

Extraction of Pectin Polysaccharide from Walnut Heartwood and Evaluation of Its Yield and Physicochemical Properties

MARJAN NOURI^{*1}, MOHSEN MOKHTARIAN¹

1. Department of Food Science and Technology, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran

(Received: Dec. 8, 2019- Revised: March. 14, 2020- Accepted: Apr. 21, 2020)

ABSTRACT

Walnut is one of the most important and valuable agricultural products in the country. The aim of this study was to investigate the effects of three variables of pH values (1, 1.5 and 2), extraction temperatures (60, 70 and 80°C) and process times (60, 90 and 120 min) on yield, degree of esterification and galacturonic acid of pectin extracted from heartwood waste of walnut using response surface statistical method. Based on the results, optimum conditions for pectin extraction with the highest extraction yield (14.32%), degree of esterification (64.03%) and galacturonic acid (63.62 %) were associated with pH 1.68, process temperature of 80°C and extraction time of 120 min. Total ash, molecular weight, emulsifier, rheological and Fourier transform infrared spectroscopy assessments were carried out on pectin optimum sample. The results showed the total ash was 14.1% and M_w of pectin optimum sample was 35.61 kDa. This sample, with suitable emulsifier properties, showed pseudoplastic behavior and its FTIR spectroscopy diagram was rich in galacturonic acid.

Key words: Walnut Heartwood, Pectin, Degree of esterification, Galacturonic acid, Waste

استخراج پلی ساکارید پکتین از چوب مرکزی گردو و بررسی بازده و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن

مرجان نوری^{*}، محسن مختاریان^۱

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۱۷ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۱۲/۲۴ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۲/۲)

چکیده

گردو از مهمترین و ارزشمندترین محصولات کشاورزی کشور است. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر سه متغیر pH (۱، ۱/۵ و ۲)، دما (۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سلسیوس) و زمان استخراج (۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه) بر درصد بازده، درجه استریفیکاسیون و میزان گالاکتورونیک اسید پکتین استخراج شده از ضایعات چوب مرکزی گردو بود که از روش آماری سطح پاسخ استفاده گردید. مطابق با نتایج، شرایط بهینه استخراج با بیشترین بازده استخراج (۱۴/۳۲ درصد)، درجه استریفیکاسیون (۶۴/۰۳ درصد) و گالاکتورونیک اسید (۶۳/۶۲ درصد) متناسب با pH ۱/۶۸، دمای ۸۰ درجه سلسیوس و زمان ۱۲۰ دقیقه بود. روی نمونه‌ی بهینه پکتین آزمون‌های خاکستر کل، وزن مولکولی، خصوصیات امولسیفایری، رئولوژیکی و طیف سنجی مادون قرمز انجام گرفت. نتایج نشان داد خاکستر کل ۱/۱۴ درصد و وزن مولکولی نمونه بهینه پکتین ۳۵/۶۱ کیلو دالتون بود. این نمونه با خواص امولسیفایری مطلوب، رفتار سودوپلاستیک از خود نشان داد و نمودار طیف سنج مادون قرمز آن غنی از حضور گالاکتورونیک اسید بود.

واژه‌های کلیدی: چوب مرکزی گردو، پکتین، درجه استریفیکاسیون، گالاکتورونیک اسید، ضایعات

مقدمه

محصولات کشاورزی به طور یقین اثرات سودمندی بر سلامت مصرف کنندگان جامعه خواهند داشت. بر اساس گزارش سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (فائو)، گردو با تولید ۳/۸ میلیون تن در سال جز محصولات غذایی با ارزش در جهان محسوب می‌شود. ایران به عنوان دومین کشور در آسیا و سومین تولید کننده گردو در جهان مطرح است (Asgari et al., 2019). گردو با نام علمی *Juglans regia* از خانواده *Juglandaceae*، متشکل از ۷ جنس و ۵۹ گونه است (Wangorsch et al., 2017). بعد از فراوری گردو، ضایعات آن معمولاً به عنوان پسماندهای کشاورزی استفاده نشده و دور ریخته می‌شود در حالی که منبع مناسبی از عناصر با ارزش مانند پلی فنول‌ها، فلاون‌ها، ترپنوئیدها، کربوهیدرات‌ها، و سایر ترکیبات فعال زیستی است (Asgari et al., 2019).

پکتین هیدروکلوئیدی اسیدی از خانواده پلی ساکاریدهای پیچیده‌ی موجود در دیواره سلول‌های گیاهی است (Pasandide et al., 2018). بیوپلیمر پکتین از نظر ساختاری پلی ساکاریدی خطی و اساساً از واحدهای گالاکتورونیک اسید تشکیل شده است که با زنجیره‌هایی از پیوندهای گلیکوزیدی به هم متصل شده‌اند (Espitia et al., 2014). این هیدروکلوئید در لایه اصلی گیاهی با

تشکیل ژل هیدروفیلیک سلولز-همی سلولز، از تجمع شبکه سلولزی جلوگیری کرده و منجر به ایجاد تخلخل ماکرومولکول-های دیواره سلولی گیاهی می‌شود (Vriesmann and Petkowicz, 2013). اسیدهای موجود در آن ممکن است به صورت آزاد، متیل استر و یا نمک‌های سدیم، کلسیم یا آلومینیوم باشند و در برخی موارد گروه‌های آمیدی نیز مشاهده شده است (Mosayebi and Yazdi, 2018). پکتین علاوه بر گالاکتورونیک اسید، دارای قندهای طبیعی مانند رامنوز، گالاکتوز، آرابینوز و مقدار اندکی از سایر قندها است که میزان آن در پکتین تجاری حدود ۱۵ درصد است و به نام قندهای خنثی شناخته می‌شود (Krivorotova et al., 2016).

انتخاب روش استخراج بسته به نوع پلی ساکارید انتخاب شده متفاوت است اما صرف نظر از نوع پلی ساکارید، انجام فرآیندهای خاصی قبل از استخراج با حلال توصیه می‌شود. بازروانی^۱ با اتانول، اغلب جهت حذف چربی و غیر فعال سازی آنزیم‌های هیدرولیز کننده موجود در مواد بیولوژیکی صورت می‌گیرد (Junter et al., 2016; Cockburn and Koropatkin, 2016).

روش سطح پاسخ (RSM^۲) یک روش آماری موثر جهت بهینه سازی فرآیندهای پیچیده است. با این روش رفتار عوامل

* نویسنده مسئول: m.nouri@riau.ac.ir

1. Refluxing
2. Response Surface Methodology

پروپانویک اسید، ۲ تری متیل (تری متیل سالیلوکسی) و گالیک اسید در چوب مرکزی گردو وجود دارد (Gupta et al., 1972)، ضرورت نیاز به این تحقیق احساس شد. در این پژوهش استخراج پکتین از چوب مرکزی گردو و خصوصیات فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی آن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

گردو از بازار محلی در تهران خریداری و چوب مرکزی آن جداسازی شد، سپس در آون با دمای ۶۰ درجه سلسیوس و مدت زمان ۴۸ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت، خشک و در مرحله بعد در دستگاه آسیاب، گرانول‌های آردی تشکیل شد. پودر تهیه شده در ظروف درب بسته در شرایط خشک و خنک (۱۸- درجه سلسیوس) نگهداری شد. ترکیبات شیمیایی شامل اسید سولفوریک غلیظ، اسید سیتریک، اسید هیدروکلریک، تترابورات سدیم، سدیم آزید، هیدروکسید سدیم، متا هیدروکسی دی فنیل، دی گالاتورونیک اسید، ادتا سدیم و سدیم کلرید با خلوص آزمایشگاهی از شرکت مرک تهران تهیه شدند.

استخراج و جداسازی پکتین از چوب مرکزی گردو

در این روش به منظور دستیابی به پکتین، شرایط فرآیند استخراج متفاوت از جمله pH (X₁)، دما (X₂) و زمان فرآیند (X₃) بکار رفت تا شرایط بهینه استخراج حاصل شد (Chaharbaghi et al., 2017). بدین منظور ۱۰ گرم از پودر تهیه شده مرحله قبل به ۲۰۰ میلی لیتر حلال مورد نظر یعنی آب مقطر اسیدی شده با اسید سیتریک در pH های ۱، ۱/۵ و ۲ مخلوط شد، سپس فرآیند حرارت دهی غیر مستقیم و همزدن در سه دمای مختلف ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سلسیوس با زمان‌های استخراج ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه انجام پذیرفت (جدول ۱). انتخاب دامنه تغییرات هر سه عامل pH، دما و زمان استخراج بر اساس نتایج محققان پیشین و آزمایش‌های ابتدایی تحقیق حاضر انجام شد.

مستقل با استفاده از یک رابطه چند جمله‌ای از داده‌های آزمایشگاهی، پیش بینی می‌شود. همچنین روش آماری سطح پاسخ تعداد آزمایشات تجربی که به بررسی پارامترهای مختلف و تعامل نیاز دارد را کاهش می‌دهد. این روش با نتایج موفقیت آمیز نشان داده است که می‌تواند در بهینه سازی متغیرها بکار رود (Asgari et al., 2019).

از گذشته تاکنون از تفاله و ضایعات محصولات کشاورزی از جمله هلو (Pagán et al., 2001)، چغندر قند (Levigne et al., 2002; Yapo et al., 2007)، پوست نارنج (Woncho et al., 2003; Hosseini et al., 2016)، دانه‌ی روغنی آفتابگردان (Iglesias and Lozano, 2004)، سیب (Schemin et al., 2006)، لیمو ترش (Masmoudi et al., 2008) پوست موز (Emaga et al., 2008)، پوست مرکبات (Kliemann et al., 2009)، پوست شاخه‌های درخت شاه توت (Pasandide et al., 2018) پوست گریپ فروت (Liu et al., 2010) پوست گیاه آکبیا^۱ (Jiang et al., 2012) بادام زمینی و ریشه چغندر قند (Fissore et al., 2013)، پوست دانه کاکائو (Chan and Choo, 2013) تفاله انگور (Fuentes et al., 2014)، کیوی طلایی (Yuliarti et al., 2015)، گوجه فرنگی (Grassino et al., 2016)، هویج (Jafari et al., 2017)، پوست سبزی پسته (Chaharbaghi et al., 2017) و بادمجان (Kazemi et al., 2019) پکتین استخراج شده است.

در تحقیق حاضر تلاش شد تا با استفاده مناسب از ضایعات گردو علاوه بر حل مشکل دفع ضایعات این فرآورده که منجر به آلودگی محیط زیست می‌شود، به همراه کنترل هزینه‌ها و توجیه اقتصادی، ترکیب پرکاربرد پکتین استخراج شود. پوست سبز^۲ و چوب مرکزی گردو^۳ جز ضایعات گردو به حساب می‌آیند، در گذشته بازده و خصوصیات پکتین استخراج شده از پوست سبز گردو مورد بررسی قرار گرفته است (Asgari et al., 2019; Nouri and Mokhtarian, 2020) و از آنجاییکه ترکیبات فنولی فراوانی از جمله بنزوئیک اسید، ۳، ۴، ۵ تریس (تری متیل سالیلوکسی)،

جدول ۱- سطوح مختلف عوامل موثر بر استخراج پکتین چوب مرکزی گردو

عوامل	واحدها	کدها	سطوح
			-۱
pH		X ₁	۱
دما	درجه سلسیوس	X ₂	۷۰
زمان	دقیقه	X ₃	۹۰

۳۰ دقیقه با همزن مغناطیسی تا صابونی شدن پکتین همزده شد. سپس افزودن ۱۰ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک ۰/۱ مولار و تا از بین رفتن کامل رنگ صورتی همزده شد، اسید هیدروکلریک باقی مانده با هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار تا ظهور رنگ صورتی تیترا شد (حجم ثانویه). در انتهای فرآیند درجه استریفیکاسیون بر حسب درصد با توجه به رابطه ۲ محاسبه گردید (Santos et al., 2013).

(رابطه ۲)

درجه استریفیکاسیون بر حسب درصد = $100 \times \frac{\text{حجم ثانویه}}{\text{حجم ثانویه} + \text{حجم اولیه}}$

محتوای گالاکتورونیک اسید

محتوای گالاکتورونیک اسید با روش رنگ سنجی و استفاده از معرف متاهیدروکسی دی فنیل انجام شد (Jafari et al., 2018). در این روش بعد از آماده سازی محلول‌ها هیدرولیز پکتین و رنگ سنجی بدین صورت انجام شد که دو لوله آزمایش شیشه‌ای تمیز (نمونه و شاهد) برای هر نمونه انتخاب و به حمام آب یخ منتقل شدند. ۱ میلی‌لیتر از محلول پکتین به لوله‌های آزمایش منتقل و ۳ میلی‌لیتر تترا بورات سدیم به هر کدام از لوله‌ها اضافه و به خوبی مخلوط شد، سپس در حمام بخار ۱۰۰ درجه سلسیوس ۶ دقیقه حرارت دهی و در انتها با سرعت تا دمای محیط خنک شد. به لوله‌ی آزمایش حاوی پکتین ۰/۱ میلی‌لیتر معرف متاهیدروکسی دی فنیل و به نمونه شاهد ۰/۱ میلی‌لیتر محلول هیدروکسید سدیم ۰/۵ درصد اضافه و کاملاً مخلوط شدند، در مرحله آخر جذب نمونه‌ها در دمای محیط با استفاده از اسپکتروفوتومتر (UV-1900 UV-Vis) در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد گالاکتورونیک اسید، از محلول دی گالاکتورونیک اسید در آب مقطر دیونیزه با رقت‌های مختلف (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) استفاده شد و نمودارهای جذب (محور عمودی) در مقابل غلظت اسید گالاکتورونیک (محور افقی) رسم شدند.

میزان خاکستر

خاکستر کل نمونه مطابق با روش‌های استاندارد AOAC با بکارگیری دستگاه کوره با شماره‌ی استاندارد ۹۴۲/۰۵ تعیین شد.

تعیین وزن مولکولی

به منظور اندازه‌گیری پارامترهای مورد نیاز جهت تعیین گرانیوی ذاتی محلول پکتین، از ویسکومتر شیشه‌ای لوله مؤین و رابطه مارک-هوینگ^۱ استفاده شد. به دلیل تاثیر دما بر گرانیوی سیال، فرآیند در دمای ثابت و حمام آب انجام گرفت. بعد از آماده سازی

در این مرحله پس از خنک شدن نمونه‌ها در دمای محیط با استفاده از توری، تفاله از محلول جدا شد و جهت جداسازی بهتر از سانتریفیوژ (۴۰۰۰ دور بر دقیقه، ۲۰ دقیقه) استفاده شد. به منظور استخراج و رسوب پکتین، به فاز مایع جدا شده، اتانول (۹۶ درصد) به نسبت ۱ به ۲ افزوده شد تا پکتین استخراج شده بصورت تجمع یافته ظاهر شود سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ ساعت در دمای یخچال نگهداری شدند تا پکتین کاملاً رسوب کند. جهت افزایش خلوص رسوب باقیمانده چندین مرتبه شستشو با اتانول، متانول، سانتریفیوژ و صاف کردن انجام پذیرفت. در مرحله بعد از آون به منظور خشک کردن نمونه‌های پکتین مرطوب در دمای ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت استفاده شد. در مرحله آخر فرآیند پس از توزین با بکارگیری یک خرد کننده نمونه‌ها به حالت پودری درآمد سپس با مش آزمایشگاهی ۶۰ غربال سازی انجام و در ظروف درب بسته و شرایط خشک و خنک (یخچال) نگهداری شد.

بازده استخراج

تعیین میزان راندمان استخراج پکتین حاصل شده از تیمارهای مختلف بر حسب درصد با استفاده از رابطه ۱ انجام پذیرفت (Liu et al., 2010).

(رابطه ۱)

بازده پکتین استخراجی بر حسب درصد = $100 \times \frac{\text{وزن پکتین خالص (گرم)}}{\text{وزن پودر خشک اولیه (گرم)}}$

درجه استریفیکاسیون

بنا به تعریف این عامل نشان‌دهنده تعداد مول‌های متانول به ازای ۱۰۰ مول گالاکتورونیک اسید است. درجه استریفیکاسیون پکتین یکی از فاکتورهای اساسی تعیین کننده خصوصیات ژل-های تهیه شده از پکتین است. حلالیت پکتین در آب و قدرت ژله‌ای‌کنندگی آن به درجه استریفیکاسیون پکتین بستگی دارد (Santos et al., 2013).

درجه استریفیکاسیون با استفاده از روش تیتراسیون پتانسیومتری تعیین شد. در این روش ابتدا ۰/۱ گرم پکتین خشک با ۳ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد مخلوط شد، سپس ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه به آن اضافه و روی گرم‌کن مجهز به همزن مغناطیسی در دمای ۴۰ درجه سلسیوس تا زمان حل شدن کامل پکتین به هم زده شد. در مرحله بعد ۳ قطره فنل فتالین به آن اضافه شد و با هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار تا ظهور رنگ صورتی کمرنگ تیترا گردید (حجم اولیه). به محلول خنثی شده موجود ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار اضافه و به مدت

انتهای فرآیند فعالیت امولسیفایری بر حسب درصد با استفاده از رابطه ۷ محاسبه گردید. جهت بررسی خصوصیت ثبات امولسیون نمونه تولید شده، به مدت ۱ و ۳۰ روز در هر یک از دماهای ۲۳ و ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد سپس این خصوصیت با توجه به رابطه ۸ محاسبه گردید (Jafari et al., 2018).

$$\text{فعالیت امولسیفایری (درصد)} = \frac{\text{حجم لایه امولسیون شده}}{\text{حجم کل نمونه}} \times 100 \quad (\text{رابطه ۷})$$

$$\text{ثبات امولسیون (درصد)} = \frac{\text{حجم لایه امولسیون باقیمانده}}{\text{حجم لایه امولسیون اولیه}} \times 100$$

خصوصیت طیف سنجی مادون قرمز

جهت تهیه نمونه جامد قابل استفاده در دستگاه طیف سنج مادون قرمز، نمونه خشک و کاملاً پودر شده با برامید پتاسیم در یک سل شیشه ای فشرده شد و سپس در دستگاه طیف سنج قرار داده شد و طیف مورد نظر در ناحیه (۴۰۰ تا ۴۰۰۰ بر سانتی متر) گزارش شد (Santos et al., 2013).

روش آماری

ابتدا آزمون نرمال بودن داده‌ها انجام پذیرفت و در صورت نرمال بودن، آنالیزهای تجزیه واریانس انجام شد. جامعه آماری بدین صورت بود که ۱۵ تیمار از نمونه‌ها در شرایط مختلف استخراج pH (X_1 : ۱، ۱/۵، ۲ و ۳)، دما (X_2 : ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سلسیوس) و زمان استخراج (X_3 : ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه) با استفاده از روش سطح پاسخ در قالب طرح باکس بنکن^۶ تهیه شد (رابطه ۹) البته هر تیمار در دو تکرار انجام پذیرفت (۳۰ نمونه). در این مرحله تابعیت متغیرهای وابسته (pH، دما و زمان استخراج) نسبت به تغییرات متغیرهای مستقل فرآیند استخراج (درصد بازده استخراج، درجه استریفیکاسیون و میزان گالاکتورونیک اسید) انجام پذیرفت. هدف از بکارگیری این روش آماری بهینه سازی فرآیند استخراج برای دستیابی به حداکثر اندمان تولید، درجه استریفیکاسیون و میزان گالاکتورونیک اسید نمونه‌های پکتین استخراج شده از چوب مرکزی گردو بود که در این فرآیند پیچیده بتوان با کمترین تعداد نمونه‌های استخراج شده به نمونه بهینه پکتین دست یافت.

(رابطه ۹)

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j < i} \beta_{ij} X_i X_j$$

در مرحله بعد تابعیت متغیرهای وابسته (خاکستر کل، وزن

نمونه‌ها، گرانیوی ذاتی، رسم منحنی گرانیوی با ضرب زمان به دست آمده به ضریب تبدیل ویسکومتر و در انتها گرانیوی سینماتیک^۱ سیال محاسبه شد. از سوی دیگر گرانیوی ذاتی^۲ از رسم نمودار اعداد گرانیوی کاهیده^۳ (محور عمودی) در مقابل غلظت (محور افقی) و برون یابی آنها تا غلظت صفر بدست آمد (Weska et al., 2007)، سپس با استفاده از معادلات ۳ تا ۶ وزن مولکولی نمونه‌ی بهینه بدست آمد.

$$\rho/\eta = v \quad (\text{رابطه ۳})$$

$$\eta_{sp} = (\eta_{\text{solution}} - \eta_{\text{solvent}}) / \eta_{\text{solvent}} \quad (\text{رابطه ۴})$$

$$\eta_{sp}/C = [\eta] + K[\eta]^2 \times C \quad (\text{رابطه ۵})$$

$$[\eta] = KM_w^\alpha \quad (\text{رابطه ۶})$$

در معادلات ذکر شده (۳ تا ۶) علایم عبارتند از v : گرانیوی سینماتیک (استوک)، η : گرانیوی دینامیک^۴ (پواز)، ρ : دانسیته محلول (گرم بر میلی لیتر)، η_{sp} : گرانیوی ویژه^۵، η_{sp}/C : گرانیوی کاهیده (میلی لیتر بر گرم)، C : غلظت محلول (گرم بر میلی لیتر)، K : ضریب تصحیح (عددی ثابت برای هر پلیمر، گرم بر میلی لیتر)، $[\eta]$: گرانیوی ذاتی (میلی لیتر بر گرم)، M_w : وزن مولکولی و α : ضریب تصحیح (عددی ثابت برای هر سیستم محلول پلیمری) می‌باشند.

خواص رئولوژیکی

از نمونه‌ی پکتین استخراج شده در نقطه بهینه، محلولی با غلظت ۱ درصد تهیه و با همزن مغناطیسی به مدت حدوداً ۹ ساعت اختلاط انجام شد. آزمون رئولوژی دینامیک با استفاده از دستگاه رئومتر چرخشی در دمای ثابت ۲۵ درجه سلسیوس انجام پذیرفت. در این روش ابتدا آزمون روبش کرنش (۱۰۰-۰/۰۱ درصد در ۱ هرتز) جهت تعیین محدوده ویسکوالاستیک خطی و مدول‌های ذخیره (G') و اتلاف (G'') با استفاده از آزمون نوسانی با دامنه نوسان کم و در فرکانس‌های ۰/۱ تا ۱۰۰ هرتز در کرنش ۱ درصد انجام شد (Mosayebi et al., 2017).

خصوصیت امولسیفایری

جهت تخمین فعالیت امولسیفایری و ثبات امولسیون از افزودن ۵ میلی لیتر روغن آفتابگردان به ۵ میلی لیتر محلول پکتین ۵ درصد حجمی/وزنی استفاده شد، البته ۰/۰۲ درصد سدیم آزید جهت جلوگیری از رشد باکتری‌ها بکار رفت. در مرحله بعد، نمونه‌ی منتخب با همزن‌نایزر در ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۴ دقیقه مخلوط شد. سپس، امولسیون جدید ایجاد شده در شرایط ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شد. در

4. Dynamic viscosity
5. Specific viscosity
6. Box Benkan Design

1. Cinematic viscosity
2. Intrinsic viscosity
3. Reduced viscosity

مولکولی، امولسیفایری و رئولوژیکی) نسبت به تغییرات متغیر مستقل نمونه پکتین بهینه مورد بررسی قرار گرفت. در تحقیق حاضر برای انجام آنالیزهای آماری از نرم افزار Minitab16 استفاده شد.

بهینه سازی بازده استخراج پکتین

ماتریس طرح و نتایج بدست آمده آزمایشگاهی و پیش بینی شده بازده استخراج پکتین برای هر واحد آزمایشی در جدول ۲ آمده است. این نتایج نشان داد که بازده استخراج پکتین چوب مرکزی گردو در محدوده‌ی ۱/۰۱ تا ۱۳/۷۰ درصد است.

نتایج و بحث

جدول ۲- طراحی آزمون بر اساس مدل به همراه نتایج بکارگیری شرایط بهینه استخراج بر میزان بازده پکتین ضایعات چوب مرکزی گردو (خطا استاندارد ± میانگین)

درصد بازده استخراج			کدها		
مقادیر واقعی	مقادیر پیش بینی شده	شماره تیمارها	X ₃	X ₂	X ₁
۱/۰±۰۱/۰۲	۱/۰۱	۱	۰	-۱	-۱
۲/۰±۰۲۴/۰۳	۲/۵۳	۲	۰	-۱	۱
۹/۰±۰۲۰/۰۵	۸/۹۵	۳	۰	۱	-۱
۹/۰±۰۳/۰۳	۹/۰۲	۴	۰	۱	۱
۳/۰±۰۸۳/۰۴	۴/۲۳	۵	-۱	۰	-۱
۳/۰±۰۲۰/۰۹	۳/۳۱	۶	-۱	۰	۱
۸/۰±۰۱۲/۰۶	۸/۰۰	۷	۱	۰	-۱
۱۰/۰±۰۹۲/۰۱	۱۰/۵۱	۸	۱	۰	۱
۱/۰±۰۸۰/۰۲	۱/۳۹	۹	-۱	-۱	۰
۶/۰±۰۴۱/۰۷	۶/۲۸	۱۰	-۱	۱	۰
۴/۰±۰۴۵/۱۰	۴/۵۶	۱۱	۱	-۱	۰
۱۳/۰±۰۷۰/۰۲	۱۴/۱۰	۱۲	۱	۱	۰
۶/۰±۰۷۰/۰۰	۶/۸۷	۱۳	۰	۰	۰
۷/۰±۰۱/۰۸	۶/۸۷	۱۴	۰	۰	۰
۶/۰±۰۹۲/۰۲	۶/۸۷	۱۵	۰	۰	۰

$$X_2^2 + 0.85 X_1 X_3 + 1.16 X_2 X_3$$

در این رابطه Y_1 بازده استخراج پکتین از چوب مرکزی گردو بود که پاسخ سطوح کدبندی شده متغیرهای مستقل X_1 ، X_2 و X_3 است.

اثر سطوح مختلف متغیرها بر میزان بازده چوب مرکزی گردو را می‌توان از حل رابطه ۱۰ بدست آورد و این نتایج در شکل ۱ (الف و ب) به صورت نمودارهای سطح پاسخ نشان داده شده است. در نمودارهای سطح پاسخ اثر دو متغیر مستقل در حالتی که متغیر سوم در نقطه ثابتی است، بررسی گردیده است. شکل ۱ (الف) تاثیر تغییر دما و pH فرآیند را بر بازده استخراج پکتین

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که تست عدم تطابق با مدل^۱ (تست عدم پردازش) در سطح ۰/۰۵، معنی‌دار نمی‌باشد و داده‌های آزمایشگاهی نسبت به مدل در وضعیت مناسبی قرار دارند، بعلاوه ضریب تبیین R^2 و R^2 تعدیل شده^۲ مشخص کرد که مدل در وضعیت رضایت بخشی قرار دارد (جدول ۳). در جدول ۳ مقادیر p اهمیت ضرایب جملات معادلات را مشخص کرد، که نشان داد اثرات خطی و درجه دوم متغیرهای مستقل معنی‌دار است و نتایج جدول تی-تست^۳ به فرم رابطه ۱۰ نمایان شد.

$$Y_1 = 6.87 + 0.39 X_1 + 3.60 X_2 + 2.74 X_3 - 0.78 X_1^2 - 0.71$$

3. T-test

1. Lack-of-fit
2. R-Sq(adj)

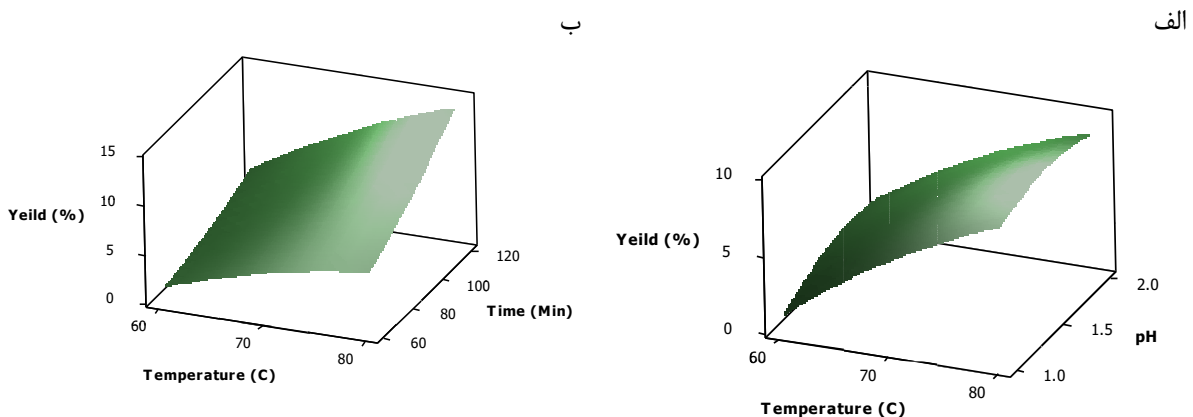
افزایش پیدا کرده است اما بعد از آن نتیجه معکوس شده و روند کاهش یافته است.

در شرایطی که زمان در نقطه مرکزی (۹۰ دقیقه: X_3) ثابت نگه داشته شده، نمایان است. همان طور که در شکل مشاهده می شود با افزایش pH میزان بازده پکتین استخراج شده تا نقطه خاصی

جدول ۳- آنالیز واریانس بدست آمده از مدل درجه دوم برای بازده استخراج پکتین

عددی p	عددی F	میانگین مربعات	ضایعات چوب مرکزی گردو
<۰/۰۰۰ ^a	۱۰۸/۹۷	۱۹/۹۴	
۰/۰۴۶	۶/۹۵	۱/۲۷	X ₁
۰/۰۰۰	۵۶۹/۲۳	۱۰۴/۱۸	X ₂
۰/۰۰۰	۳۲۹/۳۵	۶۰/۲۷	X ₃
۰/۰۱۷	۱۲/۳۳	۲/۲۵	X ₁ ²
۰/۰۲۴	۱۰/۲۲	۱/۸۷	X ₂ ²
۰/۱۱۴	۳/۶۶	۰/۶۷	X ₃ ²
۰/۱۵۳	۲/۸۳	۰/۵۱	X ₁ X ₂
۰/۰۱۰	۱۶/۰۷	۲/۹۴	X ₁ X ₃
۰/۰۳	۲۹/۵۳	۵/۴۰	X ₂ X ₃
		۰/۱۸	خطای باقی مانده
		۰/۰۲	خطای خالص
۰/۰۷۸ ^b	۱۸/۸۳	۲/۸۷	عدم تطابق با مدل
مقدار تعدیل شده R ²	مقدار پیش بینی R ² شده	R ²	
٪ ۸۷/۵۴	٪ ۸۵/۲۰	٪ ۹۵/۵۵	

^{a, b} حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار است (p ≤ ۰/۰۵)



شکل ۱- نمایش نمودار سه بعدی سطح پاسخ مربوط به تغییرات عوامل مستقل بر بازده پکتین چوب مرکزی گردو

بالای هیدرولیز پکتین نامحلول و تبدیل آن به پکتین محلول، قابلیت ترسیب را افزایش داده در نتیجه باعث افزایش بازیابی پکتین می شود (Jafari et al., 2017). اگرچه قدرت اسیدی بالا باعث افزایش بازده پکتین می شود اما pHهای خیلی پایین می تواند منجر به تشکیل ذرات بسیار کوچک پکتین شود در نتیجه حلالیت آن به نقطه ای رسد که با افزودن الکل قادر به رسوب

با توجه به رابطه مدل می توان گفت بازده استخراج پکتین زمانی که pH از مقدار ۱ به ۲ رسید، ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. pH پایین، وزن مولکولی پکتین چسبیده به دیواره سلولی گیاه را کاهش می دهد و بدون تجزیه زنجیره مولکولی به جدا و حل شدن آن از ماتریکس گیاهی کمک می کند که منجر به رسوب مولکول های پکتین خواهد شد. همچنین قدرت اسیدی

دار نبودن تست عدم تطابق با مدل نشان داد. با استفاده از نتایج جدول تی-تست و بررسی ارتباط میان متغیرهای مستقل و وابسته، رابطه ۱۱ به صورت زیر حاصل شد.

(رابطه ۱۱)

$$Y_2 = 64.46 + 2.71 X_1 + 1.35 X_2 - 0.46 X_3 - 2.17 X_2^2 + 0.77 X_1 X_2 - 0.69 X_1 X_3$$

در این رابطه Y_2 میزان درجه استریفیکاسیون پکتین حاصل که عبارتند از پاسخ سطوح کدبندی شده متغیرهای مستقل است. در رابطه ذکر شده تنها روابط معنی‌دار متقابل میان متغیرهای مختلف آمده است.

اثر سطوح مختلف متغیرها بر درصد استریفیکاسیون پکتین را می‌توان از حل رابطه ۱۱ بدست آورد و این نتایج در شکل ۲ (الف و ب) به صورت نمودارهای سطح پاسخ نشان داده شده است. شکل ۲ (الف) نشانگر تاثیر تغییرات pH و زمان بر فاکتور هدف در شرایطی که دما در نقطه مرکزی (۷۰ درجه سلسیوس X_2 : ثابت نگه داشته شده است، می‌باشد. شکل ۲ (ب) تاثیر افزایش دما و pH فرآیند را بر درجه استریفیکاسیون پکتین در شرایطی که زمان در نقطه مرکزی (۹۰ دقیقه X_3 : ثابت نگه داشته شده است را نشان می‌دهد.

نباشد. شکل ۱ (ب) تاثیر افزایش دما و زمان را در شرایط نقطه مرکزی pH (۱/۵ X_1 : نشان می‌دهد. نتایج نشان داد با گسترش زمان، بازده استخراج افزایش یافت (شکل ۱ ب). بسیاری محققان دما را به عنوان یکی از فاکتورهای مهم در استخراج پلی ساکاریدها نظیر پکتین گزارش کرده‌اند (Muthusamy et al., 2018). با افزایش دما بازده استخراج پکتین نیز افزایش یافت و در ۸۰ درجه سلسیوس بیشترین میزان حاصل شد. دمای بالا حلالیت پکتین را افزایش داد یعنی نرخ استخراج و ضریب نفوذ آن افزایش یافت در نتیجه افزایش راندمان استخراج مشاهده شد اما استفاده از دماهای بالاتر از ۸۰ درجه سلسیوس به دلیل صرف انرژی و هزینه بالا توصیه نمی‌شود (Hosseini et al., 2016).

بهینه سازی درجه استریفیکاسیون پکتین

نتایج درجه استریفیکاسیون بدست آمده از نمونه‌های مختلف پکتین با روش تجربی و مقادیر پیشگویی شده با روش آماری در جدول ۴ نشان داده شده است. مطابق با این جدول درصد استریفیکاسیون نمونه‌های چوب مرکزی گردو از ۵۹/۱۰ تا ۶۸/۶۰ درصد است. نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از واکنش استریفیکاسیون پکتین در جدول ۵ آمده است. نتایج این جدول وضعیت رضایت بخش مدل را با داشتن ضریب تبیین بالا و معنی

جدول ۴- نتایج بکارگیری شرایط بهینه استخراج بر درجه استریفیکاسیون پکتین چوب مرکزی گردو (خطا استاندارد \pm میانگین)

کدها	شماره تیمار	درصد درجه استریفیکاسیون	
		مقادیر پیش بینی شده	مقادیر واقعی
X_1	X_2	X_3	
-۱	-۱	۰	۵۹/۰±۰۱/۰۴
۱	-۱	۰	۶۳/۰±۴۲/۳۵
-۱	۱	۰	۶۰/۰±۲۰/۴۵
۱	۱	۰	۶۷/۰±۷۲/۵۳
-۱	۰	-۱	۶۲/۱±۳۰/۰۸
۱	۰	-۱	۶۸/۱±۶۰/۲۰
-۱	۰	۱	۶۲/۰±۴۱/۸
۱	۰	۱	۶۵/۰±۹۳/۲۳
۰	-۱	-۱	۶۱/۰±۰۱/۶۳
۰	۱	-۱	۶۴/۱±۲۲/۳۰
۰	-۱	۱	۶۱/۰±۰۰/۹۵
۰	۱	۱	۶۳/۰±۱۰/۶۵
۰	۰	۰	۶۴/۱±۶۳/۲۳
۰	۰	۰	۶۴/۰±۳۰/۱۵
۰	۰	۰	۶۴/۱±۴۷/۱۴

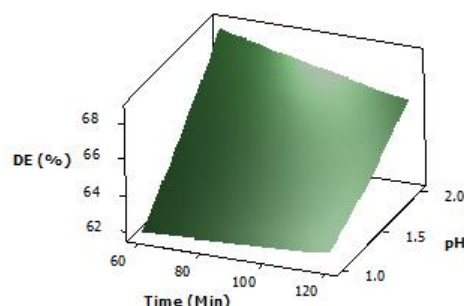
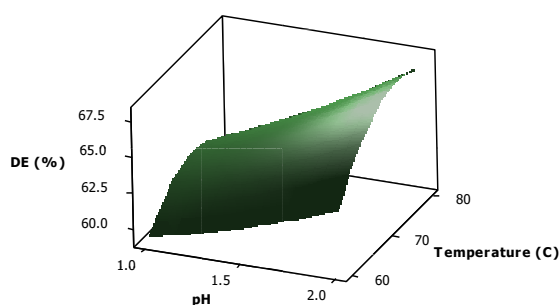
جدول ۵- آنالیز واریانس بدست آمده از مدل درجه دوم برای درجه استریفیکاسیون پکتین

ضایعات چوب مرکزی گردو	میانگین مربعات	عدد F	عدد p
	۱۰/۹۴۶۸	۶۲/۸۷	<۰/۰۰۰ ^a
X ₁	۵۹/۱۳۲۸	۳۳۹/۵۹	۰/۰۰۰
X ₂	۱۴/۵۸	۸۳/۷۳	۰/۰۰۱
X ₃	۱/۷۰۲	۹/۷۷	۰/۰۲۶
X ₁ ²	۰/۳۳۰۵	۱/۹	۰/۲۲۷
X ₂ ²	۱۷/۵۲۰۵	۱۰۰/۶۲	۰/۰۰۰
X ₃ ²	۰/۰۰۷۲	۰/۰۴	۰/۸۴۷
X ₁ X ₂	۲/۴۱۸	۱۳/۸۹	۰/۰۱۴
X ₁ X ₃	۱/۹۳۲۱	۱۱/۱	۰/۰۲۱
X ₂ X ₃	۰/۳۰۸	۱/۷۷	۰/۲۴۱
خطای باقی مانده	۰/۱۷۴۱		
خطای خالص	۰/۰۲۷۲		
عدم تطابق با مدل	۰/۲۷۲۱	۹/۹۹	۰/۰۹۳ ^b
R ²	R ²	مقدار پیش بینی شده R ²	مقدار تعدیل شده R ²
۰/۹۹/۱۲	۰/۸۶/۷۴	۰/۹۷/۵۵	

^{a, b} حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار است (p ≤ ۰/۰۵)

الف

ب



شکل ۲- نمایش نمودار سه بعدی سطح پاسخ مربوط به تغییرات عوامل مستقل بر درجه استریفیکاسیون پکتین چوب مرکزی گردو

گالاکتورونیک اسید مقاومت کمتری به هیدرولیز اسیدی دارند (Muthusamy et al., 2018). بر طبق مدل بدست آمده از درجه استریفیکاسیون پکتین، دما دارای توان دوم در رابطه بود در نتیجه بعنوان موثرین فاکتور شناسایی شد.

مهمترین نتیجه بدست آمده از درجه استریفیکاسیون نوع پکتین است که در صنعت جهت تهیه مرباهای معمول از پکتین با درجه استریفیکاسیون بالای ۷۰ درصد (تند بند) و از پکتین با درجه استریفیکاسیون کمتر از ۶۸ درصد (کند بند) در فرمولاسیون مربا میوه های بسیار اسیدی و ژله استفاده می شود. در تحقیق انجام شده پکتین از نوع درجه استریفیکاسیون کمتر یا کند بند بود که از این نوع پکتین برای حذف فلزات سنگین از بدن و کاهش فعالیت سلول های سرطانی استفاده می شود (Fathi et al., 2012). پکتین های حاصل از پوست نارنج، تفاله هویج، پوست سبز گردو، پوست خربزه، گل آفتابگردان و کلاهدک بادمجان در گروه پکتین کند بند و مشابه با نتایج این تحقیق به حساب

با نگاه به اشکال می توان دریافت که با افزایش pH درجه استریفیکاسیون در حال افزایش است اما این افزایش تا نقطه ای از افزایش دما مشاهده شد. با توجه به رابطه مدل می توان گفت درجه استریفیکاسیون پکتین زمانی که pH از مقدار ۱ به ۲ رسید افزایش یافت اما افزایش دما و زمان ابتدا سبب افزایش و سپس کاهش درجه استریفیکاسیون شد.

راندمان استخراج پکتین با افزایش همزمان دما و زمان افزایش یافت اما مطابق با رابطه مدل کمترین درجه استریفیکاسیون پکتین در نقطه بهینه ای از دما و زمان استخراج به دست آمد البته با بالا رفتن pH این فاکتور افزایش یافت پس می توان گفت شرایط بهینه بازده پکتین و درجه استریفیکاسیون برخلاف یکدیگر هستند که احتمالا به دلیل تجزیه پیوندهای استری پکتین در شرایط اسیدی است. تصور بر این است که درجه استریفیکاسیون بالاتر نشان دهنده پکتین با آسیب کم تر است زیرا پیوندهای استری نسبت به پیوندهای گلیکوزیدی آلفا ۱ و ۴ بین

تست (جدول ۷) و بررسی ارتباط میان متغیرهای مستقل و وابسته، رابطه ۱۲ به صورت زیر حاصل شد.

(رابطه ۱۲)

$$Y_3 = 66.34 + 1.57 X_2 - 3.40 X_1^2 - 2.05 X_2^2 - 1.71 X_1 X_2$$

در این رابطه Y_3 درصد اسید گالاکتورونیک پکتین که عبارتند از پاسخ سطوح کدبندی شده متغیرهای مستقل است، می‌باشد. در رابطه ذکر شده تنها روابط معنی‌دار متقابل میان متغیرهای مختلف، نشان داده شده است.

می‌آیند و سایر نمونه‌ها از جمله پکتین کدو حلوایی و پوست بادمجان در گروه پکتین‌های تند بند قرار دارند (Nouri and Mokhtarian, 2020).

بهینه‌سازی درصد گالاکتورونیک اسید پکتین

نتایج جدول ۶ وضعیت رضایت بخش مدل را با داشتن ضریب تبیین بالا و معنی‌دار نبودن تست عدم تطابق با مدل نشان داد. درصد اسید گالاکتورونیک نمونه‌های بدست آمده از چوب مرکزی گردو ۵۷/۸۱ تا ۶۶/۵۱ درصد است. با استفاده از نتایج جدول تی-

جدول ۶- نتایج بکارگیری شرایط بهینه استخراج بر درصد اسید گالاکتورونیک پکتین چوب مرکزی گردو (خطا استاندارد \pm میانگین)

کدها	شماره تیمار	درصد گالاکتورونیک	مقادیر پیش بینی شده	مقادیر واقعی
X_1	X_2	X_3		
-۱	-۱	۰	۵۷/۶۹	۵۷/۰ \pm ۸۱/۰۷
۱	-۱	۰	۶۰/۹۳	۵۹/۰ \pm ۴۲/۰۳
-۱	۱	۰	۶۴/۲۸	۶۴/۰ \pm ۸۰/۰۵
۱	۱	۰	۶۰/۶۵	۵۹/۰ \pm ۵۴/۱۳
-۱	۰	-۱	۶۲/۳۷	۶۲/۰ \pm ۳۲/۰۶
۱	۰	-۱	۶۱/۶۱	۶۲/۰ \pm ۲۰/۰۲
-۱	۰	۱	۶۲/۵۹	۶۲/۰ \pm ۱۰/۰۴
۱	۰	۱	۶۲/۹۸	۶۳/۰ \pm ۰۳/۰۸
۰	-۱	-۱	۶۱/۵۸	۶۱/۰ \pm ۵۲/۰۴
۰	۱	-۱	۶۵/۰۹	۶۴/۰ \pm ۶۳/۰۸
۰	-۱	۱	۶۲/۷۴	۶۳/۰ \pm ۸۱/۰۶
۰	۱	۱	۶۵/۵۴	۶۴/۰ \pm ۶۱/۰۲
۰	۰	۰	۶۶/۳۴	۶۶/۰ \pm ۵۰/۱۰
۰	۰	۰	۶۶/۳۴	۶۶/۰ \pm ۰۳/۰۳
۰	۰	۰	۶۶/۳۴	۶۶/۰ \pm ۵۱/۰۵

جدول ۷- آنالیز واریانس بدست آمده از مدل درجه دوم برای درصد اسید گالاکتورونیک

ضایعات چوب مرکزی گردو	میانگین مربعات	عدد F	عدد p
	۱۰/۴۹	۱۱/۹۳	<۰/۰۰۷ ^a
X_1	۰/۱۳۲۸۹۴	۱/۰۷	۰/۳۴۰
X_2	۱۵/۱۸	۱۷/۲۵	۰/۰۰۹
X_3	۰/۹۷	۱/۱۱	۰/۳۴۱
X_1^2	۴۷/۹۴	۵۴/۴۶	۰/۰۰۱
X_2^2	۲۰/۴۰	۲۳/۱۸	۰/۰۰۵
X_3^2	۰/۴۶	۰/۵۲	۰/۵۰۲
$X_1 X_2$	۱۱/۷۹	۱۳/۴۰	۰/۰۱۵
$X_1 X_3$	۰/۳۲	۰/۳۷	۰/۵۷۰
$X_2 X_3$	۱/۳۳	۱/۵۲	۰/۲۷۳
خطای باقی مانده	۰/۸۸		
خطای خالص	۰/۰۷		
عدم تطابق با مدل	۱/۴۱	۱۸/۸۳	۰/۱۱۱ ^b
R^2		مقدار تعدیل شده	مقدار تعدیل شده
		R^2	R^2
	۹۵/۵۵٪	۸۵/۲۰٪	۸۷/۵۴٪

^{a, b} حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($p \leq 0.05$)

استخراج شده است که جهت مطالعات بیولوژیکی، کاربردهای دارویی و غذایی بسیار مهم است (Jafari et al., 2017). بر طبق سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) و اتحادیه اروپا (EU) حداقل گالاتورونیک اسید پکتین ۶۵ درصد است (Hosseini et al., 2016). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که درصد گالاتورونیک اسید نمونه‌ها مطابق با استاندارد است. با مقایسه نتایج درصد استریفیکاسیون و گالاتورونیک اسید می‌توان بیان کرد که درجه استریفیکاسیون به شرایط استخراج حساستر بوده و میزان تغییرات آن بیشتر است که احتمالاً به دلیل مقاومت بیشتر پیوندهای گلیکوزیدی بین گالاتورونیک اسید نسبت به پیوندهای استری به هیدرولیز اسیدی است.

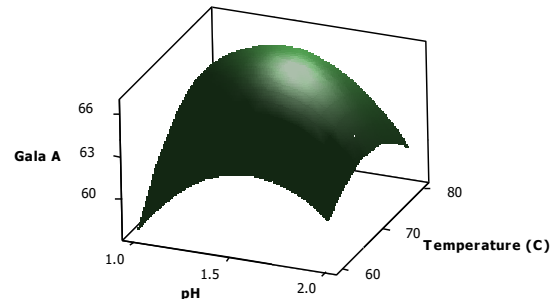
بهینه سازی شرایط استخراج پکتین بر اساس درصد راندمان، درجه استریفیکاسیون و درصد گالاتورونیک پکتین استخراجی از چوب مرکزی گردو

شکل ۴ نمودار بهینه سازی شرایط استخراج پکتین بر اساس درصد راندمان، استریفیکاسیون و گالاتورونیک اسید پکتین استخراج شده از چوب مرکزی گردو را نشان می‌دهد. شرایط بهینه استخراج پکتین از چوب مرکزی گردو با بیشترین بازده استخراج (۱۴/۳۲ درصد)، استریفیکاسیون (۶۴/۰۳ درصد) و گالاتورونیک اسید (۶۳/۶۲ درصد) متناسب با pH ۱/۶۸، دمای ۸۰ درجه سلسیوس و زمان استخراج ۱۲۰ دقیقه مشاهده شد. نتایج بدست آمده توسط آزمایشات تاییدی با دو تکرار انجام شد و اختلاف معنی داری میان مقادیر پیش بینی شده و واقعی نمایان نشد. سپس نمونه‌ی بهینه تهیه شده برای انجام آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

Optimal D	High Cur	pH	Temperat	Time (Mi
0.38793	Low	[1.6869]	[80.0]	[120.0]
		2.0	80.0	120.0
		1.0	60.0	60.0
Composite Desirability 0.38793				
Yeild (%) Maximum y = 14.3295 d = 0.14330				
DE% Maximum y = 64.0325 d = 0.64032				
Gala A Maximum y = 63.6241 d = 0.63624				

شکل ۴- نمایش نمودار بهینه سازی شرایط استخراج پکتین بر اساس درصد راندمان، استریفیکاسیون و گالاتورونیک اسید پکتین استخراج شده از چوب مرکزی گردو

اثر سطوح مختلف متغیرها بر درصد اسید گالاتورونیک پکتین را می‌توان از حل معادلات ۱۲ بدست آورد و این نتایج در شکل ۳ به صورت نمودار سطح پاسخ نشان داده شده است.



شکل ۳- نمایش نمودار سه بعدی سطح پاسخ مربوط به تغییرات عوامل مستقل بر درصد اسید گالاتورونیک پکتین چوب مرکزی گردو

شکل ۳ تاثیر افزایش دما و pH فرآیند را بر درصد اسید گالاتورونیک پکتین در شرایطی که زمان در نقطه مرکزی (دقیقه ۹۰: X₁) ثابت نگه داشته شده است را نشان می‌دهد. با افزایش دو عوامل هدف درصد اسید گالاتورونیک پکتین تا نقطه خاصی افزایش پیدا کرد اما بعد از این نقطه نتیجه معکوس شد و روند کاهش یافت.

با توجه به رابطه مدل می‌توان گفت درصد اسید گالاتورونیک پکتین زمانی که pH از مقدار ۱ به مقدار ۱/۴۴ رسید افزایش یافت اما با افزایش بیشتر pH این عامل کاهش یافت. افزایش دما نیز ابتدا سبب افزایش و سپس کاهش درصد اسید گالاتورونیک شد، زیرا افزایش درصد اسید گالاتورونیک در دماهای بالا و pH های پایین مشاهده شد (Kazemi et al., 2019). در مطالعات پیشین pH به عنوان مهمترین عامل موثر بر درصد گالاتورونیک اسید معرفی شده است که مطابق با نتایج تحقیق حاضر است (Hosseini et al., 2016). تاکنون فرضیات متفاوتی در مورد تاثیر pH بر خلوص پکتین مطرح شده است از جمله اینکه در pH برابر با ۱/۵ پکتین کمتری استخراج می‌شود زیرا ترکیبات غیر پکتیکی در این شرایط از دیواره سلولی عبور و با الکل رسوب می‌کند و در کمترین pH پکتین استخراج شده به ترکیبات با وزن مولکولی کم تجزیه شده و با اتانول رسوب نمی‌کند (Kazemi et al., 2019). همچنین با توجه به معادلات می‌توان بیان کرد که عامل زمان، میزان درصد اسید گالاتورونیک را تحت تاثیر قرار نداده است و دو عامل دیگر یعنی دما، pH و اثر متقابل آنها تاثیر بیشتری بر میزان آن داشته‌اند.

میزان گالاتورونیک اسید در منابع مختلف گیاهی متفاوت است، از آن جایی که گالاتورونیک اسید جز اصلی تشکیل دهنده پکتین می‌باشد تعیین کمی آن نشان دهنده درجه خلوص پکتین

میزان خاکستر

مقدار خاکستر یکی از مهمترین عوامل در قدرت ژل کنندگی است و تحقیقات نشان داده است که خاکستر موجب تشکیل نواحی اتصال و شبکه ژلی می‌گردد (Jannat et al., 2016). اثر خاکستر معمولاً در پکتین‌های کم استر مطرح است زیرا گروه‌های کربوکسیل بیشتری جهت واکنش با خاکستر در دسترس هستند. از آنجایی که نوع پکتین استخراجی پژوهش حاضر کم استر است، این آزمون انجام و درصد خاکستر پودر پکتین ۱/۱۴ درصد شد که در محدوده‌ی نتایج محققین پیشین است و میزان خاکستر در نمونه پکتین آفتابگردان ۱/۵ درصد گزارش شده است. از سوی دیگر نتایج بدست آمده خاکستر کمتر از حداکثر میزان مجاز است و ترکیب استخراج شده به عنوان پکتین خوراکی معرفی می‌شود (Jannat et al., 2016).

وزن مولکولی

مقدار گرانیوی ذاتی یک پلیمر مقیاسی از حجم هیدرودینامیک یک مولکول پلیمری است و ظرفیت مولکولی آن را برای افزایش گرانیوی نشان می‌دهد. گرانیوی ذاتی توسط وزن مولکولی، درجه استریفیکاسیون، دما، غلظت و pH محلول تحت تاثیر قرار می‌گیرد. وزن مولکولی متوسط پکتین یک پارامتر کلیدی در تشکیل

ژل می‌باشد (Raji et al., 2017).

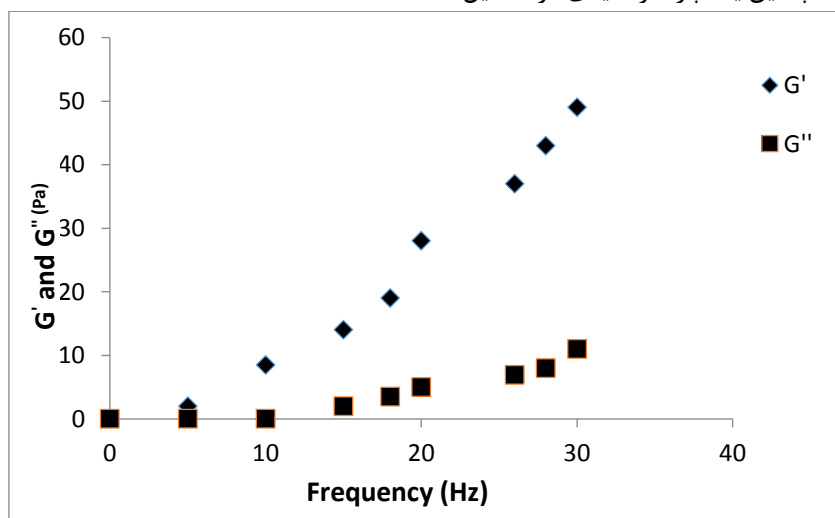
گرانیوی ذاتی نمونه پکتین ۱/۲۹ (میلی گرم بر گرم) بود و با دانستن مقادیر K و α به ترتیب $10^{-2} \times 9/55$ و $0/73$ وزن مولکولی از رابطه ۱۳ به دست آمد.

$$\eta = 9.55 \times 10^{-2} (\text{Mw})^{0.73} \quad (\text{رابطه ۱۳})$$

وزن مولکولی نمونه پکتین استخراج شده در شرایط بهینه از چوب مرکزی گردو ۳۵/۶۱ کیلو دالتون به دست آمد. وزن مولکولی پکتین استخراج شده از پوست پسته ۱۲/۸۷ کیلو دالتون (Chaharbaghi et al., 2017) و پوست خربزه ۶۷/۶ کیلو دالتون (Raji et al., 2017) گزارش شده است. وزن مولکولی پکتین تحت تاثیر نوع منبع گیاهی و شرایط استخراج قرار دارد. گرانیوی ذاتی پایین پکتین می‌تواند به دلیل وجود مناطق هموگالاکتورونانی با پیوندهای قوی باشد، اما انواع پکتین با گرانیوی ذاتی بالا حاوی نواحی با ساختار و ترکیب مارپیچی هستند (Yapo et al., 2011).

خصوصیات رئولوژیکی

ژل‌ها موادی ویسکوالاستیک هستند بنابراین آزمون‌های رئولوژیکی دینامیک برای بررسی خواص ژل‌ها و فرایند ژله‌ای شدن آنها بسیار مناسب می‌باشد.



شکل ۵- نمایش نمودار تغییر ضریب‌های الاستیک (G') و ویسکوز (G'') برای نمونه بهینه پکتین حاصل از چوب مرکزی گردو در غلظت ۱٪

را شرح می‌دهد (Rascón-Chu et al., 2009). شکل ۵ نمودار تغییر مدول‌های G' و G'' را برای نمونه‌ی پکتین بهینه در غلظت ۱ درصد نشان می‌دهد.

اگر مقدار ضریب الاستیک (G') بیشتر از ضریب ویسکوز (G'') باشد ترکیب رفتاری شبیه به یک جامد دارد، یعنی تغییر شکل‌های ماده، اساساً الاستیک یا قابل بازیافت خواهد بود و در صورتی که مقدار ضریب ویسکوز (G'') بیشتر از ضریب الاستیک

از آزمون‌های رئولوژیکی دینامیک در محدوده ویسکوالاستیک خطی می‌توان ضریب ذخیره (G')، مدول اتلاف (ویسکوز) (G'') و فاکتور اتلاف $\tan \delta = (G''/G')$ را به دست آورد. مقدار ضریب ذخیره شاخصی از انرژی ذخیره شده در نمونه در طول فرآیند برشی است و رفتار الاستیک نمونه را توصیف می‌کند. ضریب اتلاف شاخصی از انرژی مصرف شده در طول برش و انرژی تلف شده در نمونه است و رفتار ویسکوز نمونه

بکار می‌رود. اگر کشش بین سطحی میان روغن و آب بالا باشد، یک امولسیون پایدار به دشواری تشکیل می‌شود. امولسیفایرها با کاهش کشش بین سطحی از تجمع و پیوستگی ذرات فاز پراکنده جلوگیری کرده و منجر به افزایش پایداری سیستم امولسیونی می‌گردند (Maa et al., 2013).

پکتین با جذب در سطح مشترک فازها در اطراف ذره‌های پخش شده، یک پوشش تشکیل داده و منجر به دفع الکترواستاتیک می‌شود و یا از طریق افزایش گرانیوی فاز آبی باعث پایداری امولسیون می‌شود. فاکتورهای زیادی در فعالیت امولسیونی پکتین موثر است، وزن مولکولی پایین یکی از مهم ترین فاکتورها می‌باشد، این عامل خود نیز تحت تاثیر شرایط استخراج نظیر دما و زمان استخراج می‌باشد (Fissore et al., 2013). فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیونی، امولسیون تهیه شده از نمونه‌ی بهینه محلول پکتین-روغن (۵/۰ درصد وزنی/وزنی) استخراج شده در جدول ۸ نشان داده شده است.

جدول ۸- فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون روغن/ محلول ۵/۰ درصد حجمی / وزنی نمونه‌ی بهینه پکتین چوب مرکزی گردو					
درصد فعالیت امولسیفایری			درصد پایداری امولسیون		
دما (درجه سلسیوس)		۲۳	زمان نگهداری (روز)		۳۰
نمونه بهینه پکتین چوب مرکزی گردو					
۴۹/۴		۸۴/۳	۸۴/۰	۸۲/۰	۸۰/۶

خصوصیات طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)

آزمون طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریر به عنوان یک تکنیک سودمند برای تعیین اسیدهای آرونیکی پکتین پیشنهاد شده است. در این پژوهش از طیف مادون قرمز برای شناسایی گروه‌های عاملی اصلی پکتین استخراج شده از نمونه‌ی بهینه استفاده شد. طیف مادون قرمز جذب شده در شکل ۶ نشان داده شده است.

با توجه به شکل ۶ پیک مشاهده شده در طول موج‌های محدوده ۳۱۷۲ تا ۲۷۴۲ بر سانتی متر نمونه پکتین بهینه استخراج شده از چوب مرکزی گردو مربوط به جذب گروه های هیدروکسیلی کششی ناشی از پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی و گروه‌های مختلف کربنی (CH , CH_2 , CH_3) است. ناحیه بین باندهای ۸۰۰-۱۲۰۰ بر سانتی متر ناحیه ویژه‌ای می‌باشد، زیرا این ناحیه اطلاعات ساختاری را نمایش می‌دهد و برای مقایسه انواع مختلف پکتین مورد استفاده است. در نمونه‌ی پکتین پیک-هایی در طول موج‌های ۱۷۴۲ و ۱۶۹۲ بر سانتی متر آشکار شده است که این جذب‌ها می‌توانند به ترتیب مربوط به ارتعاش گروه-های کربوکسیلی کششی ($\text{C}=\text{O}$) متیل استری شده باشد

(G') باشد انرژی استفاده شده برای تغییر شکل ماده به هدر می‌رود و رفتار ماده شبیه مایع خواهد شد. با توجه به شکل ۵ نمونه‌ی پکتین بهینه حاصل رفتاری نزدیک به شبه ژل از خود نشان داده- است که در تمام دامنه فرکانس مورد بررسی، ضریب الاستیک (G') از ضریب ذخیره (G'') بالاتر (بزرگتر) بود که نشان دهنده رفتار شبه جامد است، همان طوری که از یک شبکه الاستیک مورد انتظار می‌باشد (Rascón-Chu et al., 2009). همچنین نتایج نشان داد در تمام دامنه فرکانس مورد بررسی ضریب الاستیک (G') و ضریب ذخیره (G'') با افزایش فرکانس، افزایش یافتند که نتایج حاصل در راستای نتایج رئولوژی پکتین پوست پسته است (Raji et al., 2017).

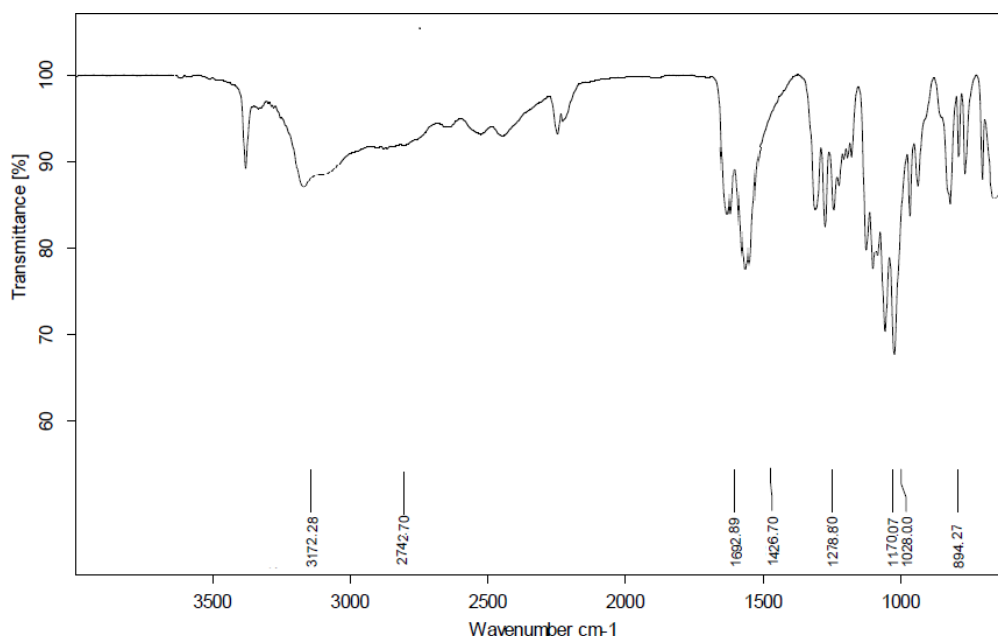
خصوصیات امولسیفایری

روغن و آب دو مایع غیر قابل اختلاط در یکدیگر می‌باشند، جهت ایجاد یک امولسیون همگن از این دو مایع ترکیبات امولسیفایری

با توجه به نتایج نشان داده شده در جدول ۸ درصد فعالیت امولسیفایری نمونه‌ی پکتین استخراج شده از چوب مرکزی گردو در غلظت ۵/۰ درصد که بلافاصله بعد از انجام آزمون در درجه حرارت ۲۳ درجه سلسیوس اندازه گیری شد ۴۹/۴ درصد بود که این میزان از فعالیت امولسیفایری پکتین تفاله چغندر قند استخراج شده که برابر با ۳۲/۲ درصد بود بالاتر می‌باشد و از فعالیت امولسیفایری پکتین حاصل از تفاله هویج پایین تر بود (Maa et al., 2013; Jafari et al., 2017). فعالیت امولسیفایری پکتین مرکبات در غلظت ۵/۰ درصد عدد ۴۹/۶ درصد را گزارش کرد که پکتین حاصل از چوب مرکزی گردو می‌تواند در شرایط مشابه فعالیت قابل مقایسه با پکتین مرکبات از خود بروز دهد (Pasandide et al., 2018). درصد پایداری امولسیون پکتین هدف در بیشترین و کمترین مقدار خود به ترتیب ۸۴/۳ درصد در روز اول دمای ۴ درجه سلسیوس و ۸۰/۶ درصد در روز سی ام و دمای ۲۳ درجه سلسیوس مشاهده شد. دلیل فعالیت امولسیفایری و پایداری نسبتاً خوب پکتین حاصل را می‌توان به وجود پلی فنل‌ها، اسید کافئیک که از اسیدهای فنولیک غالب است و اسید کلروژنیک هیدروکسی سینامیک که اسید اصلی موجود در بافت است، نسبت داد.

های استری شده نسبت حالت آزاد بیانگر درجه استری کمتر از ۶۸ درصد می باشد. پیک‌های جذب شده در محدوده طول موج-های ۱۲۰۰ تا ۱۰۰۰ بر سانتی متر را می‌توان به وجود ترکیبات قندی مختلف مثل فورانوز و پیرانوز در ساختار پکتینی نسبت داد.

(Gnanasambandam and Proctor, 2000). پیک‌های جذب شده در طول موج‌های ۱۲۷۸ و ۱۴۲۶ بر سانتی متر نیز بیانگر گروه-های کربوکسیل آزاد هستند (Jafari *et al.*, 2017). کمتر بودن سطح زیر پیک طول موج‌های محدوده‌ی گروه‌های کربوکسیل



شکل ۶- طیف جذبی FTIR نمونه پکتین بهینه جدا شده از چوب مرکزی گردو

کرد که چوب مرکزی گردو از منابع مناسب جهت استخراج پکتین است.

سپاسگزاری

مقاله علمی پژوهشی حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۱۱۳۹۶۰۶۲۰۰۰۰۴ مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن می باشد. نویسندگان این مقاله بر خود لازم می دانند که از معاونت پژوهش فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن به دلیل مساعدت های مالی جهت اجرای طرح پژوهشی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که شرایط بهینه استخراج پکتین از چوب مرکزی گردو با بیشترین بازده استخراج (۱۴/۳۲)، درجه استریفیکاسیون (۶۴/۰۳) و گالاتورونیک اسید (۶۳/۱۶۲) متناسب با pH ۱/۶۸، دمای فرآیند ۸۰ درجه سلیسیوس و زمان استخراج ۱۲۰ دقیقه بود. نمونه پکتین بهینه استخراج شده خواص امولسیفایری و رفتار ویسکوز و سودوپلاستیکی مناسبی از خود نشان داد و خاکسترکل و وزن مولکولی آن به ترتیب ۱/۱۴٪ و ۳۵/۶۱ کیلو دالتون بود. نمودار طیف سنج مادون قرمز آن غنی از حضور اسید گالاتورونیک بود و در نهایت می‌توان اینگونه بیان

REFERENCES

- AOAC. (1995). Official methods of analysis, (15th^{ed}) edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC., USA.
- Asgari, K., Labbafi, M., Khodaiyan, F., Kazemi, M., & Hosseini, S. S. (2019). High-methylated pectin from walnut processing wastes as a potential resource: Ultrasound assisted extraction and physicochemical, structural and functional analysis. *International Journal of Biological Macromolecules* (In Press)
- Bagherian, H., Zokaei, F., Fouladitajar, A., & Mohtshamy, M. (2011). Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50, 1237-1243.
- Chaharbaghi, E., Khodaiyan, F., & Hosseini, S. (2017). Optimization of pectin extraction from pistachio green hull as a new source. *Carbohydrate Polymers*, 171, 1-12.
- Chan, S., & Choo, W. (2013). Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. *Food Chemistry*, 141, 3752-3758.
- Cockburn, D. W., & Koropatkin, N. M. (2016). Polysaccharide degradation by the intestinal microbiota and its influence on human health and disease. *Journal of Molecular Biological*, 14, 9-23
- 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, 463–471.
- Espitia, P. J., Du, W., Avena-Bustillos, R. J., Soares, N. F., & McHugh, T. H. (2014). Edible films from pectin: Physical mechanical and antimicrobial properties - A review. *Food Hydrocolloids*, 35, 287-296.
- Fathi, B., Maghsoudlou, Y., Ghorbani, M., & Khomeiri, M. (2012). Effect of pH, temperature and time of acidic extraction on the yield and characterization of pectin obtained from pumpkin waste. *Journal of Food Research*, 22(4), 465-475. (In Farsi)
- Fissore, E. N., Rojas, A. M., Gerschenson, L. N., & Williams, P. A. (2013). Butternut and beetroot pectins: Characterization and functional properties. *Food Hydrocolloids*, 31, 172-182.
- Fuentes, R. M., Femenia, A., Garau, M. C., Meza-Velázquez, J. A., Simal, S., & Rosselló, C. (2014). Ultrasound-assisted extraction of pectins from grape pomace using citric acid: A response surface methodology approach. *Carbohydrate Polymers*, 106, 179–189.
- Gnanasambandam, R., & Proctor, A. (2000). Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance Fourier transforms infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 68, 327–332.
- Grassino, A. N., Brncić, M., Vikić-Topić, D., Roca, S., Dent, M., & Brncić, S. R. (2016). Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. *Food Chemistry*, 198, 93–100.
- Gupta, S. R., Ravindranah, B., & Seshari, T. R. (1972). *Juglandaceae: polyphenols of juglans nigra*. *Phytochem*, 11, 2634-2636.
- Hosseini, S., Khodaiyan, F., & Yarmand, M. (2016). Effect of acid extraction conditions on yield and quality characteristics of pectin from sour orange peel. *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, 47(2), 231-242. (In Farsi)
- Iglesias M. T., & Lozano, J. E. (2004). Extraction and characterization of sunflower pectin. *Journal of Food Engineering*, 62, 215–223.
- Jafari, F., Khodaiyan, F., Kiani, H., & Hosseini, S. (2017). Pectin from carrot pomace: Optimization of extraction and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1315-1322.
- Jannat, B., Oveisi, M. R., Sadeghi, N., Behzad, M., Behfar, A., Hajmahmoodi, M., & Shohada, M. R. (2016). Determination of Pectin in Sunflower and Its Application in Food Industry. *Food Technology and Nutrition*, 13(1), 25-34. (In Farsi)
- Jiang, Y., Du, Y., Zhu, X., Xiong, H., Woo, M. W., & Hu, J. (2012). Physicochemical and comparative properties of pectins extracted from *Akebia trifoliata* var. *australis* peel. *Carbohydrate Polymers*, 87, 166- 1669.
- Junter, G. A., Thébault, P., Lebrun, L. (2016). Polysaccharide-based antibiofilm surfaces. *Acta Biomaterialia*, 30, 13–25.
- Kazemi M., Khodaiyan F., & Hosseini S. S. (2019). Eggplant peel as a high potential source of high methylated pectin: Ultrasonic extraction optimization and characterization. *LWT - Food Science and Technology*, 105, 182-189.
- Kliemann, E., Simas, K. N., Amante, E. R., Prudencio, S. E., Teofilo, R. F., Ferreira, M. C., Renata D. M., & Ambon, C. (2009). Optimisation of pectin acid extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) using response surface methodology. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 476–483.
- Krivorotova, T., Cirkovas, A., Maciulyte, S., Staneviciene, R., Budriene, A. S., Serviene, E., & Sereikaite, J. (2016). Nisin-loaded pectin nanoparticles for food preservation. *Food Hydrocolloids*, 54, 49-56.
- Levigne, S., Ralet, M. C., & Thibault, J. F. (2002). Characterisation of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using an experimental design. *Carbohydrate Polymer*, 49, 145-153.
- 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(9), 3268–73.
- Maa, S., Yu, S., Zheng, J., Wang, X. L., Bao, X., & Guo, Q. D. (2013). Extraction, characterization and spontaneous emulsifying properties of pectin from sugar beet pulp. *Carbohydrate Polymers*, 98, 750–753.
- Masmoudi, M.; Besbes, S.; Chaabouni, M.; 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 Polymers*, 74, 185–192.
- Mosayebi, V., Emam-Djomeh, Z., & Tabatabaei Yazdi, F. (2017). Optimization of extraction conditions of pectin by conventional method from black mulberry pomace. *JFST*, 62(14), 341-356. (In Farsi)
- Muthusamy S., Manickam L. P., Murugan V., Chandrasekar M., & Pugazhendhi A. (2019). Pectin extraction from *Helianthus annuus* (sunflower) heads using RSM and ANN modelling by a genetic algorithm approach. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 750-758.
- Mosayebi V., & Tabatabaei Yazdi F. (2018). Optimization of microwave assisted extraction (MAE) of pectin from black mulberry (*Morus nigra* L.) pomace. *Journal of Food and Bioprocess Engineering*, 1(1), 57-66.
- Nouri M., & Mokhtarian M. (2020). Optimization of pectin extraction from walnut green husk and characterization of its physicochemical and rheological properties. *Nutrition and Food Science Research* 2020, 7(2), (In Press).
- Pagán, J., Ibarz, A., Llorca, M., Pagán, A., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2001). Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. *Food Research International*, 34(7), 605-612.
- Pasandide B., Khodaiyan F., Mousavi Z., & Hosseini S.

- S. (2018). A Box-Behnken experimental design for microwave assisted extraction optimization of pectin from citron peel. *Journal of Food and Bioprocess Engineering*, 1(2), 149-156.
- Raji, Z., Khodaiyan, F., Rezaei, K., Kiani, H., & Hosseini, S. (2017). Extraction optimization and physicochemical properties of pectin from melon peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98(17), 709-716.
- Rascón-Chu, A., Martínez-López, A. L., Carvajal-Millán, E., Ponce de León- Renova, N. E., Márquez-Escalante, J., & Romo-Chacón, A. (2009). Pectin from low quality 'Golden Delicious' apples: composition and gelling capability. *Food Chemistry*, 116, 101-103.
- Santos, J. D. G., Espeleta, A. F., Branco, A., & Assis, S. (2013). Aqueous extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate Polymers*, 92(2), 1997-2001.
- Schemin, M. H. C., Fertonani, H. C. R., Waszczynskyj, N., & Wosiacki, G. (2006). Extraction of pectin from apple pomace. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48, 259-266.
- Vriesmann, L. C., & Petkowicz, C. L. O. (2013). Highly acetylated pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) forms gel. *Food Hydrocolloids*, 33, 58-65.
- Wangorsch, A., Jamin A., Lidholm, J., Gräni, N., Lang, C., Ballmer-Weber, B., Stefan, V., & Scheurer, S. (2017). Identification and implication of an allergenic PR-10 protein from walnut in birch pollen associated walnut allergy. *Molecular Nutrition and Food Research*, 61 (4), 1-24.
- Weska, R. F., Moura, J. M., Batista. L. M., Rizzi, J., & Pinto. L. A. A. (2007). Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: use of response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 80, 749-753.
- Woncho, C., Lee, D., & Kim, C. (2003) Concentration and purification of soluble pectin from mandarin peels using crossflow microfiltration system. *Carbohydrate Polymers*, 54, 21-26.
- 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, 1356-1364.
- Yuliarti, O., Matia-Merino, L., Goh, K. T., Mawson, J., Williams M. K., & Brennan, C. (2015). Characterization of gold kiwifruit pectin from fruit of different maturities and extraction methods. *Food Chemistry*, 166, 479-485.