



استخراج و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین استخراجی از ضایعات کلاhek بادمجان

لیلا ناطقی^{۱*}، سمیه انصاری^۲

۱. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
۲. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

(تاریخ دریافت: 96/2/21، تاریخ بازنگری: 96/5/3، تاریخ پذیرش: 96/5/13)

چکیده

همراه با افزایش تولید و فراوری میوه و سبزیجات، فراورده‌های جانبی زیادی به وجود می‌آید. کلاhek حاصل از بادمجان نیز یکی از فراورده‌های جانبی است که دارای مواد با ارزشی مانند پکتین است و می‌تواند هم از جنبه اقتصادی و هم از نظر زیست محیطی سودمند باشد. هدف کلی از این پژوهش بررسی تاثیر سه متغیر دما 60، 75، 90 درجه سانتی‌گراد، زمان به میزان 50، 100، 150 دقیقه و pH به مقدار 1/5، 2/25 و 3 بر میزان بازدهی، درصد گالاکتورونیک اسید و درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده از کلاhek بادمجان بود. از روش سطح پاسخ به منظور بهینه‌سازی شرایط استخراج استفاده گردید. جهت بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین به دست آمده آزمون‌های پایداری امولسیون در روزها و دماهای مختلف و بررسی رفتار جریانی در غلظت‌های متفاوت و FT-IR انجام گردید. مطابق با نتایج، بالاترین بازدهی استخراج پکتین از کلاhek بادمجان، 12/30 درصد بود که در دمای 90 درجه سانتی‌گراد، زمان 150 دقیقه و pH 1/5 مشاهده گردید. بالاترین میزان درصد گالاکتورونیک اسید پکتین استخراجی از کلاhek، 39/84 درصد، در شرایط دمای 75 درجه سانتی‌گراد، زمان 100 دقیقه و pH 2/25 مشاهده گردید. بالاترین درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی از کلاhek 51/75 درصد در شرایط دمای 60 درجه سانتی‌گراد، زمان 50 دقیقه و pH 3 بود. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که دمای استخراج موثرترین فاکتور بر بازده و درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده بود. بیش‌ترین پایداری امولسیون پکتین کلاhek بادمجان در دمای 4 درجه سانتی‌گراد و روز اول بوده است. با افزایش غلظت نمونه‌های پکتین (از 0/1 تا 2 درصد)، ویسکوزیته آن‌ها افزایش یافته است و رفتار تمام نمونه‌ها نیوتنی بوده و اندیس جریان آن‌ها نزدیک به یک بود. نتایج FT-IR نیز نشان داد که جذب قوی بین 3000 سانتی‌متر در نمونه پکتین استخراج شده مربوط به لرزش داخل و خارج سلولی باند هیدروژنی در پلیمر گالاکتورونیک اسید بوده است.

واژه‌های کلیدی: بهینه‌سازی استخراج، کلاhek بادمجان، پکتین، خصوصیات فیزیکوشیمیایی.

* نویسنده مسئول: l.nathegi@iauvaramin.ac.ir

1- مقدمه

پکتین یک ترکیب طبیعی است که در گیاهان وجود داشته و نقش مهمی را در ساختار دیواره سلولی بر عهده دارد و همچنین در بر دارنده گروهی از پلی‌ساکاریدهای غنی از واحدهای گالاکتورونیک اسید به همراه مقدار کمتری از فندهای مختلف می‌باشد [1]. دو فرم تجاری از پکتین، در دسترس هستند: پکتین با درجه متیلاسیون بالا و پایین به ترتیب پکتین پراستر و کم استر هستند. پکتین پراستر در محلول‌های حاوی مواد جامد محلول زیاد و سیستم اسیدی تشکیل ژل می‌دهند در حالی که پکتین‌های کم استر در pHهای گسترده‌تر و محدوده مواد جامد بزرگ‌تر تشکیل ژل می‌دهند اما به وجود کاتیون‌های دو ظرفیتی برای تشکیل ژل نیاز دارند [2]. از مهم‌ترین خصوصیات پکتین می‌توان به رهایش بسیار خوب طعم، خصوصیات فراوری خوب و پایداری در pHهای کم اشاره کرد. امروزه از پکتین علاوه بر استفاده به عنوان عامل ژل‌کننده، به عنوان قوام‌دهنده، عامل پایدارکننده و پوشش خوراکی نیز استفاده می‌شود. پکتین در محصولات مختلف مانند محصولات بر پایه میوه‌ها، محصولات نانوائی، محصولات لبنی، داروها، نوشیدنی‌های شیری و به‌عنوان فیبر رژیمی و محصولات قنادی استفاده می‌شود. همچنین از پکتین در صنایع داروسازی نیز بهره زیادی برده می‌شود [3]. امروزه به صورت تجاری پکتین از پوست مرکبات و تفاله سیب و چغندر قند استحصال می‌شود که هر کدام بر اساس منبع استخراج، تنوع زیادی از لحاظ ساختاری و عملکرد دارند [4]. به‌طور تقریبی پکتین در تمام میوه‌جات و سبزیجات یافت می‌شود؛ لذا پژوهش‌های زیادی در زمینه استخراج این ترکیب از ضایعات سبزی‌ها انجام گرفته است. اینها و همکاران، به استخراج و بررسی خصوصیات پکتین از پوست لیمو، گریپ فروت و پرتقال شیرین پرداختند. در این مطالعه از روش ترسیب با الکل برای استخراج پکتین استفاده گردید و این پژوهشگران به مقایسه خصوصیات این پکتین‌های استخراج شده مانند محتوای متوکسیل، حلالیت در آب سرد و گرم مبادرت نموده و بیان نمودند که محتوای متوکسیل و حلالیت پکتین استخراج شده از پوست پرتقال شیرین نسبت به سایر گونه‌ها، بیش‌تر بوده است [5]. حسینی و همکاران، از پوست خربزه آناناسی، طالبی سمسوری و گالیا به کمک امواج

مایکروویو پکتین استخراج و گزارش نمودند پکتین حاصل از هر سه محصول دارای بازدهی و درجه خلوص مطلوبی بوده و از هر سه محصول ضایعاتی می‌توان به‌عنوان منبع پکتین استفاده نمود [6].

بادمجان گیاهی است یک ساله و دارای ساقه به‌نسبت ضخیم و پوشیده از کرک که ارتفاع ساقه آن تا 70 سانتی‌متر می‌رسد. برگ‌های بیضی شکل با نوک باریک و گل‌های آن بنفش رنگ است. میوه این گیاه دراز و باریک و یا گرد است که به رنگ‌های بنفش، سیاه، زرد و سفید دیده می‌شود. بادمجان علاوه بر داشتن ویتامین‌ها و مواد معدنی گوناگون، شامل مواد گیاهی مهمی می‌باشند که فعالیت‌های ضد اکسایشی دارند [7]. در حین فراوری و کنسرو سازی بادمجان، کلاهدک آن جزو ضایعات بوده و دور ریخته می‌شود [8]. از این رو در این مطالعه، تلاش شد تا از ضایعات کلاهدک بادمجان در جهت استخراج پکتین که ماده‌ای ارزشمند در صنایع غذایی می‌باشد، استفاده گردد. بنابراین روش استخراج پکتین به‌وسیله روش سطح پاسخ، بهینه‌سازی شد و خصوصیات پکتین استخراج شده در شرایط بهینه مورد بررسی قرار گرفت.

2- مواد و روش‌ها

2-1- تولید پودر کلاهدک بادمجان

بادمجان (*Solanum melongena*) از بازار محلی در تهران تهیه شد. کلاهدک از بادمجان جدا گردید و سپس به خوبی با آب شستشو داده شده و به قطعات کوچک بریده شد. در مرحله بعد، در آون مدل UF55/UN55، شرکت Mommert، ساخت کشور آلمان با دمای 65 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت خشک گردید تا به وزن ثابت برسد سپس با استفاده از آسیاب مدل ML-320P، شرکت پارس خزر، ساخت ایران پودر شده و با مش 60 الک گردید [9]. پودر تولیدی برای مصارف بعدی در ظرف پلی اتیلنی و در جای خشک و دمای 25 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

مواد مورد استفاده برای آزمون‌ها شامل اسید سیتریک، اتانول، تترا بورات سدیم، سدیم هیدروکسید، فنل فتالین، هیدروکلریک اسید و سدیم آزید از شرکت Merk، آلمان خریداری شد. معرف متا هیدروکسی دی فنیل و استاندارد

گالاکتورونیک اسید از شرکت Sigma، آمریکا تهیه گردید. روغن آفتاب گردان از شرکت اویلا، ایران فراهم گردید.

2-2- استخراج پکتین

در این تحقیق برای استخراج پکتین از روش فتیحی و همکاران [9]، با اندکی تغییر به شرح زیر استفاده شد. ابتدا 3 گرم نمونه پودر خشک شده را در ارلن ریخته و با 90 میلی لیتر آب مقطر اسیدی شده با اسید سیتریک با pHهای مشخص

2-3- بازده تولید پکتین

برای به دست آوردن بازده تولید پکتین از معادله (1) استفاده گردید [9].

$$(1) \quad 100 \times \frac{\text{وزن پکتین خالص}}{\text{وزن ماده اولیه}} = \text{بازده تولید پکتین (\%)}$$

2-4- اندازه گیری محتوای اسید گالاکتورونیک

میزان اسید گالاکتورونیک مطابق با روش مسیبی و همکاران اندازه گیری شد [10]. درصد گالاکتورونیک اسید پکتین استخراج شده از پوست بادمجان با روش رنگ سنجی با استفاده از معرف متاهیدروکسی دی فنیل با استفاده از اسپکتروفتومتر Shimadzu، مدل UV-1700، ساخت کشور ژاپن اندازه گیری شد. 0/05 گرم از نمونه پکتین های استخراج شده در یک ارلن 250 میلی لیتری با آب مقطر دیونیزه به حجم رسانده شد. مخلوط توسط همزن مغناطیسی همزده شد تا به طور کامل حل شود. 1 میلی لیتر از این محلول رقیق حاوی پکتین به 3 لوله آزمایش شیشه ای که یک لوله آزمایش برای اندازه گیری جذب نمونه شاهد و دو لوله برای اندازه گیری جذب نمونه پکتین در داخل مخلوط آب یخ غوطه ور بودند، منتقل شد. سپس 6 میلی لیتر از محلول تترابورات سدیم که

در این تحقیق برای استخراج پکتین از روش فتیحی و همکاران [9]، با اندکی تغییر به شرح زیر استفاده شد. ابتدا 3 گرم نمونه پودر خشک شده را در ارلن ریخته و با 90 میلی لیتر آب مقطر اسیدی شده با اسید سیتریک با pHهای مشخص 1/50، 2/25 و 3 مخلوط شده و در حمام آب گرم با دماهای 60، 75 و 90 درجه سانتی گراد به مدت مشخص 50، 100 و 150 دقیقه توسط همزن مغناطیسی مدل Topolino، شرکت IKA، ساخت کشور آلمان همزده و حرارت داده شد. دامنه آزمایش برای هر فاکتور بر اساس نتایج آزمایشات اولیه انتخاب گردید (جدول 1). پس از طی زمان لازم برای استخراج نمونه ها از حمام آب گرم خارج شدند و محلول 2 مرتبه با پارچه متقال صاف شد و برای جداسازی ذرات معلق باقی مانده در محلول از سانتریفوژ مدل PIT320 R، شرکت یونیورسال، آلمان در 4000 آرپی ام به مدت 20 دقیقه استفاده شد. سپس برای جداسازی ذرات جامد از عصاره مایع رویی پس از سانتریفوژ از کاغذ صافی شماره 41 عبور داده شد عصاره حاوی پکتین در یخچال گذاشته شده و پس از رسیدن به دمای 4 درجه سانتی گراد، اتانول 96 درصد با نسبت 1 به 2 عصاره به الکل جهت ترسیب پکتین به آن اضافه گردید و یک شب در یخچال نگهداری شد تا به طور کامل پکتین رسوب کرده و تعادل برقرار شود. سپس رسوب پکتین توسط سانتریفوژ در 4000 آرپی ام به مدت 15 دقیقه از مایع جدا شد. مایع رویی را خارج کرده و رسوب باقی مانده جهت حذف ناخالصی ها با اتانول 70 درصد و سپس با اتانول 96 درصد شستشو داده شد. پس از هر مرحله

جدول (1) متغیرهای مستقل و سطوح آنها به منظور استخراج پکتین از کلاهدک بادمجان
Table 1 Independent variables and their levels in order to extract pectin from the eggplant cap

متغیرهای مستقل Independent variables	مدل Model	-1	0	+1
دما (درجه سانتی گراد) Temperature (°C)	A	60	75	90
زمان (دقیقه) Time (min)	B	50	100	150
pH	C	1.5	2.25	3

$$DE(\%) = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \times 100$$

(2) از قبل آماده شده بود، را به هر کدام از لوله آزمایش‌ها اضافه و لوله‌ها و رتکس شدند تا محتویات آن‌ها به‌طور کامل مخلوط شود. محتویات داخل لوله‌ها در حمام آب جوش 100 درجه سانتی‌گراد به مدت 6 دقیقه حرارت داده و بعد از گذراندن مدت زمان قید شده، فوراً تا درجه حرارت اتاق سرد شد. به دو لوله آزمایش حاوی نمونه پکتین 0/1 میلی‌لیتر معرف متا هیدروکسی دی فنیل و به لوله آزمایش حاوی نمونه شاهد 0/1 میلی‌لیتر محلول سدیم هیدروکسید 0/5 درصد اضافه و محتویات هر لوله به‌طور کامل مخلوط شد. لوله‌های آزمایش در درجه حرارت اتاق به مدت 15 دقیقه باقی ماندند و سپس جذب محتویات هر لوله در طول موج 520 نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی کالیبراسیون با اندازه‌گیری جذب محلول‌های استاندارد گالاکتورونیک اسید در محدوده غلظت‌های استاندارد 20-40-60-80-100 میکروگرم بر میلی‌لیتر در 520 نانومتر تهیه و غلظت گالاکتورونیک اسید در هر نمونه پکتین با استفاده معادله رگرسیون خطی منحنی کالیبراسیون و بر اساس وزن خشک پکتین، محاسبه شد.

2-6- اندازه‌گیری خصوصیات امولسیون

از روش دالو و همکاران، با کمی تغییر برای اندازه‌گیری فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون استفاده شد. بدین منظور 5 میلی‌لیتر روغن آفتاب‌گردان را با 5 میلی‌لیتر محلول پکتین 0/5 وزنی/وزنی مخلوط و 0/02 درصد سدیم آزید برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها به آن اضافه و در مرحله بعد نمونه‌ها توسط هموژنایزر مدل 500، شرکت Tetrapak ساخت کشور آلمان در دور 10000 آرپی‌ام به مدت 4 دقیقه مخلوط شدند. سپس امولسیون ایجاد شده برای 5 دقیقه در دور 3000 آرپی‌ام سانتریفیوژ شد. فعالیت امولسیونی با توجه به معادله (3) محاسبه می‌شود [12].

$$EA(\%) = \frac{ELV}{Wt} \times 100$$

در معادله بالا، EA فعالیت امولسیونی، ELV حجم امولسیون شده و Wt حجم کل محلول می‌باشد.

هم‌چنین برای اندازه‌گیری پایداری امولسیون، نمونه به مانند روش بالا تهیه و در 4 لوله سانتریفیوژ 10 میلی‌لیتری ریخته شد. 2 لوله برای اندازه‌گیری پایداری امولسیون در دماهای پایین، در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 1 و 30 روز و 2 لوله دیگر نیز در دمای 23 درجه سانتی‌گراد برای مدت مذکور قرار گرفتند.

پایداری امولسیون با استفاده از معادله (4) به‌دست آمد.

$$ES(\%) = \frac{VEr}{VEi} \times 100$$

که در آن ES پایداری امولسیون، VEr حجم لایه امولسیون باقی‌مانده و VEi حجم لایه امولسیون اولیه می‌باشد.

2-7- اندازه‌گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته غلظت‌های مختلف محلول پکتین به‌وسیله ویسکومتر چرخشی مدل DV III Ultra، شرکت Brookfield

2-5- درجه استریفیکاسیون (DE)

درجه استریفیکاسیون پکتین با استفاده از روش تیتراسیون با کمی تغییر اندازه‌گیری شد. بدین منظور 0/2 گرم از نمونه پکتین خشک شده با 2 میلی‌لیتر اتانول 98 درصد مرطوب شد. سپس 20 میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه به آن اضافه شده و تا حل شدن کامل در دمای 40 درجه سانتی‌گراد بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. بعد از حل شدن کامل نمونه، 2 قطره فنل فتالین به آن اضافه و با سود 0/1 نرمال تا ظهور رنگ صورتی کم رنگ تیتراژ شد. حجم سود مصرف شده به عنوان V_1 ثبت شد. به محلول خنثی شده در مرحله اول تیتراسیون 10 میلی‌لیتر سود 0/1 مولار اضافه و به مدت 2 ساعت بر روی همزن مغناطیسی به هم زده شد تا پکتین صابونی شود. 10 میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید 0/1 مولار به آن اضافه و به هم زده شد تا رنگ صورتی کاملاً ناپدید شود. اسید اضافی با سود 0/1 نرمال تا رسیدن به همان نقطه پایانی تیتراژ و حجم سود مصرفی به‌عنوان V_2 یادداشت شد. درصد استری شده با توجه به معادله (2) محاسبه می‌شود [11].

($p < 0/05$) دارد. به طوری که بازده تولید برای کلاهدک از 0/87 تا 12/300 درصد متغیر بود. نتایج نشان داد با افزایش دما از 60 به 90 درجه سانتی گراد، زمان استخراج از 50 به 150 دقیقه و کاهش pH از 3 به 1/50 اثر معنی دار در افزایش بازده پکتین داشت ($p < 0/05$). به طوری که بالاترین بازدهی در شدیدترین شرایط استخراج پکتین از کلاهدک بادمجان 12/300 درصد در دمای 90 درجه سانتی گراد، زمان 150 دقیقه و pH، 1/5 و کمترین بازدهی 5/870 درصد در دمای 60 درجه سانتی گراد، زمان 50 دقیقه و pH 3 به دست آمد. افزایش بازدهی با افزایش زمان استخراج می تواند به این دلیل باشد که افزایش حرارت باعث افزایش حلالیت پکتین شده و سرعت استخراج افزایش می یابد. علت رابطه افزایش بازدهی با کاهش pH مطابق با گزارشات متون علمی می تواند مربوط به تأثیر اسید بر دیواره سلولی محصول اولیه و آزادسازی پکتین در محلول استخراج شده باشد. بنابراین هرچه اسید قوی تر باشد، تخریب دیواره سلولی بیش تر می گردد و در نتیجه آزادسازی و تولید پکتین نیز بیش تر خواهد بود [14، 15].

در تایید نتایج حاصل از تحقیق حاضر این گونه می توان بیان نمود که حلال بایستی اول به درون بافت تفاله خشک نفوذ کرده، پکتین را در خود حل و در ادامه آن را به بیرون از بافت تفاله تراوش کند و افزایش درجه حرارت باعث افزایش حلالیت پکتین استخراج شده و در نتیجه باعث افزایش سرعت استخراج می گردد [16]. بسیاری از محققین گزارش کرده اند دمای بالا موجب افزایش بازدهی استخراج می شود [17، 18] و دلیل افزایش بازدهی در دماهای بالاتر، را به دلیل افزایش حلالیت پلی ساکاریدها در حلال استخراجی و هم چنین افزایش انتقال جرم از ماده به محلول گزارش کرده اند [19، 20] هم چنین با افزایش درجه حرارت ضریب نفوذ افزایش یافته و از این رو سرعت انتشار تقویت خواهد گردید [21].

چهار باغی و همکاران، در پژوهشی به ارزیابی شرایط بهینه استخراج پکتین از پوسته سبز پسته به روش اسیدی پرداختند. در پژوهش مذکور 4 متغیر pH به میزان 0/5- 2/5، دما در محدوده 50-90 درجه سانتی گراد، زمان استخراج 30-150 دقیقه و نسبت جامد به مایع به مقدار 10-50 حجمی/وزنی توسط طرح مرکب مرکزی روی بازدهی استخراج پکتین مورد

ساخت کشور آمریکا در دمای 25 درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. برای هر آزمون حدود 20 میلی لیتر از نمونه به سیلندر اندازه گیری منتقل شد.

2-8- طیف FT-IR و تغییرات ویسکوزیته

طیف FT-IR و تغییرات ویسکوزیته در برابر افزایش نرخ برش در محدوده 110-12 ثانیه اندازه گیری شد. برای آنالیز رفتار رئولوژیکی نمونه ها از مدل های نیوتونی و قانون توان استفاده شد [13].

در این مطالعه، طیف FT-IR پکتین با تفکیک پذیری 4 سانتی متر ثبت شد. این طیف به وسیله اسپکتروفتومتر ماورای بنفش FT-IR مدل 27 Tensor، شرکت Burker ساخت کشور آلمان در طول موج 520 نانومتر اندازه گیری شد و با استفاده از صفحه پتاسیم برماید در دامنه 400-4000 سانتی متر رسم گردید [11].

2-9- طراحی آزمایش و تجزیه تحلیل آماری

برای طراحی تیمارها از روش فاکتوریل کامل و برای ارزیابی شرایط بهینه استخراج پکتین از کلاهدک بادمجان روش آماری سطح پاسخ توسط نرم افزار مینی تب 16 مورد استفاده قرار گرفت. اثر سه متغیر مستقل دما (A)، زمان (B) و pH (C) در سه سطح بر روی مقادیر متغیر وابسته شامل بازدهی استخراج، درصد گالاکتورونیک اسید و درجه استریفیکاسیون، خواص امولسیفایری و ویسکوزیته در سطح اطمینان 95 درصد مورد بررسی قرار گرفت. سطوح متغیرهای مستقل به صورت حقیقی و کد شده در شرایط مختلف برای استخراج پکتین از کلاهدک بادمجان ارائه شده است.

3- نتایج و بحث

3-1- بازدهی استخراج پکتین از کلاهدک بادمجان

بازدهی استخراج پکتین از کلاهدک بادمجان و مقادیر پیش بینی شده در شرایط مختلف بازدهی استخراج پکتین از کلاهدک بادمجان توسط نرم افزار در جدول (2)، گزارش شده است. با توجه به نتایج جدول (2)، مشاهده می شود که شرایط متفاوت استخراج تأثیر قابل توجهی روی بازده پکتین و سطح معنی دار

جدول (2) مقایسه بین بازدهی پکتین استخراج شده از کلاhek بادمجان آزمون شده با پیش بینی شده در شرایط مختلف

Table 2 Comparison between the yields of pectin extracted from the tested eggplant cap with predicted in different conditions

تیمار	دما (سانتی‌گراد)	زمان (دقیقه)	pH	بازدهی استخراج (درصد)	بازدهی استخراج پیش بینی شده (درصد)
Treatment	Temperature (°C)	Time (min)	pH	Extraction yield (%)	Predicted extraction yield (%)
1	75	100	3.00	8.20	8.155
2	75	150	2.25	9.50	9.290
3	90	150	1.50	12.30	12.134
4	90	100	1.50	12.01	11.943
5	90	50	2.25	10.11	10.204
6	60	100	1.50	8.04	8.020
7	90	150	3.00	9.54	9.465
8	60	50	2.25	6.63	6.615
9	75	50	1.50	9.90	10.086
10	75	100	1.50	10.11	10.373
11	60	150	2.25	7.01	7.191
12	90	50	1.50	11.85	11.699
13	75	50	2.25	8.96	8.800
14	90	100	3.00	9.35	9.305
15	60	150	3.00	6.50	6.469
16	60	50	3.00	5.87	5.924
17	75	100	2.25	9.42	9.071
18	60	150	1.50	8.54	8.298
19	60	50	1.50	7.75	7.690
20	60	100	3.00	6.22	6.223
21	90	50	3.00	9.01	9.093
22	75	50	3.00	7.93	7.900
23	75	150	1.50	10.35	10.607
24	90	100	2.25	10.30	10.431
25	75	150	3.00	8.27	8.358
26	90	150	2.25	10.41	10.607
27	60	100	2.25	6.80	6.929

ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد حداکثر تولید پکتین از پوسته سبز پسته در شرایط مطلوب یعنی pH برابر 0/5، درجه حرارت 90 درجه سانتی‌گراد، زمان 30 دقیقه و نسبت جامد به مایع 50 حجمی /وزنی، 22/1 درصد بود [22]. عوامل بسیاری روی افزایش بازدهی پکتین می‌تواند موثر باشد ماران و همکاران در تحقیقی گزارش کردند استفاده از امواج مایکروویو می‌تواند به صورت معنی‌داری بازدهی استخراج پکتین از پوست محصولات گیاهی را افزایش دهد [23]. حسینی و همکاران نیز، با کمک مایکروویو به استخراج پکتین از پوسته نارنج پرداختند و گزارش کردند بیش‌ترین بازدهی استخراج در pH برابر 1/50 قدرت مایکروویو 700 وات، زمان تابش 3 دقیقه برابر با 29/1 درصد بوده است [24].

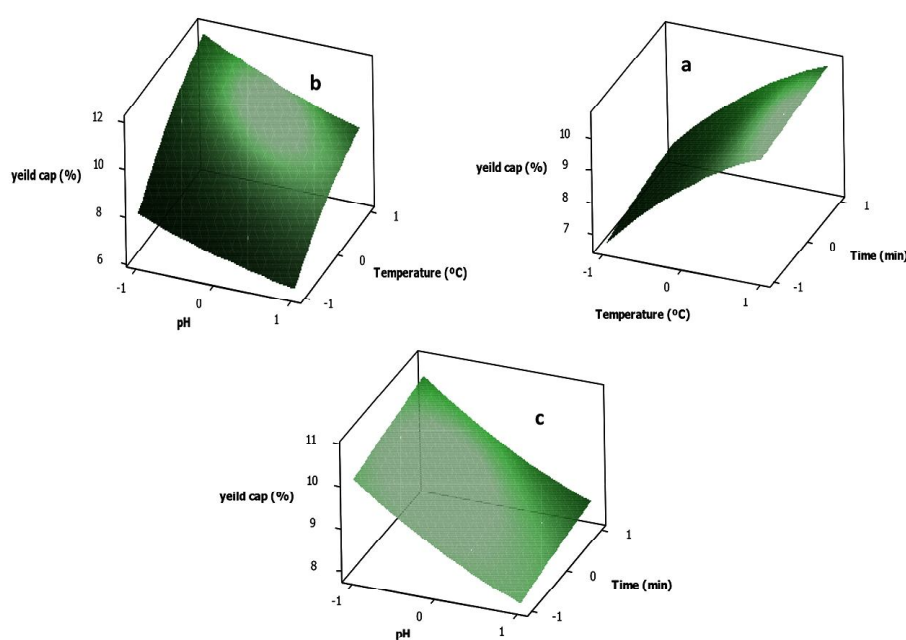
نتایج جدول (2) نشان داد اختلاف معنی‌داری بین مقادیر تجربی و پیش‌بینی شده بازدهی پکتین استخراجی از کلاhek بادمجان مشاهده نگردیده است ($p < 0/05$). تجزیه و تحلیل واریانس مدل سطح پاسخ بر روی این مدل چند جمله‌ای درجه دوم انجام شد که نتایج آن در جدول (3) نشان داده شده است. همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌گردد مقدار ضریب تبیین این مدل (R^2)، 99/23 درصد و ضریب تبیین اصلاح شده آن (R^2 -adj)، 98/82 درصد به‌دست آمد که نشان دهنده

برازش خوب مدل به داده‌های آزمایشی است. بر طبق جدول (4)، اثرات خطی هر سه متغیر زمان، دما و pH، اثرات درجه دوم دما و pH استخراج و نیز اثر متقابل بین دما × pH بر روی بازدهی پکتین معنی‌دار بود ($p < 0/05$) به طوری که با افزایش دما و زمان و کاهش pH میزان استخراج به شکل معنی‌داری افزایش نشان داد. اثرات سطحی و متقابل بر بازدهی استخراج پکتین از کلاهک بادمجان در شکل (1) نشان داده شده است. مطابق با جدول (4) اثرات درجه دوم زمان و اثرات متقابل بین دما × زمان و زمان × pH بر روی بازدهی پکتین معنی‌دار نبود ($p < 0/05$). هم‌چنین دمای استخراج موثرترین فاکتور بر بازده پکتین بود.

جدول (3) مدل رگرسیونی برای متغیرهای وابسته توسط مدل سطح پاسخ

Table 3 Regression model for dependent variables by response surface model

R ² -adj	R ²	مدل Model	منبع Source
98.82	99.23	$9.0714 + 1.7511A + 0.2450B - 1.1088C - 0.0433AB - 0.2100AC - 0.01583BC - 0.3911A^2 - 0.0261B^2 + 0.1922C^2$	بازدهی Yeild
89.12	92.88	$38.8389 - 1.5200A - 0.0061B + 1.3583C - 0.3800AB + 0.8092AC + 0.0767BC - 4.3167A^2 - 0.9750B^2 - 2.3317C^2$	گالاکتورونیک اسید Galacturonic acid
97.81	98.57	$30.6830 - 12.5389A - 1.3389B + 4.0194C + 0.9950AB - 0.7742AC - 0.7008BC + 0.4511A^2 + 0.2311B^2 - 0.2339C^2$	درجه استریفیکاسیون Esterification degree



شکل (1) اثرات سطحی و متقابل بر بازدهی استخراج پکتین از کلاهک بادمجان (a) درجه حرارت و زمان استخراج، (b) درجه حرارت و pH استخراج، (c) زمان و pH

Fig. 1 Surface and interaction effects on pectin extraction yield from eggplant cap (a) temperature and extraction time, (b) temperature and pH extraction, (c) time and pH

جدول (۴) نتایج آنالیز واریانس پکتین استخراجی از کلاهک بادمجان

Table 4 Analysis of variance results of pectin extraction from eggplant cap

منبع	Source	بازدهی P Yield P	بازدهی F Yield F	کالاکتورویک اسید F Galacturonic acid F	کالاکتورویک اسید P Galacturonic acid P	درجه استریفیکاسیون F Esterification degree F	درجه استریفیکاسیون P Esterification degree P
رگرسیون	Regression	0.000*	243.38	24.66	0.000*	130.04	0.000*
اثرات خطی	Linear effect	0.000*	714.67	23.59	0.000*	386.84	0.000*
دما (A)	Temperature (A)	0.000*	1509.25	39.34	0.000*	1041.62	0.000*
زمان (B)	Time (B)	0.000*	29.54	0.00	0.980	11.88	0.003*
pH (C)	pH (C)	0.000*	605.21	31.42	0.000*	107.03	0.000*
اثرات درجه دوم	Square effect	0.000*	10.42	47.34	0.000*	0.23	0.875
دما × دما (A ²)	Temperature × Temperature (A ²)	0.000*	25.10	105.77	0.000*	0.45	0.512
زمان × زمان (B ²)	Time × Time (B ²)	0.742	0.11	5.40	0.033	0.12	0.735
زمان × زمان (B ²)	Time × Time (B ²)	0.025*	6.06	30.86	0.000*	0.12	0.732
pH × pH (C ²)	pH × pH (C ²)	0.011*	5.06	3.05	0.057	3.06	0.056
اثر متقابل	Interaction effect						
دما × زمان (A×B)	Temperature × Time (A×B)	0.443	0.62	1.64	0.218	4.37	0.052
دما × pH (A×C)	Temperature × pH (A×C)	0.001*	14.47	7.43	0.014	2.65	0.122
زمان × pH (B×C)	Time × pH (B×C)	0.778	0.08	0.07	0.799	2.17	0.159

اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) Significant difference ($p \leq 0.05$)

از 1/5 به 2/25 درصد گالاکتورونیک اسید به شکل معنی‌داری افزایش یافت و نیز زمان هم اثر معنی‌داری بر روی تغییرات میزان گالاکتورونیک نداشت. بیش‌ترین درصد گالاکتورونیک اسید برای کلاهک در دمای 75 درجه سانتی‌گراد، زمان 100 دقیقه و pH برابر با 2/25 با 39/840 درصد و کم‌ترین درصد گالاکتورونیک اسید برای پکتین استخراج شده از کلاهک 27/90 درصد در شرایط دمای 90 درجه سانتی‌گراد، زمان 150 دقیقه و pH برابر با 1/5 بوده است. یکی از دلایل افزایش خلوص در pH برابر با 2/25 و دمای 90 درجه سانتی‌گراد، هیدرولیز اساسی قندهای خنثی پکتین در pH بیش‌تر از 2 و دماهای بالا است. هم‌چنین کاهش خلوص پکتین در pH برابر با 1/5 و دماهای بالاتر استخراج احتمالاً ناشی از این بود که محلول اسیدی قوی می‌تواند منجر به تجزیه پکتین با وزن مولکولی بالا به زنجیره پکتینی با وزن مولکولی پایین محلول در اثر هیدرولیز جزئی پکتین شود و این مولکول‌ها ممکن است با افزایش الکل رسوب ندهند [27].

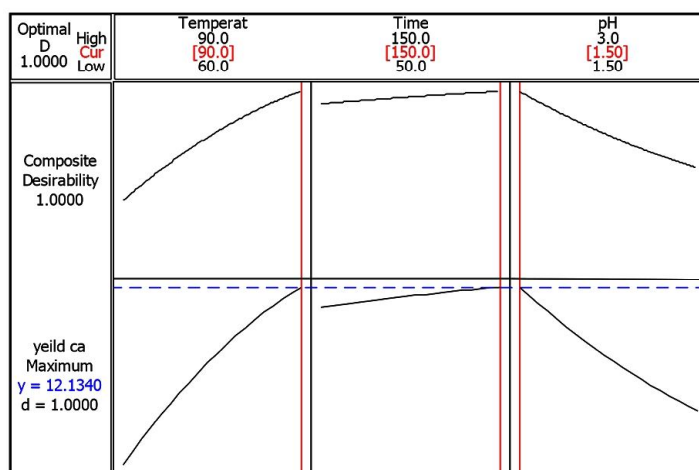
امگا و همکاران با استخراج پکتین از سیب دریافتند که در pH برابر با 2، بازده کم‌تر از pH برابر با 1/5 بوده اما میزان گالاکتورونیک اسید در pH برابر با 2 بیش‌تر بوده است [28]. اما برخلاف تحقیق حاضر، یاپو و همکاران، پکتین را از چغندر قند در شرایط مختلف استخراج کرده و دریافتند که pH موثرترین فاکتور بر درصد گالاکتورونیک اسید بوده و پکتین استخراج شده در pH برابر با 1/5 از پکتین استخراج شده در

3-1-1- شرایط بهینه بازدهی استخراج پکتین از کلاهک بادمجان

مطابق با شکل (2) پیش‌بینی شد حداکثر بازدهی یا میزان پکتین استخراجی از کلاهک بادمجان 12/13 درصد با 100 درصد مطلوبیت متعلق به دمای 90 درجه سانتی‌گراد، زمان 150 دقیقه و pH برابر با 1/5 بود. نتایج پیش‌بینی شده توسط آزمایشات تاییدی با دو بار تکرار انجام و اختلاف معنی‌داری بین مقادیر پیش‌بینی شده و واقعی مشاهده نگردید. جعفری و همکاران گزارش کردند در شرایط بهینه استخراج پکتین از تفاله هویج یعنی pH برابر 1/3، دمای 90 درجه سانتی‌گراد، زمان 79/8 دقیقه و نسبت مایع به جامد 23/3 حجمی/وزنی، میزان بازدهی 15/6 درصد بود که نزدیک به میزان پیش‌بینی شده یعنی 16 درصد بود [25].

3-2- میزان گالاکتورونیک اسید کلاهک بادمجان

در بعضی از منابع علمی از پکتین به‌عنوان گالاکتورونان نام برده می‌شود، به این دلیل که پکتین‌ها زیست‌بسیار پیچیده‌ای هستند که به‌طور غالب متشکل از گالاکتورونیک اسیدهایی که به‌طور جزئی متیله شده‌اند، می‌باشند. با توجه به این‌که گالاکتورونیک اسید ترکیب اصلی پکتین است، با تعیین مقدار آن می‌توان خلوص پکتین رسوب داده شده با الکل را تخمین زد [26]. با توجه به نتایج جدول (5)، در pH و زمان‌های متفاوت استخراج با افزایش دما از 75 به 90 درجه سانتی‌گراد و pH



شکل (2) شرایط بهینه برای بازدهی پکتین استخراج شده از کلاهک بادمجان

Fig. 2 Optimum conditions for the yield of extracted pectin from the eggplant cap

جدول (۵) مقایسه بین میزان درصد گالاکتورونیک اسید پکتین استخراجی از کلاک بادمجان آزمون شده با پیش بینی شده.

Table 5 Comparison between the percentages of galacturonic acid of extracted pectin from tested eggplant cap with predicted

تیمار	دما (سانتی‌گراد)	زمان (دقیقه)	pH	میزان گالاکتورونیک اسید (درصد)	میزان گالاکتورونیک اسید پیش بینی شده (درصد)
Treatment	Temperature (°C)	Time (min)	pH	Galacturonic acid content (%)	Predicted galacturonic acid content (%)
1	75	100	3.00	37.10	37.866
2	75	150	2.25	38.20	37.858
3	90	150	1.50	27.90	27.065
4	90	100	1.50	29.50	28.503
5	90	50	2.25	31.18	32.413
6	60	100	1.50	33.80	33.161
7	90	150	3.00	32.19	31.554
8	60	50	2.25	34.11	34.693
9	75	50	1.50	34.00	34.257
10	75	100	1.50	34.11	35.149
11	60	150	2.25	37.40	35.441
12	90	50	1.50	28.13	27.991
13	75	50	2.25	38.85	37.870
14	90	100	3.00	33.18	32.838
15	60	150	3.00	33.15	33.735
16	60	50	3.00	32.86	32.834
17	75	100	2.25	39.84	38.839
18	60	150	1.50	31.14	32.484
19	60	50	1.50	32.11	31.889
20	60	100	3.00	34.01	34.260
21	90	50	3.00	32.84	32.172
22	75	50	3.00	36.86	36.820
23	75	150	1.50	33.90	34.091
24	90	100	2.25	32.15	33.002
25	75	150	3.00	36.84	36.961
26	90	150	2.25	30.11	31.641
27	60	100	2.25	35.96	36.042

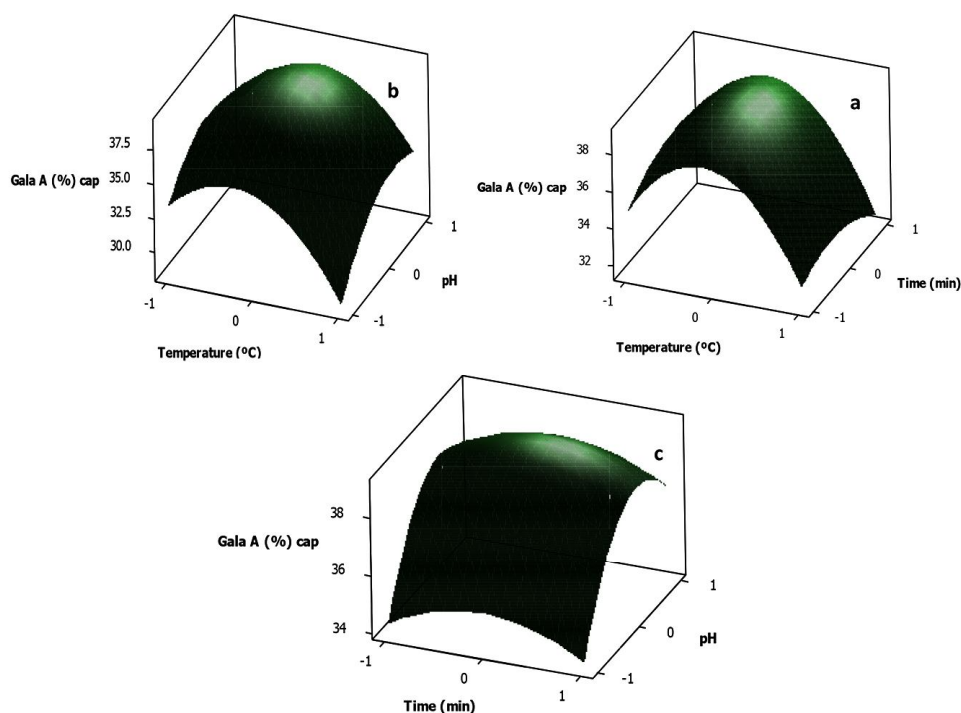
میزان گالاکتورونیک اسید کلاهِک بادمجان در این تحقیق مشاهده نگردید.

تجزیه و تحلیل واریانس بر روی این مدل چند جمله‌ای درجه دوم انجام شد که نتایج آن در جدول (3) نشان داده شده است. همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود ضریب تبیین این مدل، R^2 ، 92/88 درصد و ضریب تبیین اصلاح شده آن، R^2 -adj، 89/12 درصد به دست آمد که نشان دهنده برازش خوب مدل به داده‌های آزمایشی است. بر طبق جدول (4)، اثرات خطی درجه حرارت (A) و pH (C) عبارتهای معنی‌دار در این مدل بودند ($p < 0/05$). اثرات درجه دوم درجه حرارت، زمان و pH و اثرات متقابل بین درجه حرارت \times pH نیز بر روی تغییرات میزان گالاکتورونیک اسید معنی‌دار بود ($p < 0/05$) به طوری که با افزایش دما و زمان میزان گالاکتورونیک اسید به شکل معنی‌داری افزایش یافت (شکل 3). هم‌چنین اثرات خطی زمان و اثرات درجه دوم زمان و اثرات متقابل بین دما \times زمان و زمان \times pH بر روی تغییرات گالاکتورونیک اسید معنی‌دار نبود.

pH برابر با 2 خالص‌تر بود. زمان و دما هم تأثیر متوسطی بر درصد گالاکتورونیک اسید دارد. فرضیاتی که در مورد تأثیر pH، بر روی خلوص عنوان می‌شود شامل:

1- در pH برابر با 1/5 پکتین کم‌تری استخراج می‌شود،
2- ترکیبات دیگری غیر از مواد پکتیکی در pH برابر با 1/5 از دیواره سلولی حل شده و با الکل رسوب کردند،
3- در کم‌ترین pH پکتین استخراج شده به ترکیبات با وزن مولکولی کم تجزیه شده که با اتانول رسوب نمی‌کند [29].

امگا و همکاران و گارنا و همکاران، با استخراج پکتین از پوست موز و تفاله سیب در مورد اثر pH بر میزان گالاکتورونیک اسید به نتیجه مشابه رسیدند. هم‌چنین مشاهده نمودند که درصد گالاکتورونیک اسید تحت تأثیر زمان و دمای استخراج قرار نگرفته‌اند [26، 28]. مطابق مقایسه بین میزان درصد گالاکتورونیک اسید پکتین استخراجی از کلاهِک بادمجان آزمون شده با میزان پیش‌بینی شده نتایج جدول (5)، اختلاف معنی‌داری بین مقادیر تجربی و میزان عددی پیش‌بینی شده



شکل (3) اثرات سطحی و متقابل بر درصد گالاکتورونیک اسید پکتین استخراج شده از کلاهِک بادمجان (a) درجه حرارت و زمان استخراج، (b) درجه حرارت و pH استخراج، (c) زمان و pH

Fig. 3 Surface and interaction effects on the percentages of galacturonic acid of pectin extracted from eggplant cap (a) temperature and extraction time, (b) temperature and pH extraction, (c) time and pH

بر اساس ساز و کار آن OH از اسید و H از الکل کنده شده و آب تولید می‌شود. واکنش استری شدن یک واکنش تعادلی بوده که در حضور کاتالیزگر مناسبی (مانند H_2SO_4) انجام می‌پذیرد. درجه استریفیکاسیون پکتین، یکی از مهم‌ترین پارامترها برای شناسایی کاربرد آن است، که بنا به تعریف نشانگر تعداد مول‌های متانول به ازای 100 مول گالاکتورونیک اسید است [9]. با توجه به نتایج جدول (6)، بیش‌ترین مقدار استریفیکاسیون برای پکتین استخراج شده از کلاهک 51/750 درصد در درجه حرارت 60 درجه سانتی‌گراد، زمان 50 دقیقه و pH برابر 3/00 بود. کم‌ترین مقدار درجه استریفیکاسیون برای پکتین کلاهک 15/430 درصد در دمای 90 درجه سانتی‌گراد، زمان 150 دقیقه و pH برابر با 1/5 حاصل گردید. در واقع با کاهش pH، افزایش دما و زمان استخراج علی‌رغم افزایش بازده، درجه استریفیکاسیون پکتین به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد که این کاهش می‌تواند به علت تجزیه پیوندهای استری پکتین در شرایط سخت هیدرولیز اسیدی باشد. یاپو و همکاران، نیز گزارش کردند که شرایط سخت‌تر استخراج از نظر pH و دما، داستریفیکاسیون زنجیره پلی گالاکتورونیک را افزایش می‌دهد [29]. تصور می‌شود که درجه استریفیکاسیون بالا نشان دهنده پکتین با آسیب کم‌تر می‌باشد زیرا پیوندهای استری نسبت به پیوندهای گلیکوزیدی آلفا 1 و 4 بین گالاکتورونیک اسیدها،

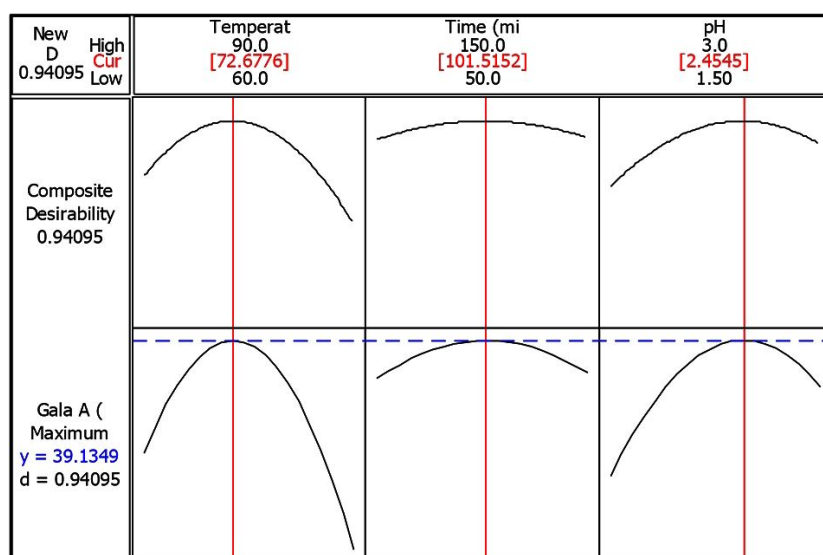
در ضمن اثر مربعی pH موثرترین فاکتور بر میزان اسید گالاکتورونیک معرفی گردید.

3-2-1- شرایط بهینه گالاکتورونیک اسید استخراج پکتین از کلاهک بادمجان

مطابق با شکل (4) نمودار نقطه بهینه درصد گالاکتورونیک اسید در پکتین استخراجی از کلاهک بادمجان پیش‌بینی شد حداکثر گالاکتورونیک اسید موجود در میزان پکتین استخراجی از کلاهک بادمجان 39/13 درصد با 94/09 درصد مطلوبیت متعلق به دمای 72/67 درجه سانتی‌گراد، زمان 101/51 دقیقه و pH برابر با 2/45 بود. نتایج پیش‌بینی شده توسط آزمایشات تاییدی با دو بار تکرار انجام شد و اختلاف معنی‌داری بین مقادیر پیش‌بینی شده و واقعی مشاهده نگردید. حسینی و همکاران، میزان گالاکتورونیک اسید پکتین استخراج شده از پوسته نارنج در شرایط بهینه با کمک امواج مایکروویو را 71 درصد گزارش نمودند [24].

3-3- درجه استریفیکاسیون کلاهک بادمجان

به واکنش یک کربوکسیلیک اسید با گروه عاملی $-COOH$ ، با یک الکل با گروه عاملی $-OH$ ، که طی آن یک استر و آب به‌دست می‌آید، واکنش استری شدن می‌گویند. در این واکنش



شکل (4) شرایط بهینه برای درصد گالاکتورونیک اسید پکتین استخراج شده از کلاهک بادمجان

Fig. 4 Optimum conditions for the percentage of galacturonic acid of extracted pectin from the eggplant cap

جدول (6) مقایسه بین میزان درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده از کلاهک بادمجان آزمون شده با بیش بینی شده.

Table 6 Comparison between the degrees of esterification of extracted pectin from tested eggplant cap with predicted

درجه استریفیکاسیون پیش بینی شده (درصد) Predicted degree of esterification (%)	درجه استریفیکاسیون (درصد) Degree of esterification (%)	pH	زمان (دقیقه) Time (min)	دما (سانتی گراد) Temperature (°C)	تیمار Treatment
34.469	34.38	3.00	100	75	1
29.575	29.56	2.25	150	75	2
15.704	15.43	1.50	150	90	3
15.116	15.50	1.50	100	90	4
19.170	18.84	2.25	50	90	5
38.645	37.03	1.50	100	60	6
20.793	21.48	3.00	150	90	7
46.238	49.65	2.25	50	60	8
27.299	28.14	1.50	50	75	9
26.430	27.19	1.50	100	75	10
41.570	43.31	2.25	150	60	11
14.990	15.75	1.50	50	90	12
32.253	30.17	2.25	50	75	13
21.607	22.85	3.00	100	90	14
45.429	43.19	3.00	150	60	15
51.499	51.75	3.00	50	60	16
30.683	29.94	2.25	100	75	17
37.244	37.05	1.50	150	60	18
40.510	38.74	1.50	50	60	19
48.233	47.93	3.00	100	60	20
22.882	23.11	3.00	50	90	21
36.739	35.43	3.00	50	75	22
26.023	27.13	1.50	150	75	23
18.595	18.24	2.25	100	90	24
32.660	34.19	3.00	150	75	25
18.482	16.14	2.25	150	90	26
43.673	44.39	2.25	100	60	27

و pH (C) و اثرات متقابل درجه حرارت × زمان عبارت‌های معنی‌دار در این مدل بودند ($p < 0/05$). اثرات درجه دوم درجه حرارت، زمان، و pH و اثرات متقابل بین و درجه حرارت × pH و زمان × pH نیز معنی‌دار نبود ($p < 0/05$). لازم به ذکر است دمای استخراج موثرترین فاکتور بر درجه استریفیکاسیون بود.

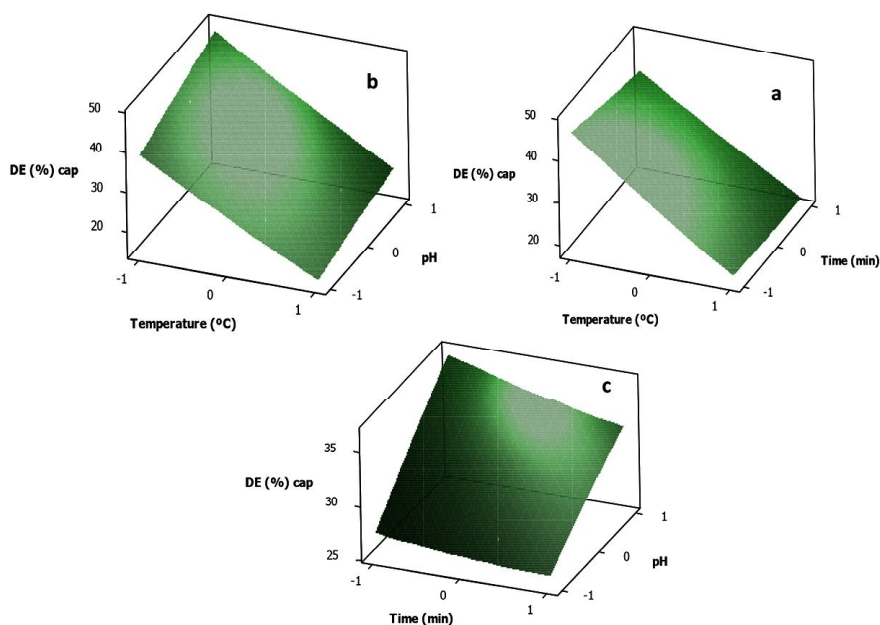
3-3-1- شرایط بهینه درجه استریفیکاسیون استخراج پکتین از کلاهک بادمجان

مطابق با شکل (6) نمودار بهینه درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی از کلاهک بادمجان پیش‌بینی شد حداکثر درجه استریفیکاسیون در پکتین استخراجی از کلاهک بادمجان 51/49 درصد با 99/30 درصد مطلوبیت متعلق به دمای 60 درجه سانتی‌گراد، زمان 50 دقیقه و pH برابر با 3 بود. نتایج پیش‌بینی شده توسط آزمایشات تاییدی با دو بار تکرار انجام شد و اختلاف معنی‌داری بین مقادیر پیش‌بینی شده و واقعی مشاهده نگردید. حسینی و همکاران، شرایط بهینه استخراج پکتین از پوست نارنج را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند محدوده درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی 17 درصد تا

مقاومت کم‌تری به هیدرولیز اسیدی دارند [30].

امگا و همکاران، در استخراج پکتین از پوست موز گزارش کردند که علاوه بر تأثیر pH و دما، افزایش زمان استخراج نیز میزان متوکسیل پکتین را کاهش می‌دهد [28]. زمریچکین و همکاران، استخراج پکتین به روش اسیدی و آنزیمی از تفاله کدو تنبل را با هم مقایسه و درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده با روش اسیدی 66 درصد و به روش آنزیمی را برابر با 68 درصد گزارش کردند [31]. مطابق مقایسه میزان درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی از کلاهک بادمجان و میزان پیش‌بینی شده نتایج اختلاف معنی‌داری بین مقادیر تجربی و میزان عددی پیش‌بینی شده درجه استریفیکاسیون کلاهک بادمجان در این تحقیق مشاهده نگردید.

تجزیه و تحلیل واریانس بر روی این مدل چند جمله‌ای درجه دوم انجام شد که نتایج آن در جدول (3) نشان داده شده است. مقدار ضریب تبیین این مدل، R^2 ، 98/57 درصد و ضریب تبیین اصلاح شده آن، R^2 -adj، 97/81 درصد به دست آمد که نشان دهنده برازش خوب مدل به داده‌های آزمایشی است. بر طبق جدول (4) اثرات خطی درجه حرارت (A)، زمان (B)



شکل (5) اثرات سطحی و متقابل بر درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده از کلاهک بادمجان (a) درجه حرارت و زمان استخراج، (b) درجه حرارت و pH استخراج، (c) زمان و pH

Fig. 5 Surface and interaction effects on the esterification degree of pectin extracted from eggplant cap (a) temperature and extraction time, (b) temperature and pH extraction, (c) time and pH

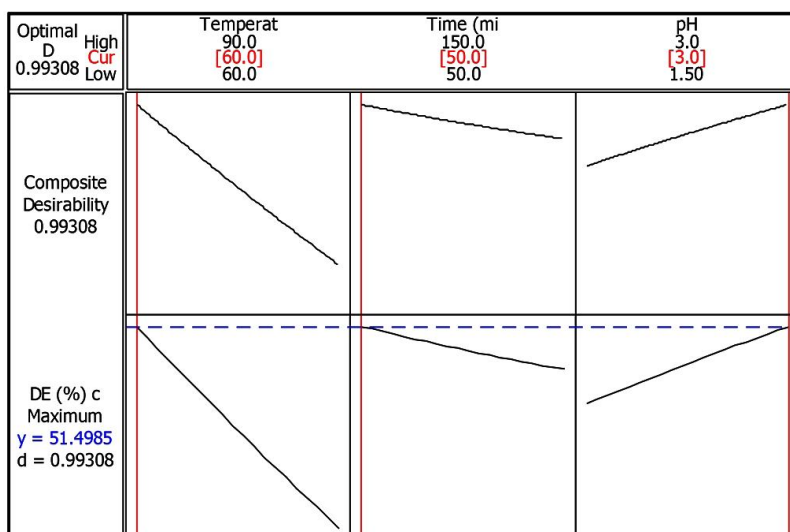
3-4- بهینه‌سازی همزمان شرایط استخراج پکتین روی درصد بازدهی، درصد گالاکتورونیک اسید و درصد استریفیکاسیون پکتین استخراجی از کلاhek بادمجان

شکل (7) نمودار بهینه یا اپتیمم بازده، درصد گالاکتورونیک اسید و درصد استریفیکاسیون پکتین استخراجی از کلاhek بادمجان را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، پیش‌بینی شد شرایط بهینه استخراج برای دستیابی به حداکثر میزان بازدهی، گالاکتورونیک اسید و درصد استریفیکاسیون با 59/06 درصد مطلوبیت در دمای 71/51 درجه سانتی‌گراد، زمان 103/53 دقیقه و pH برابر 2/1 بود که بازدهی در آن 8/75 درصد، گالاکتورونیک اسید 38/83 درصد و درصد استریفیکاسیون 33/13 درصد به‌دست آمده است. نتایج پیش‌بینی شده توسط آزمایشات تاییدی با دو بار تکرار انجام شد و اختلاف معنی‌داری بین مقادیر پیش‌بینی شده و واقعی مشاهده نگردید. راجی و همکاران، نیز شرایط بهینه دما، زمان، pH نسبت حلال به نمونه را برای استخراج پکتین از پوست خربزه به روش اسیدی مورد ارزیابی قرار دادند و گزارش کردند بالاترین میزان بازدهی استخراج پکتین از پوست خربزه 29/48 درصد بود که در دمای 95 درجه‌سانتی‌گراد، زمان استخراج 200 دقیقه، pH برابر 1 و نسبت حلال به نمونه 10 وزنی/حجمی به‌دست آمد [33].

pH (C) و اثرات متقابل درجه حرارت × زمان عبارت‌های معنی‌دار در این مدل بودند ($p < 0/05$). اثرات درجه دوم درجه حرارت، زمان و pH و اثرات متقابل بین و درجه حرارت × pH و زمان × pH نیز معنی‌دار نبود ($p < 0/05$). لازم به ذکر است دمای استخراج موثرترین فاکتور بر درجه استریفیکاسیون بود.

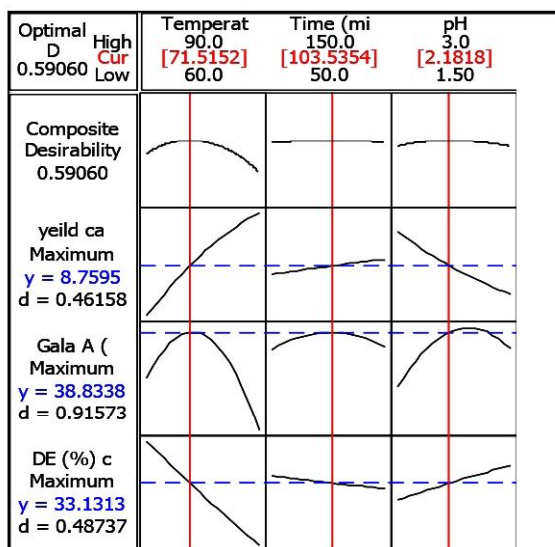
3-3-1- شرایط بهینه درجه استریفیکاسیون استخراج پکتین از کلاhek بادمجان

مطابق با شکل (6) نمودار بهینه درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی از کلاhek بادمجان پیش‌بینی شد حداکثر درجه استریفیکاسیون در پکتین استخراجی از کلاhek بادمجان 51/49 درصد با 99/30 درصد مطلوبیت متعلق به دمای 60 درجه سانتی‌گراد، زمان 50 دقیقه و pH برابر با 3 بود. نتایج پیش‌بینی شده توسط آزمایشات تاییدی با دو بار تکرار انجام شد و اختلاف معنی‌داری بین مقادیر پیش‌بینی شده و واقعی مشاهده نگردید. حسینی و همکاران، شرایط بهینه استخراج پکتین از پوست نارنج را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند محدوده درجه استریفیکاسیون پکتین استخراجی 17 درصد تا 30/5 درصد بوده است و پکتین مذکور در گروه پکتین با درجه استریفیکاسیون پایین طبقه بندی گردیده است [32].



شکل (6) شرایط بهینه برای درجه استریفیکاسیون پکتین استخراج شده از کلاhek بادمجان

Fig. 6 Optimum conditions for the esterification degree of extracted pectin from the eggplant cap



شکل (7) بهینه سازی همزمان پکتین استخراج شده از کلاhek بادمجان

Fig. 7 Simultaneous optimization of extracted pectin from the eggplant cap

در دمای 4 درجه سانتی‌گراد بین 79/3- 74/2 درصد و در دمای 23 درجه سانتی‌گراد بین 69/2- 62/1 درصد بود. در نتیجه می‌توان بیان داشت که پایداری امولسیون در دماهای مختلف متفاوت بوده و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مراتب بیش‌تر از 23 درجه سانتی‌گراد می‌باشد [15]. راجی و همکاران نیز اعلام داشتند پکتین استخراجی از پوست خربزه به روش اسیدی در غلظت 1 درصد وزنی/حجمی ژل ضعیفی تولید نمود و پایداری امولسیون مذکور در دمای 4 درجه سانتی‌گراد از 23 درجه سانتی‌گراد بیش‌تر بود [33]. جعفری و همکاران، از تفاله هویج پکتین استخراج و اعلام نمودند پکتین استخراجی از تفاله هویج در گروه پکتین با درجه استریفیکاسیون پایین طبقه بندی شده و پایداری بالایی در دو دمای نگه‌داری 4 و 23 درجه سانتی‌گراد نشان داده است [25].

3-6- ویسکوزیته

در شکل (8) مقادیر تنش برشی به عنوان تابعی از نرخ برش برای غلظت‌های مختلف پکتین استخراج شده از کلاhek بادمجان در شرایط بهینه استخراج نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل مشخص است، تمامی نمونه‌ها دارای رفتار نیوتنی هستند ($n=1$). در جدول (8)، مقادیر شاخص‌های رئولوژیکی شامل اندیس جریان (n) و ضریب

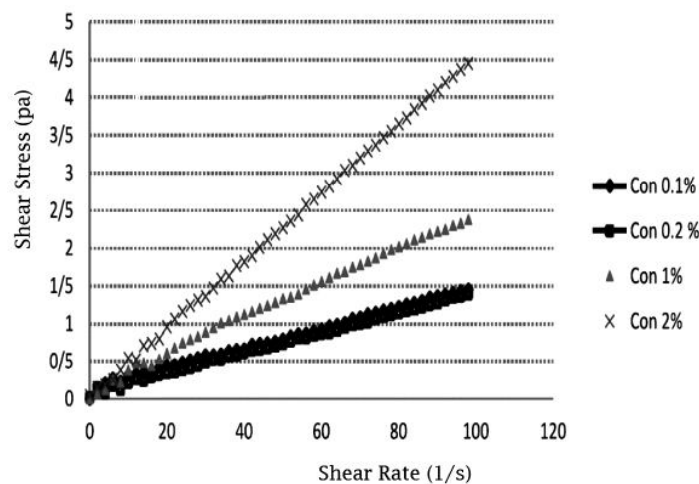
3-5- اندازه‌گیری پایداری امولسیون

فعالیت امولسیفایری و ثبات امولسیون پکتین استخراج شده از کلاhek بادمجان در شرایط بهینه با استفاده از محلول 0/5 درصد وزنی/وزنی پکتین در جدول (7) نشان داده شده است. بعد از سانتی‌فوژ کردن امولسیون‌ها 3 فاز قابل تشخیص در محیط مشاهده شد. که شامل فاز روغنی با چگالی کم‌تر در بالا، فاز امولسیونی به علت چگالی متوسط در وسط و فاز آبی با چگالی بالاتر در پایین بودند. همان‌طور که مشاهده می‌شود پایداری امولسیفایری بعد از 30 روز و دمای 4 درجه سانتی‌گراد در کلاhek بادمجان برابر با 87 درصد بوده است. و هم‌چنین پایداری امولسیون در دمای 23 درجه پس از یک روز برابر با 89 درصد بود. نتایج نشان داد پایداری امولسیون پکتین حاصل از کلاhek بادمجان در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مراتب بیش‌تر از دمای 23 درجه سانتی‌گراد بوده است. ما و همکاران، خواص امولسیفایری پکتین حاصل از چغندر قند را مورد بررسی قرار دادند و به نتایج مشابهی دست یافتند. این پژوهشگران بیان داشتند که دامنه پایداری امولسیون حاصل از پکتین به دست آمده توسط اسیده‌های مختلف در دمای 4 درجه سانتی‌گراد بعد از یک روز بین 79/4- 74/3 درصد و در دمای 23 درجه سانتی‌گراد بعد از یک روز بین 69/3- 62/1 درصد بوده است. هم‌چنین این فاکتور بعد از 30 روز

جدول (7) پایداری امولسیفایری پکتین استخراج شده با شرایط بهینه از کلاهِک بادمجان

Table 7 Emulsifier stability of extracted pectin with optimum conditions from eggplant cap

روز 30 Day 30		روز اول Day 1		زمان نگهداری Storage time
23	4	23	4	دما (°C) Temperature (°C)
82	87	89	91	پایداری امولسیفایری پکتین کلاهِک Emulsifier stability of pectin of cap



شکل (8) تنش برشی در برابر نرخ برش: برای پکتین استخراج شده از کلاهِک بادمجان

Fig. 8 Shear stress versus shear rate: for extracted pectin from the eggplant cap

شونده با برش (سودوپلاستیک) داشته است [25]. در تحقیقی دیگر حسینی و همکاران اعلام داشتند پکتین استخراجی از پوست نارنج در غلظت‌های کم‌تر از 1 درصد حجمی/وزنی رفتار نیوتنی داشته است و با افزایش غلظت پکتین رفتار رقیق شونده با برش (سودوپلاستیک) غالب گردیده است [32].

ایگلزیاز و لوزانو، ترکیب شیمیایی و خصوصیات رئولوژیکی از جمله درجه حرارت ژله‌ای شدن پکتین استخراج شده از آفتابگردان را به وسیله محلول سدیم هگزامتاسفات و بدنبال آن رسوب دادن با الکل و یا با محلول هیدروکلریک اسید، اندازه‌گیری و پکتین‌های تجاری متوکسیل پایین مورد مقایسه قرار دادند. وزن مولکولی متوسط محاسبه شده بر اساس اندازه‌گیری ویسکوزیته ذاتی پکتین دامنه‌ای از 39500 تا 52000 دالتون را شامل می‌شد. هم‌چنین این محققین گزارش نمودند که پکتین آفتابگردان در درجه حرارت‌های بالا و در حضور یون‌های کلسیم فوراً تشکیل ژل می‌دهد [35].

قوام (K) غلظت‌های مختلف پکتین استخراج شده از کلاهِک بادمجان در شرایط بهینه با برازش داده‌ها بر مدل‌های نیوتنی و توان آورده شده است. نتایج حاصل از برازش داده‌ها بیانگر این است که رفتار تمام نمونه‌ها نیوتنی بوده و اندیس جریان آن‌ها نزدیک به یک می‌باشد. همان‌طور که انتظار می‌رفت با افزایش غلظت نمونه‌های پکتین، ضریب قوام آن‌ها افزایش یافته است. در واقع با افزایش غلظت پکتین، ویسکوزیته نیز افزایش یافته است [34]. در تحقیقی مشابه چن و همکاران، ویژگی‌های رئولوژیکی پکتین استخراجی از بامیه را مورد مطالعه قرار دادند و بیان کردند محلول پکتین تولیدی از این محصول در غلظت‌های پایین یعنی کم‌تر از 1 درصد حجمی/وزنی دارای رفتار نیوتنی بوده ولی با افزایش غلظت، از نیوتنی به رقیق شونده با برش (سودوپلاستیک) تغییر رفتار می‌دهد [14]. جعفری و همکاران نیز گزارش کردند پکتین استخراج شده از تفاله هویج در غلظت 1 درصد حجمی/وزنی رفتار رقیق

در جدول (8) ویسکوزیته غلظت‌های مختلف پکتین استخراج شده از کلاهدک بادمجان در شرایط بهینه در یک نرخ برش ثابت 50 آرپی‌ام نشان داده شده است. نتایج حاصل از اندازه‌گیری ویسکوزیته نشان می‌دهد که ویسکوزیته ایجاد شده توسط نمونه‌های مختلف در غلظت‌های پایین مشابه هم می‌باشد و تفاوت زیادی ندارد. رفتار معمول و رایج برای محلول پکتینی را رفتار شل شونده با برش دانست. پانویل و همکاران، رفتار شل شونده پکتین را به جهت‌گیری زنجیره‌های پلیمری آن در جهت جریان مرتبط دانسته‌اند، بنابراین این ماده مقاومت کم‌تری نسبت به جریان دارد. همچنین در مطالعات مختلف بیان شده که ویسکوزیته پکتین به غلظت گالاکتورونیک اسید در آن نیز، وابسته بوده و با افزایش غلظت آن، ویسکوزیته ایجاد شده توسط پکتین نیز افزایش می‌یابد [36].

3-7- طیف FT-IR پکتین حاصل از کلاهدک بادمجان در شرایط بهینه

با توجه به شکل (9)، ناحیه جذب قوی 3000 سانتی‌متر برای نمونه کلاهدک بادمجان که نشان دهنده جذب کششی OH می‌باشد، مربوط به لرزش باندهای هیدروژنی داخل و خارج مولکولی است. باندهای کششی OH در دامنه‌ای از فرکانس اتفاق می‌افتند و نشان دهنده اجزای مختلفی، شامل باندهای کششی حاصل از گروه‌های کربوکسیل آزاد در فاز بخار و همچنین باندهای خمشی موجود در گروه‌های کربوکسیلیک اسید می‌باشند. در نمونه پکتین نیز ناحیه مذکور مربوط به لرزش داخل و خارج سلولی باند هیدروژنی در پلیمر گالاکتورونیک اسید می‌باشد. پیک موجود در محدوده 2800-2400 سانتی‌متر برای نمونه مربوطه به حالت لرزشی CH

جدول (8) ویسکوزیته و خصوصیات رئولوژیکی بدست آمده از غلظت‌های مختلف پکتین استخراج شده از کلاهدک بادمجان در شرایط بهینه در مدل‌های مختلف

Table 8 Viscosity and rheological properties of different concentrations of pectin extracted from eggplant cap in optimal conditions in different models

R ² (%)	K (Pa Sn)	N	مدل Model	ویسکوزیته Viscosity	غلظت (W/V%) Concentration (%W/V)
99.4	0.013	1	نیوتنی Newtonian	1.55	0.1
98.1	0.015	0.96	توان Power		
99.7	0.013	1	نیوتنی Newtonian	1.59	0.2
99.2	0.017	0.99	توان Power		
99.5	0.023	1	نیوتنی Newtonian	2.6	1.0
99.1	0.042	0.98	توان Power		
99.9	0.045	1	نیوتنی Newtonian	4.55	2.0
99.3	0.054	0.95	توان Power		

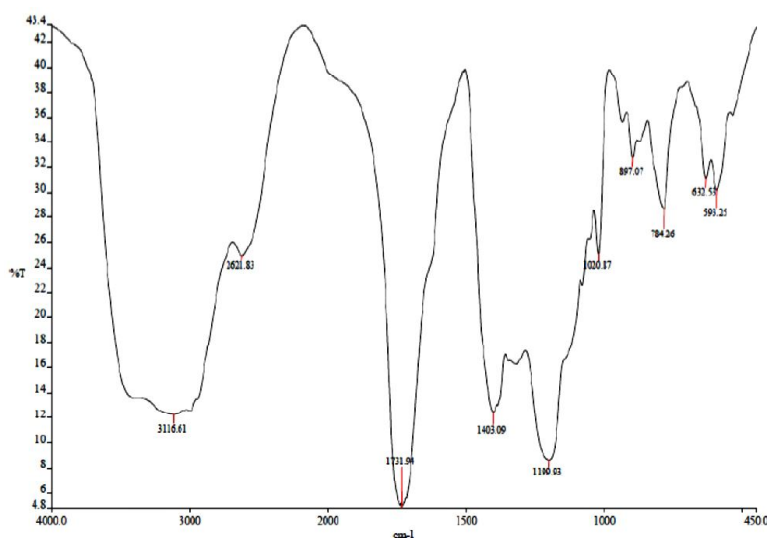
در دمای 90 درجه سانتی‌گراد، زمان 150 دقیقه و pH برابر با 1/5 به دست آمد که درصد گالاکتورونیک اسید پکتین در کلاهک 27/90 و درجه استری شدن برای پکتین کلاهک در همین شرایط برابر 15/43 بود. بر اساس نتایج آنالیز واریانس شرایط دما، زمان و pH مهم‌ترین فاکتور استخراج پکتین از کلاهک بادمجان بود. نتایج نشان داد که پایداری امولسیون پکتین کلاهک بادمجان در دمای 4 درجه سانتی‌گراد و روز اول به ترتیب بیش‌تر از دمای 23 درجه سانتی‌گراد و روز 30 می‌باشد. با افزایش غلظت نمونه‌های پکتین، ضریب قوام آن‌ها افزایش یافته است، رفتار تمام نمونه‌ها نیوتنی بوده و اندیس جریان آن‌ها نزدیک به یک می‌باشد. نتایج FT-IR نیز نشان داد که جذب قوی بین 3000 سانتی‌متر در نمونه پکتین مربوط به لرزش داخل و خارج سلولی باند هیدروژنی در پلیمر گالاکتورونیک اسید می‌باشد. در نهایت این‌گونه می‌توان بیان نمود که با استفاده از کلاهک بادمجان می‌توان پکتینی با رفتار نیوتنی و درجه ژلی مطلوب تولید کرد.

شامل لرزش‌های کششی و خمشی CH_2 ، CH_3 و CH می‌باشد [11]. گروه کربوکسیل 2 باند را نشان داده است:

- 1- باند نامتقارن کششی در 1731 سانتی‌متر و یک باند متقارن کششی ضعیف‌تر در 1403 سانتی‌متر برای کلاهک می‌باشد.
- 2- پیک جذب قوی بین 897 و 784 سانتی‌متر در کلاهک نشان شده است.

4- نتیجه‌گیری

در این پژوهش استخراج پکتین از ضایعات کلاهک بادمجان به روش اسیدی با اسید سیتریک تحت شرایط دما، زمان و pH های مختلف انجام گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده بازدهی پکتین از کلاهک در مجموع از 5/87 تا 12/30 درصد، درصد گالاکتورونیک اسید از 27/90 تا 39/84 درصد و درجه استری شدن از 15/43 تا 51/75 درصد در 27 تیمار استخراجی متغیر بود. بالاترین بازدهی برای کلاهک بادمجان، 12/30 درصد، در شدیدترین شرایط استخراج یعنی



شکل (9) تنش برشی در برابر نرخ برش: برای پکتین استخراج شده از کلاهک بادمجان

Fig. 9 Shear stress versus shear rate: for extracted pectin from the eggplant cap

منابع

- anov, C. (2012). Influence of microwave pretreatment of fresh orange peels on pectin extraction. *Biotechnol. Prog.*, 14, 941-946.
- [1] Baiano, A. (2014). Recovery of biomolecules from food wastes- A review. *Molecules.*, 19(9), 14821-14842.
- [2] Kratchanova, M., Pavlova, E., Panchev, I., Kratch-
- [3] Sharma, M. A. (2006). Effect of variety and acid

- their use in oil-containing foodstuffs. *J. Sci. Food Agr.*, 68(2), 203-206.
- [13] Yapo, B. M. (2011). Pectic substances: from simple pectic polysaccharides to complex pectins-A new hypothetical model. *Carbohydrate Polym.*, 86(2), 373-385.
- [14] Chen, Y., Zhang, J. G., UN, H. J., Wei, J. (2014). Pectin from abelmoschusesculentus: optimization of extraction and rheological properties. *Int. J. Biol. Macromolec.*, 70, 498-505.
- [15] Ma, S., Yu, S., Zheng, X., Wang, X., Bao, Q.-D., Guo, X. (2013). Extraction, characterization and spontaneous emulsifying properties of pectin from sugar beet pulp. *Carbohydrate polym.*, 98(1), 750-753.
- [16] Methacanon, P., Krongsin, J., Gamonpilas, C. (2014). Pomelo (*Citrus maxima*) pectin: Effects of extraction parameters and its properties. *Food hydrocoll.*, 35, 383-391.
- [17] Vinogradov, E. V., Brade, L., Brade, H., Holst, O. (2003). Structural and serological characterisation of the O-antigenic polysaccharide of the lipopolysaccharide from acinetobacter baumannii strain 24. *Carbohydr. Res.*, 338(23), 2751-2756.
- [18] Ye, C. L., Jiang, C. J. (2011). Optimization of extraction process of crude polysaccharides from *Plantago asiatica* L. by response surface methodology. *Carbohydrate Polym.*, 84(1), 495-502.
- [19] Braga, M. E. M., Moreschi, S. R. M., Meireles, M. A. A. (2006). Effects of supercritical fluid extraction on *curcuma longa* L. and *zingiber officinale* R. starches. *Carbohydrate polym.*, 63(3), 340-346
- [20] Li, W., Cui, S. W. and Kakuda, Y. (2006). Extraction, Fractionation, Structural and physical characterization of wheat β -D-glucans. *Carbohydrate Polym.*, 63(3), 408-416.
- [21] Masmoudi, M., Besbes, S., Chaabouni, M., washing method on extraction yield and quality of sunflower head pectin. *Food Chem.*, 83(1), 43-47.
- [4] Ralet, O. (2011). Pectin Content of lime and lemon peel as extracted by nitric acid. *J. Food Sci.*, 43(1), 72-73.
- [5] Aina, V. O., Mustapha, M. B., Mamman, O. A., Amina, Z., Hauwa, U. M. S., Yagana, B. A. (2012). Extraction and characterization of pectin from peels of lemon (*Citrus limon*), grape fruit (*Citrus paradise*) and sweet orange (*Citrus sinensis*). *Br. J. Pharmacol.*, 3(6), 259-262.
- [6] حسینی، س. س.؛ خدائیان چگنی، ف.؛ برازنده، س. (1395). استخراج و مقایسه خصوصیات فیزیکوشیمیایی پکتین پوست خربزه آناناسی، طالبی سمسوری و گالیا به کمک امواج مایکروویو. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال 11، شماره 4، ص 71-80.
- [7] Chan, C. H., Yusoff, R., Nghoh, G. C., Kung, F. W. L. (2011). Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *J. Chromatogr. A.*, 1218(37), 6213-6225.
- [8] Fishman, M. L. and Chau, H. K. (2000). Extraction of pectin by microwave heating under pressure. U. S. patent No., 6,143,337. Washington, DC: U. S. patent and Trademark Office.
- [9] فتحی، ب.؛ مقصدولو، ی.؛ قربانی، م.؛ خمیری، م. (1391). تاثیر pH، دما و زمان استخراج اسیدی بر بازده و خصوصیات پکتین حاصل از ضایعات کدوی آجیلی. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد 22، شماره 4، ص 465-475.
- [10] مسیبی، و.؛ امام جمعه، ز.؛ طباطبائی یزدی، ف. (1396). بهینه سازی شرایط استخراج پکتین با روش غرقابی از تفاله شاه توت. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، شماره 62، دوره 14، ص 341-356.
- [11] Santos, J. D. G., Espeleta, A. F., Branco, A., de Assis, S. A. (2013). Aqueous extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate Polym.*, 92(2), 1997-2001.
- [12] Dalev, P. G. and Simeonova, L. S. (1995). Emulsifying properties of protein-pectin complexes and

- quot, 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.
- [30] Scabio, A., Fertinani, H. C., Schemin, M. H., Petkowicz, C. O., Carneiro, E. B., Nogueira, A., Wosiachi G. (2007). A model for pectin extraction from apple pomace. *Braz. J. Food Technol.*, 10(4), 259-265.
- [31] Zhemerichkin, D. A. and Ptitchkina, N. M. (2006). The composition and properties of pumpkin and sugar beet pectins. *Food Hydrocoll.*, 9(2), 147-149.
- [32] Hosseini, S.S., Khodaiyan, F., Yarmand, M.S. (2016). Aqueous extraction of pectin from sour orange peel and its preliminary physicochemical properties. *Int. J. Biol.Macromol.*, 82, 920-926.
- [33] Raji, Z., Khodaiyan, F., Rezaei, K., Kiani, H., Hosseini, S.S. (2017). Extraction optimization and physicochemical properties of pectin from melon peel. *Int. J. Biol.Macromol.*, 98, 709-716.
- [34] Dickinson, M. (1992). Pectin extraction from citrus peel by polygalacturonase produced on whey. *Bioresour Technol.*, 47(1), 25-28.
- [35] Iglesias, M.I., Lozano, J.E. (2004). Extraction and characterization of sunflower pectin. *J. Food Eng.*, 62(3), 215-223.
- [36] Panouille, I. N., Kirtchev, N. A., Kratchanov, C. (2006). Kinetic model of pectin extraction. *Carbohydrate Polym.*, 11(3), 193-204.
- Robert, C., Paquot, M., Blecker, C., Attia, H. (2008). Optimization of pectin extraction from lemon by-product with acidified date juice using response surface methodology. *Carbohydrate Polym.*, 74(2), 185-192.
- [22] Chaharbaghi, E., Khodaiyan, F., Hosseini, S.S. (2017). Optimization of pectin extraction from pistachio green hull as a new source. *Carbohydr Polym.*, 173, 107-113.
- [23] Maran, J.P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., Sridhar, R. (2014). Microwave assisted extraction of pectin from waste Citrullus lanatus fruit rinds. *Carbohydrate Polym.*, 101, 786-791.
- [24] 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 Polym.*, 140, 59-65.
- [25] Jafari, F., Khodaiyan, H., Kiani, S., Hosseini, S.S. (2016). Pectin from carrot pomace: optimization of extraction and physicochemical properties, *Carbohydrate Polym.*, 157, 1315-1322.
- [26] Garna, H., Mabon, N., Robert, C., Cornet, C., Nott, K., Legeros, H., Wathelet, B. and Paquot, M. (2007). Effect of extraction conditions on the yield and purity of apple pomace pectin precipitated but not washed by alcohol. *J. Food Sci.*, 72(1), C001-C009.
- [27] Yapo, B. M. (2009). Lemon juice improves the extractability and quality characteristics of pectin from yellow passion fruit by products as compared with commercial citric acid extractant. *Bioresour Technol.*, 100(12), 3147-3151.
- [28] Emaga, T. H., Ronkart, S. N., Robert, C., Wathelet, B., Paquot, M. (2008). Characterization of pectins extracted from banana peels under different conditions using an experimental design. *Food Chem.*, 108(2), 436-471.
- [29] Yapo, B., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B., Pa-