1985) پیشنهاد می‌شود برای ارتقای کیفیت چغندر قند از نظر صنایع قندسازی، این صفت مد نظر برنامه‌های به‌نژادی قرار گیرد.

بنابراین، استخراج پکتین با روش پیش هیدرولیز نسبت به سایر روش‌های تهیه پکتین از تفالهٔ چغندر قند (با توجه به اینکه پکتین تفاله چغندر قند از نوع متوکسیل کم است) برتری دارد و موجب ارتقای کیفیت پکتین استخراجی خواهد بود. اندازه‌گیری مقدار پکتین در ارقام مورد مطالعه در جدول ۷ نشان می‌دهد که مقدار پکتین در ارقام ۷۱۱۲ و

جدول ۷- مقایسهٔ میانگین مقدار پکتین استخراجی در ارقام تجارتي مورد مطالعه

ارقام تجارتي مورد مطالعه					پکتین استخراجی (درصد)
Br1	Ic	۷۱۱۲	رسول	دوروتی	
۱۷/۶۳ b	۱۷/۳۰ b	۲۰/۹۰ a	۲۱/۴۳ a	۱۸/۴۳ b	

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

مراجع

- Aimukhamedova, M. B. 1988. Methods of pectin extraction from beet pulp. Pishchevaya Promyshlennost. USSR No. 5, 19-20.
- Anon. 1996. Specification and test methods for pectin food grade. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. ISIRI No. 3624. (in Farsi)

- Anon. 2006. Sugar beet production. Iranian Syndicate of Sugar Industry. (in Farsi)
- Arslan, N. and Togrul, H. 1996. Filtration of pectin extract from grapefruit peel and viscosity of pectin solutions. *J. Food Eng.* 27(2): 191-201.
- Fatemi, H. 1999. Food chemistry. ENTESHAR Pub. Iran. (in Farsi)
- Ferdinand, L. G. and Steven, N. C. 1991. Process for production pectin with high to medium methoxyl content from beet pulp. Patent 5071970. USA.
- Fox, G. F., Endress, H. U., Herbs, R. and Fox, K. G. 1994. Process for recovery of pectin extract from sugar beet and its use. German Federal Republic Patent.
- Haji-Esmaelli, F. 2002. Extraction of pectin from sugar beet pulp. M. Sc. Thesis. Science and Research Branch. Islamic Azad University. Iran. (in Farsi)
- Hakimiyan, Z. 1972. Study on gum and pectin effect on food industries. M. Sc. Thesis. Nutrition Institute. (in Farsi)
- Hosseini Nejad Ramhormozi, L. and Barzin Poor, F. 1998. Preparation pectin of factories apple pulp. M. Sc. Thesis. Science and Research Branch. Islamic Azad University. Iran. (in Farsi)
- Hosseini, Z. 1999. Usually method in analyzing food. Shiraz University Pub. Iran. (in Farsi)
- Kalapathy, U. and Proctor, A. 2001. Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin. *Food Chem.* 73(4): 393-396.
- Karpovich, N. S., Suprunchuk, V. K., Kioresku, E. N., Donchenko, L. V., Nelina, V. V., Yarovaya, E. V., Telichuk, L. K., Slobodyan, O. P., Krapivnitskaya, I. A., Kizler, E. E. and Kirik, V. S. 1990. Production of pectin from sugar beet pulp. USSR-Patent 1 507 293.
- Kong, Z., Liu, Z. D. and Chen, S. T. 2000. Study on the extraction of pectin from apple pomace with microwaves. *J. Zhengzhou Grain College.* 21(2): 11-15.
- Miyamoto, A. and Chang, K. C. 1992. Extraction and physicochemical characterization of pectin from sunflower head residues. *J. Food Sci.* 57(6): 1439-1443.
- Parvaneh, V. 1993. Chemical experiment and Quality control of foods. Tehran University Pub. Iran. (in Farsi)
- Poor Sead, B. and Sajadi, A. 1985. Technology of sugar production from sugar beet. Iranian Syndicate of Sugar Industry. (in Farsi)
- Rahbar, A. 1996. Extraction and determination of pectin in Iranian lemon variety. M. Sc. Thesis. Nutrition Institute. (in Farsi)
- Sakamoto, T., Hours, R. A. and Sakai, T. 1995. Enzyme pectin extraction from protopectins using microbial protopectinases. *Process Biochemistry.* 30(5): 403-409.
- Salomov, Kh. T. and Yusupov, A. M. 1991. Intensified extraction of pectin. *Pishchevaya Promyshlennost.* USSR No. 9, 21-22.
- Sedaghat, N. 1997. Food Packaging Technology. Barsada Pub. Iran. (in Farsi)

استخراج پکتین به روش پیش هیدرولیز از تفاله برخی...

- Sheikholaslami, R. 1997. Laboratory methods and quality control in food processing. Mersa Pub. Iran. (in Farsi)**
- Sheikholaslami, R. 2003. Sugar Technology. Author. (in Farsi)**
- Shelukhina, N. P. 1990. Methods of pectin extraction. Pishchevaya Promyshlennost. USSR No. 5, 11-12.**
- Turquois, T., Rinaudo, M., Taravel F. R. and Heyraud, A. 1999. Extraction of highly gelling pectins from sugar beet pulp. Food Hydro. 13(3): 255-262.**
- Vosoghi, M. 1997. Production and purification pectin of apple losses. Research Report No. 164. Agricultural Engineering Research Institute. Iran. (in Farsi)**
- Yapo, B. M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B. and Paquot, M. 2007. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. Food Chem. 100(4): 1356-1364.**



Pectin Extraction from Commercial Cultivars of Sugar Beet Pulp Using the Pre-hydrolysis Technique

(Technical Note)

A. Mirmajidi* and B. Babaie

*Corresponding Author: Academic Member, Agricultural Engineering Research Institute, P. O. Box: 31585-845, Karaj, Iran.
E-mail: adelmirmajidi@yahoo.com

Pectin is used as gelatinizing agent in food industry. In this study pectin was extracted from five commercial sugar beet varieties namely: Doroty, Rasul, 7112, Br1 and Ic using pre-hydrolysis technique. Experiments were conducted using factorial design to verify the effect of temperature, time, percentage of HCl and water requirements on the extraction rate of pectin. The qualitative factors of pectins extracted were compared with high methoxyl (HM) and low methoxyl (LM) pectins as control. Most suitable hydrolysis was maintained using the mixture of 2.5 parts of dried pulp and 5% HCl (v/v) at the temperature of 45°C and time of 48 hours. The most favorable results were obtained by addition of 450 ml H₂O during extraction. Also qualitative analysis of pre-hydrolysed pectin was resulted in 14.96% extraction efficiency, 58.63% esterification value, 63.92% galacturonic acid and 14.95% amide substitution value. The esterification degree of pectin obtained by pre-hydrolysis technique was 10% higher and 10% lower than those for the pectins obtained by acid extraction technique and commercial extraction method, respectively. Amide substitution degree using pre-hydrolysis technique was 6.5% and 7.5% higher than those for the acid and commercial extraction, respectively. Since, pre-hydrolysis technique of pectin extraction gained better results as compared to other methods, therefore, it can be concluded that the pre-hydrolysis technique is better than extraction by acid method. Moreover, cultivars 7112 and Rasul had significantly higher pectin content than cultivars Ic and Br1. Considering that the presence of pectin during the sugar-making process is not desirable for the processing of sugar, it is of great importance to decrease the pectin content of sugar beet during breeding programs.

Key Word: Extraction, Pectin, Pre-Hydrolysis, Pulp, Sugar Beet