



Microwave-assisted pectin extraction: Response Surface optimization of power, time, and pH

Seyedeh Motahareh Mohseni Shektai¹, Seyed Majid Zabihzadeh^{2*},
Maryam Ghorbani Kokandeh³, Ghasem Asadpour⁴

1- PhD student, Cellulosic Industry, Department of Wood and Cellulosic Products Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran

2- Corresponding Author, Associate Professor, Department of Wood and Cellulosic Products Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran, Email: m.zabihzadeh@sanru.ac.ir

3- Professor, Department of Wood and Cellulosic Products Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran

4- Associate Professor, Department of Wood and Cellulosic Products Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran

Received: November 2025

Accepted: January 2026

Abstract

Problem definition and objectives: The global trend toward sustainable valorization of agro-industrial residues has increasingly emphasized the recovery of high-value bioactive compounds. Among these, pectin is one of the most important polysaccharides, widely utilized in the food, pharmaceutical, and bio-based packaging industries. Despite its significance, conventional extraction methods, such as hot acid extraction, are associated with high energy and solvent consumption and often result in degradation of the pectin polymeric structure, thereby reducing the quality of the final product. Accordingly, the present study aimed to develop and optimize a green process for pectin extraction from lime (*Citrus aurantifolia*) peel using microwave-assisted extraction (MAE). Response surface methodology (RSM) based on a Box–Behnken design was employed to evaluate the effects of three key variables—microwave power, irradiation time, and pH—on extraction yield, degree of esterification (DE), and galacturonic acid (GalA) content, with the objective of identifying optimal conditions that maximize both the yield and purity of the extracted pectin.

Methodology: Fresh lime albedo (white peel) was dried at 50 °C, milled, and sieved. The independent variables were microwave power (270–470 W), irradiation time (2–4 min), and pH (1–3), each examined at three levels. Based on the Box–Behnken design, 15 experimental runs were conducted. The extraction yield was determined gravimetrically, galacturonic acid (GalA) content was quantified using the m-hydroxydiphenyl colorimetric method at 520 nm, and the degree of esterification (DE) was calculated by acid–base titration. Data were analyzed using Design-Expert® version 13, and second-order polynomial models were fitted for each response.

Results: The mathematical models developed for all three responses exhibited high coefficients of determination ($R^2Y = 0.9990$, $R^2DE = 0.9974$, and $R^2GalA = 0.9994$), and the lack-of-fit test was not significant for any response ($P > 0.05$). Response surface analysis indicated that decreasing the pH to a strongly acidic range (approximately 1) had the greatest enhancing effect on extraction yield, while moderate increases in microwave power and irradiation time promoted the

release of the polygalacturonic network. The optimal conditions for maximum extraction yield were identified as 450 W, 4 min, and pH 1, resulting in a yield of $50.6 \pm 0.3\%$. In contrast, the highest degree of esterification (DE = 64.07%) was achieved at 470 W, 2 min, and pH 3, corresponding to the production of high-methoxyl pectin (HM-pectin). Moreover, the maximum galacturonic acid content (GalA = 92.16%) was obtained under conditions of 470 W, 3.78 min, and pH 2.98. Excessive microwave power or harsh acidification (pH < 2) led to degradation of polymer chains and a subsequent reduction in GalA purity.

Conclusion: Overall, the findings demonstrate that MAE, with appropriate control of process variables, can produce pectin with high yield, desirable purity, and tunable structural properties. Extraction under low pH and moderate power enhanced recovery while preserving the polygalacturonic backbone, whereas more moderate conditions with shorter irradiation favored retention of esterified groups and higher DE. Thus, MAE not only outperforms conventional extraction in terms of efficiency, but also offers environmental advantages by reducing energy and chemical consumption and enabling the targeted production of low-methoxyl (LMP) and high-methoxyl (HMP) pectins. These results provide a robust basis for the industrial development of green pectin extraction from citrus processing residues and the production of sustainable bio-based ingredients for food, pharmaceutical, and packaging applications.

Keywords: Microwave, Response Surface Methodology (RSM), Lime peel, Galacturonic acid, Degree of esterification, Extraction yield.

استخراج پکتین با مایکروویو: بهینه‌سازی سطح پاسخ توان، زمان و pH

سیده مظهره محسنی شکتائی^۱، سید مجید ذبیح‌زاده^{۲*}، مریم قربانی کوکنده^۳، قاسم اسدیپور^۴

- ۱- دانشجوی دکتری رشته صنایع سلولزی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران
 ۲- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه چوب و فرآورده‌های سلولزی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران، رایانامه: m.zabihzadch@sanru.ac.ir
 ۳- استاد، گروه چوب و فرآورده‌های سلولزی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.
 ۴- دانشیار، گروه چوب و فرآورده‌های سلولزی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: آبان ۱۴۰۴

چکیده

بیان مساله و اهداف: روند جهانی در بهره‌برداری پایدار از پسماندهای صنعتی-کشاورزی به‌طور فزاینده بر بازیابی ترکیبات زیست فعال با ارزش تجاری متمرکز شده است. در میان این ترکیبات، پکتین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین پلی‌ساکاریدها، کاربرد گسترده‌ای را در صنایع غذایی، دارویی و بسته‌بندی زیست‌پایه دارد. با وجود اهمیت زیاد پکتین، روش‌های متداول استخراج مانند استخراج با اسید داغ، با مصرف زیاد انرژی و حلال همراه بوده و غالباً موجب تخریب ساختار پلیمری پکتین و کاهش کیفیت محصول نهایی می‌شوند. بر این اساس، هدف از پژوهش حاضر توسعه و بهینه‌سازی یک فرایند سبز (دوست‌دار محیط‌زیست) برای استخراج پکتین از پوست لیموترش با استفاده از فناوری استخراج به کمک مایکروویو بود. برای این منظور، از روش سطح پاسخ و طرح باکس-بنکن به‌منظور بررسی اثر سه متغیر کلیدی شامل توان مایکروویو، زمان پرتودهی و pH بر بازده استخراج، درجه استری شدن و مقدار گالاتورونیک اسید استفاده شد تا شرایطی تعیین شود که حداکثر بازده و خلوص پکتین به دست آید.

مواد و روشها: آلبیدوی لیموترش تازه (پوست سفید) پس از خشک‌کردن در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، آسیاب و الک شد. استخراج پکتین در محلول سیتریک اسید با نسبت ثابت مایع به جامد ۱۵:۱ (حجمی/وزنی) انجام گرفت. متغیرهای مستقل شامل توان مایکروویو (۲۷۰ تا ۴۷۰ وات)، زمان پرتودهی (۲ تا ۴ دقیقه) و pH (۱ تا ۳) هرکدام در سه سطح تنظیم شدند. مطابق طرح باکس-بنکن، ۱۵ آزمایش انجام شد. بازده استخراج به روش توزین محاسبه شد، مقدار GalA با روش رنگ‌سنجی متاهیدروکسی‌دی‌فنیل در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و مقدار DE بر اساس تیتراژ سنجی اسیدی-قلیایی محاسبه گردید. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار Design Expert نسخه ۱۳ انجام گرفت و برای هر پاسخ، مدل چندجمله‌ای درجه دوم برازش داده شد.

نتایج: مدل‌های ریاضی استخراج‌شده برای هر سه پاسخ دارای ضریب تعیین زیاد بودند ($R^2Y=0/9990$ ، $R^2DE=0/9974$ و $R^2GalA=0/9994$) و آزمون عدم برازش در هیچ‌یک از پاسخ‌ها معنی‌دار نبود ($P<0/05$). بررسی سطح پاسخ نشان داد که کاهش pH تا محدوده اسیدی شدید (حدود ۱) بیشترین اثر فزاینده را بر بازده دارد و هم‌زمان افزایش توان و زمان تابش در محدوده متوسط موجب افزایش آزادسازی شبکه پلی‌گالاتورونیک شد. شرایط بهینه بازده استخراج در توان ۴۵۰ وات، زمان ۴ دقیقه و pH برابر با ۱ حاصل گردید که منجر به بازده $50\%/62/3 \pm$ شد. در مقابل، بیش‌ترین درجه استری‌شده ($DE=64/07\%$) در توان ۴۷۰ وات، زمان ۲ دقیقه و pH برابر با ۳ مشاهده شد که مربوط به تولید پکتین با متوکسیل بالا (HM-Pectin) است. همچنین، بیشینه مقدار گالاتورونیک اسید ($GalA=92/16\%$) تحت شرایط توان ۴۷۰ وات، زمان پرتودهی $3/78$ دقیقه و pH برابر با $2/98$ حاصل شد. افزایش بیش از حد توان یا کاهش شدید pH به کمتر از ۲ سبب تخریب زنجیره‌های پلیمری و افت خلوص GalA گردید.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که فناوری مایکروویو با کنترل مناسب متغیرهای فرایندی، قادر است پکتین با بازده زیاد، خلوص مطلوب و ویژگی‌های ساختاری قابل تنظیم تولید کند. استخراج در pH پایین و

توان متوسط، بازیابی پکتین را افزایش داده و به حفظ اسکلت پلی گالاکتورونیک کمک کرد؛ در حالی که شرایط معتدل تر با زمان پرتودهی کوتاه تر، حفظ گروه های استری و افزایش DE را تسهیل نمود. بنابراین، MAE نه تنها از نظر کارایی بر روش های متداول برتری دارد، بلکه از دیدگاه زیست محیطی نیز با کاهش مصرف انرژی و مواد شیمیایی، امکان تولید هدفمند پکتین های با متوکسیل کم (LMP) و متوکسیلیزاد (HMP) را فراهم می کند. این یافته ها می تواند مبنای توسعه صنعتی فرایندهای سبز استخراج پکتین از ضایعات صنایع مرکبات و تولید مواد زیست پایه پایدار در صنایع غذایی، دارویی و بسته بندی باشد.

واژه های کلیدی: مایکروویو، سطح پاسخ، پوست لیموترش، گالاکتورونیک اسید، درجه استری شده، بازده استخراج.

مقدمه

یکی از رویکردهای بنیادین در ارتقای کارایی تولید در صنایع مدرن، توسعه فناوری های کم ضایعات، بدون پسماند و بهره گیری گسترده تر از مواد اولیه ثانویه در چارچوب اقتصاد چرخشی است [۱]. با وجود پیشرفت های صنعتی، بخش قابل توجهی از پسماندها همچنان به صورت غیر بهینه دفع شده و تنها مقدار اندکی از آن ها بازیافت یا بازیابی می شود؛ موضوعی که پیامدهای محیط زیستی و بهداشتی گسترده ای به دنبال دارد [۲]. از میان منابع مختلف تولید پسماند، صنایع غذایی سهم چشمگیری در ایجاد ضایعات آلی دارند. استفاده ناکافی از محصولات جانبی این صنایع، افزون بر افزایش هزینه های مدیریت پسماند، موجب بروز آثار منفی قابل توجهی بر محیط زیست می شود [۳]. ضایعات میوه ها، به ویژه در مناطق شهری، یکی از مؤلفه های اصلی پسماندهای تجزیه پذیر هستند و دفع نامناسب آن ها به آلودگی محیط و انتشار بوی نامطبوع و گازهای گلخانه ای منجر می شود. مرکبات به عنوان یکی از محصولات فراوان کشاورزی جهان، سالانه بیش از ۱۱۵ میلیون تن تولید دارند؛ اما ۴۵ تا ۶۰ درصد وزن آن ها، شامل پوست و دانه، دور ریخته می شود که می تواند آثار مخربی بر محیط زیست به جای بگذارد [۴]. تفاله مرکبات نیز عمدتاً شامل ۰ تا ۱۰ درصد دانه، ۳۰ تا ۳۵ درصد بخش داخلی و ۶۰ تا ۶۵ درصد پوست است [۵].

لیموترش (*Citrus aurantifolia*) از مهم ترین گونه های مرکبات بوده و حدود ۳۰ درصد ساختار آن را پوسته سفید یا آلبیدو تشکیل می دهد [۶]. این لایه سفید و نسبتاً ضخیم، سرشار از ترکیبات ارزشمند بوده و در تولید فرآورده هایی همچون مارمالاد و آب نبات استفاده می شود. بهره گیری مناسب از این بخش، می تواند منبعی

مقرون به صرفه و کارآمد برای تولید محصولات با ارزش افزوده باشد [۳]. از آنجا که ضایعات کشاورزی و صنایع غذایی قابلیت استفاده مجدد با هزینه کم و آثار محیط زیستی محدود دارند، توسعه روش های کارآمد برای تبدیل این مواد به محصولات مفید، ضروری به نظر می رسد [۷]. یکی از ارزشمندترین ترکیبات موجود در ضایعات مرکبات، پکتین است؛ پلی ساکاریدی با کاربردهای گسترده در صنایع غذایی، دارویی، شیمیایی و بسته بندی [۳].

پکتین از واژه یونانی «Pektos» به معنای «ماده ژل شونده» گرفته شده و عمدتاً از ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ واحد دی گالاکتورونیک اسید تشکیل شده است که از طریق پیوندهای گلیکوزیدی 4→1- α به هم متصل اند [۸،۹]. این پلیمر طبیعی در لایه بین سلولی گیاه حضور داشته و نقش حیاتی در چسبندگی سلولی ایفا می کند [۳]. در حال حاضر، حدود ۸۵/۵ درصد پکتین تجاری از مرکبات، ۱۴ درصد از سیب و تنها ۰/۵ درصد از چغندر قند استخراج می شود [۵]. ویژگی هایی همچون ژل کنندگی، امولسیون کنندگی، پایداری مناسب و فعالیت های فیزیولوژیکی، پکتین را به ترکیبی کاربردی و ارزشمند تبدیل کرده است [۱]. ظرفیت آنتی اکسیدانی پکتین تقریباً ۴/۵ برابر صمغ زانتان، هیپرومولوز، سدیم آلزینات و کیتوزان گزارش شده است [۱۰]. بر اساس استانداردهای FAO و اتحادیه اروپا، پکتین باید حداقل ۶۵ درصد گالاکتورونیک اسید داشته باشد [۳]. میزان متوکسیل شدن (DM) که نسبت گروه های متیل دار واحدهای GalA را نشان می دهد، یکی از شاخص های اصلی تعیین کیفیت و نوع پکتین است [۱۱]. تفاوت در مقدار GalA، قندهای خنثی، DM و وزن مولکولی، کاربردهای صنعتی و دارویی پکتین را تعیین می کند [۱۲، ۳، ۱۴].

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه لیموترش

لیموترش (*Citrus aurantifolia* L.) از بازار شهر ساری، استان مازندران، ایران تهیه شد. میوه‌ها پیش از پوست‌گیری به‌طور کامل شست‌وشو داده شدند تا هرگونه آلودگی و ناخالصی سطحی برطرف شود. پس از جداسازی آلبيدو، برای حذف طعم تلخ ناشی از گلیکوزیدها، بخش‌های سفید به‌طور کامل با آب شست‌وشو شدند. تکه‌های آلبيدوی آماده‌شده به‌صورت یکنواخت برش داده شده و در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردیدند. برای تهیه نمونه پودری، آلبيدوهای خشک‌شده آسیاب و سپس از الک با مش شماره ۲۰ عبور داده شدند. پودر حاصل در کیسه‌های پلی‌اتیلنی و در یخچال تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شد [۳].

مواد شیمیایی و معرف‌ها

سیتریک اسید، سدیم هیدروکسید، هیدروکلریک اسید، سولفوریک اسید و معرف فنل‌فالتین از شرکت مرک تهیه شدند. متیل‌استر پلی‌دی‌گالاکتورونیک اسید، سدیم تتراهیدروبورات، سدیم آزید و متاهیدروکسی‌دی‌فنیل از شرکت سیگما-آلد ریچ خریداری شدند. همچنین اتانول ۹۸ درصد و اتانول ۹۶ درصد از شرکت مجلی (ایران) تأمین گردیدند.

طراحی سطح پاسخ و تجزیه‌وتحلیل آماری برای تعیین شرایط بهینه استخراج پکتین از پوست لیموترش، از روش سطح پاسخ با طرح Box-Behnken (BBD) شامل سه متغیر مستقل استفاده شد. در این مطالعه، زمان (X1)، pH (X2) و توان (X3) به‌عنوان متغیرهای مؤثر در استخراج به کمک امواج مایکروویو در نظر گرفته شدند. هر یک از این عوامل در سه سطح (۱-، ۰ و +۱) مورد بررسی قرار گرفتند و سه تکرار در نقطه‌ی مرکزی به‌منظور برآورد خطای آزمایشی و ارزیابی تکرارپذیری طرح انجام شد (جدول ۱). طرح-Box Behnken شامل ۱۵ آزمایش بود که از ۱۲ آزمایش فاکتوریل و سه تکرار در نقطه‌ی مرکزی تشکیل می‌شد. تمامی آزمایش‌ها به‌صورت تصادفی اجرا شدند تا احتمال

انتخاب روش استخراج مناسب برای دستیابی به پکتین باکیفیت مطلوب از اهمیت فراوانی برخوردار است. طی سال‌های اخیر، روش‌های نوین استخراج مانند استخراج کمک با امواج اولتراسوند (UAE)، استخراج با سیال فوق بحرانی (SFE) (SFE)، استخراج با کمک مایکروویو (MAE) و استخراج تسریع‌شده با حلال (ASE) به‌عنوان گزینه‌هایی کارآمد و سازگار با محیط‌زیست مطرح شده‌اند [۱۵]. استفاده از روش سنتی استخراج با اسید داغ، اگرچه رایج است، اما این روش منجر به بازده کم و مصرف انرژی زیادی می‌شود. در مقابل، استخراج به کمک مایکروویو با کاهش قابل ملاحظه زمان فرآیند، مصرف کمتر حلال، بازده بیشتر و حفظ ساختار پکتین، جایگزینی مؤثر برای روش‌های مرسوم محسوب می‌شود [۵]. این روش به دلیل کاهش تخریب ساختاری پکتین و کنترل دقیق پارامترهای فرآیند، گزینه‌ای سبز، تکرارپذیر و قابل‌انکا در استخراج ترکیبات زیست‌فعال است [۱۵]. توسعه فناوری‌های سبز استخراج پکتین، بیانگر حرکت صنعت به‌سوی فرآوری پایدارتر و کارآمدتر است [۱۷].

با وجود پژوهش‌های گسترده درباره پکتین، مطالعات اندکی به بررسی اثر هم‌زمان پارامترهای استخراج، از جمله pH، توان و مدت‌زمان مایکروویو بر بازده و ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی پکتین پرداخته‌اند. در این پژوهش، از روش سطح پاسخ (RSM) و طرح-Box Behnken برای مدل‌سازی اثر این عوامل در استخراج پکتین از پوست لیموترش با استفاده از امواج مایکروویو و اسید آلی استفاده شد. این رویکرد امکان تحلیل هم‌زمان بازده استخراج، مقدار گالاکتورونیک اسید (Gala) و درجه استری شدن (DE) را فراهم کرده و می‌تواند مسیر تولید هدفمند پکتین با متوکسیل پایین (LMP) و بالا (HMP) را هموار سازد. دستیابی به چنین مدلی نقش مهمی در بهینه‌سازی فرآیند، توسعه پروتکل‌های زیست‌سازگار و ارتقای قابلیت استفاده صنعتی پکتین استخراج‌شده خواهد داشت.

1 Ultrasound assisted extraction

2 Supercritical fluid extraction

3 Microwave assisted extraction

4 Accelerated solvent extraction

5 Response surface methodology

که در آن، X مقدار کدگذاری شده، X_i مقدار واقعی متغیر، X_0 مقدار واقعی در مرکز دامنه و ΔX بیانگر افزایش مقدار X_i متناظر با یک واحد تغییر در مقدار کدگذاری شده X است. مدل ریاضی مورد استفاده در طرح باکس-بنکن بر اساس رابطه ۲- تعریف می‌شود:

تأثیر عوامل ناخواسته و غیرقابل کنترل بر پاسخ‌های به‌دست‌آمده کاهش یابد و از ایجاد خطاهای سیستماتیک جلوگیری شود. متغیرهای پژوهش مطابق رابطه ۱- کدگذاری شدند:

$$X = \frac{X_i - X_0}{\Delta X} \quad (1)$$

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (2)$$

X ساخت کشور امریکا، بر اساس روش Hosseini و همکاران (۲۰۱۶) با اصلاحاتی جزئی انجام شد [۱۸]. برای این منظور، ۱۰ گرم از پودر خشک آلبدو با محلول آبی اسیدسیتریک در سه سطح pH (۱، ۲ و ۳) و با نسبت ثابت مایع به جامد ۱۵:۱ (وزنی/حجمی) مخلوط شد. سپس مخلوط‌های تهیه‌شده تحت فرآیند استخراج در سه توان مایکروویو (۲۷۰، ۳۷۰ و ۴۷۰ وات) و سه زمان مختلف (۲، ۳ و ۴ دقیقه) قرار گرفتند. پس از اتمام فرآیند، عصاره استخراج‌شده تا رسیدن به دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) سرد گردید. در مرحله بعد، ناخالصی‌های موجود از طریق سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها (۶۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۳۰ دقیقه) جدا شدند. محلول رویی به نسبت ۱:۱ با اتانول مطلق مخلوط و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد تا پکتین به صورت توده ژله‌ای در اتانول رسوب کند. پس از رسوب‌دهی، مخلوط مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. پکتین استخراجی برای حذف مونوساکاریدها و دی‌ساکاریدهای باقیمانده، سه مرتبه با اتانول ۹۶ درصد و با استفاده از کاغذ صافی و کیف بوخنر شست‌وشو داده شد. پکتین تر حاصل، در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید و سپس با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی پودر شد.

در این معادله، K بیانگر تعداد متغیرهای مستقل است و X_i و X_j متغیرهای مستقل مورد بررسی را نشان می‌دهند. β_0 ضریب ثابت، β_j و β_{jj} و β_{ij} به ترتیب بیانگر ضرایب مربوط به اثرات خطی، اثرات درجه دوم و اثرات متقابل متغیرها هستند. ضرایب رگرسیون برای مدل‌های خطی، درجه دوم و اثرات متقابل با استفاده از رگرسیون خطی چندگانه برآورد شدند. برای تحلیل رگرسیونی داده‌های تجربی، از نرم‌افزار Design Expert نسخه ۱۳ استفاده شد. آزمون t برای ارزیابی معنی‌داری آماری ضرایب رگرسیون و از آزمون F نیز به منظور بررسی برازش مدل درجه دوم با احتمال خطای ۰/۵ استفاده شد. کفایت مدل از طریق شاخص‌هایی همچون عدم برازش، ضریب تعیین (R^2)، دقت کافی و مقدار آزمون F حاصل از تحلیل واریانس (ANOVA) ارزیابی شد. پس از آن، از ضرایب رگرسیونی برای ترسیم سطوح پاسخ استفاده گردید و در نهایت، آزمایش‌های تأییدی برای اعتبارسنجی مدل آماری انجام شد. هر آزمایش مطابق طرح آزمایشی، با ۳ تکرار انجام شد و میانگین مقادیر حاصل به‌عنوان داده نهایی مورد تحلیل و گزارش قرار گرفت.

استخراج به کمک امواج مایکروویو (MAE)

استخراج پکتین از آلبدوهای خشک‌شده‌ی لیموترش با استفاده از دستگاه مایکروویو مایلستون مدل ETHOS

جدول ۱- سطوح و مقادیر متغیرهای مستقل در استخراج پکتین به کمک امواج مایکروویو

عوامل	پارامترهای مستقل	حدود متغیرها		
		حد پایین (-۱)	حد میانی (۰)	حد بالا (+۱)
A	توان (وات)	۲۷۰	۳۷۰	۴۷۰
B	زمان (دقیقه)	۲	۳	۴
C	pH	۱	۲	۳

تعیین بازده

بازده پکتین استخراج شده مطابق رابطه ۳- محاسبه شد:

$$\text{بازده} = \frac{\text{وزن خشک پکتین}}{\text{وزن پودر خشک آلبو}} \times 100 \quad (3)$$

آنالیز شیمیایی پکتین

تمامی اندازه‌گیری‌های مربوط به بازده، مقدار گالاکتورونیک اسید Gala و DE و بازده، برای هر نقطه طراحی آزمایش، در سه تکرار مستقل انجام شد و نتایج به صورت میانگین گزارش شده‌اند.

تعیین درجه استری شدن (DE)

تعیین درجه استری شده پکتین‌های استخراجی بر اساس روش تیتراسیون کلاسیک و مطابق با پروتکل اصلاح شده توسط Hosseini و همکاران (۲۰۱۶) انجام شد [۱۸]. بدین منظور، ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم پکتین خشک در ۲ میلی‌لیتر اتانول برای جلوگیری از چسبندگی ذرات پراکنده شد و سپس در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر بدون دی‌اکسیدکربن، در دمای کنترل شده ۴۰ درجه سانتی‌گراد، به‌طور کامل حل گردید. پس از اطمینان از انحلال کامل، پنج قطره فنل‌فتالین به محلول افزوده شد و نمونه با محلول سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار تا ظهور نخستین رنگ صورتی کم‌رنگ، تیتراژ گردید. حجم سود مصرفی در این مرحله به‌عنوان حجم خنثی‌سازی اسیدی (V₁) ثبت شد. در مرحله بعد، برای آزادسازی گروه‌های متوکسیل و انجام واکنش صابونی‌شدن، ۱۰ میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید ۰/۵ مولار به محلول افزوده شد و نمونه به مدت ۲۰ دقیقه هم‌زده شد. پس از پایان واکنش، ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید ۰/۵ مولار اضافه شد و هم‌زدن ادامه یافت تا رنگ صورتی محو شده و محیط

تعیین گالاکتورونیک اسید (Gala)

برآورد کمی گالاکتورونیک اسید نمونه‌های پکتین بر اساس روش رنگ‌سنجی مبتنی بر واکنش اختصاصی متاهیدروکسی‌دی‌فنیل و مطابق دستورالعمل Mosayebi و امام‌جمعه (۱۳۹۶) انجام شد [۱۹]. برای این منظور، یک میلی‌لیتر از محلول پکتین با غلظت ۰/۰۲ درصد وزنی/حجمی با ۶ میلی‌لیتر محلول تترابورات سدیم (۱۲/۵ میلی‌مولار) تهیه شده در اسید سولفوریک غلیظ (۹۵ تا ۹۸ درصد) مخلوط گردید. به‌منظور تکمیل واکنش، مخلوط حاصل به مدت ۶ دقیقه در حمام آب جوش با دمای کنترل شده ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس نمونه برای توقف سریع واکنش و پایدارسازی محصولات میانی، بلافاصله در حمام آب یخ سرد شد. در مرحله بعد، ۱۰۰ میکرولیتر از معرف متاهیدروکسی‌دی‌فنیل با غلظت ۰/۱۵ درصد وزنی/حجمی که در محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱۲۵ مولار حل شده بود، به نمونه افزوده شد. پس از گذشت ۱۵ دقیقه و تشکیل رنگ اختصاصی کمپلکس، جذب نوری نمونه در طول موج ۵۲۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر

داده‌های تجربی حاصل از اندازه‌گیری بازده استخراج، گالاکتورونیک اسید (Gala) و درجه استری‌شده (DE) پکتین به مدل‌های مختلف شامل مدل خطی، مدل اثرات متقابل (2FI)، مدل درجه دوم و مدل درجه سوم برازش شدند. سپس این مدل‌ها با استفاده از تجزیه و تحلیل رگرسیونی و تحلیل واریانس (ANOVA) ارزیابی گردیدند تا مناسب‌ترین مدل تجربی انتخاب شود. بر اساس خروجی نرم‌افزار Design Expert، مدل چندجمله‌ای درجه دوم به‌عنوان مدل مطلوب برای پیش‌بینی بازده، محتوای Gala و DE پکتین انتخاب شد. معنی‌داری آماری مدل‌های برگزیده و ضرایب رگرسیونی مربوطه با استفاده از آنالیز واریانس مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌طور کلی، هرچه مقدار F بزرگ‌تر و مقدار P کوچک‌تر باشد، مدل از نظر آماری معنی‌دارتر تلقی می‌شود. طراحی باکس-بنکن (جدول ۲) به‌منظور بهینه‌سازی شرایط استخراج و بررسی اثرات سه عامل اصلی مورد مطالعه بر مقادیر بازده، DE و Gala پکتین استخراج‌شده با روش MAE به‌کار گرفته شد. نتایج نشان داد که تغییرات در سطوح عوامل مستقل تأثیر قابل‌توجهی بر پاسخ‌های مورد بررسی دارد.

مجدداً اسیدی شود. سپس پنج قطره فنل‌فالتلین افزوده شد و تیترا دوم با سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار تا ایجاد رنگ صورتی پایدار انجام گرفت. حجم مصرفی سود در این مرحله به‌عنوان حجم صابونی‌شدن (V_2) ثبت شد. در نهایت، درجه استری‌شده (DE) پکتین بر اساس نسبت حجم سود مصرف‌شده در فرآیند صابونی‌شدن به مجموع حجم‌های سود به‌کاررفته در دو مرحله، مطابق رابطه-۴ و به‌صورت درصد محاسبه گردید:

$$DE (\%) = \frac{V_2}{V_1+V_2} \times 100 \quad (4)$$

نتایج و بحث

برازش مدل‌های ریاضی و ارزیابی آماری شرایط

استخراج

استخراج پکتین از پوست لیموترش با استفاده از امواج مایکروویو (MAE) بر اساس طراحی باکس-بنکن و با سه متغیر مستقل، مطابق داده‌های جدول ۲، مدل‌سازی شد. هر یک از متغیرهای مستقل در سه سطح شامل توان مایکروویو (۲۷۰، ۳۷۰ و ۴۷۰ وات)، زمان پرتودهی (۲، ۳ و ۴ دقیقه) و pH (۱، ۲ و ۳) مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول ۲- مقادیر تجربی و پیش‌بینی شده بازده، درجه استری شدن و محتوای گالاکتورونیک اسید پکتین استخراج‌شده بر اساس طراحی آزمایش باکس-بنکن.

شماره آزمایش	متغیرهای مستقل			پاسخ‌های تجربی			پاسخ‌های پیش‌بینی شده	
	A (توان مایکروویو)	B (زمان پرتودهی)	C (pH)	بازده (%)	استری شدن (%)	گالاکتورونیک اسید (%)	بازده (%)	استری شدن (%)
۱	۲۷۰	۳	۱	۳۲/۴۲	۱۲/۸۴	۳۱/۷۰	۴۰/۴۴	۱۲/۹۳
۲	۳۷۰	۳	۲	۷۲/۵۱	۱۷/۷	۷۲/۱۳	۲۷/۶۲	۱۷/۳۲
۳	۳۷۰	۳	۲	۷۱/۹۶	۱۷/۱۴	۷۲/۱۳	۲۷/۶۲	۱۷/۳۲
۴	۲۷۰	۲	۲	۷۰/۸۹	۲۲/۸۱	۷۱/۶۴	۲۰/۹۹	۲۰/۹۹
۵	۴۷۰	۲	۲	۳۷/۷	۲۰/۷۴	۷۳/۵۶	۲۴/۱۴	۲۱/۳۴
۶	۳۷۰	۲	۳	۹۲/۱۶	۶۲/۵	۹۱/۵۵	۹/۷۱	۶۲/۹۷
۷	۴۷۰	۳	۱	۴۲/۷۵	۱۸/۱	۴۲/۸۹	۴۸/۱۴	۱۶/۷۵
۸	۴۷۰	۴	۲	۷۲/۸۳	۱۰/۶۱	۷۲/۰۵	۳۲/۳۵	۱۲/۴۱
۹	۳۷۰	۲	۱	۳۷/۱۹	۱۶/۶۶	۳۷/۱۳	۴۰/۸۳	۱۷/۳۷
۱۰	۳۷۰	۴	۱	۴۵/۴۱	۱۳/۲۷	۴۵/۹۸	۴۹/۴۰	۱۲/۷۸
۱۱	۲۷۰	۴	۲	۷۴/۶۱	۲۱/۰۴	۷۴/۷۲	۲۳/۰۶	۲۰/۴۲
۱۲	۳۷۰	۳	۲	۷۱/۹۶	۱۷/۱۴	۷۲/۱۳	۲۷/۶۲	۱۷/۳۲
۱۳	۴۷۰	۳	۳	۷۶/۹۹	۵۶/۶۶	۷۷/۶۸	۱۲/۷۶	۵۵/۵۵
۱۴	۲۷۰	۳	۳	۸۹/۸	۶۴/۷	۸۹/۶۲	۷/۳۷	۶۶/۰۳
۱۵	۳۷۰	۴	۳	۸۴/۲۵	۵۸/۸	۸۴/۲۸	۱۲/۰۸	۵۸/۰۷

تجربی فراهم کرد و دقت و کارآمدی تحلیل آماری را افزایش داد.

به منظور مدل سازی آماری و پیش بینی پاسخ های کلیدی فرآیند شامل بازده استخراج، درجه استری شده و محتوای گالاکتورونیک اسید، مدل های رگرسیون چندجمله ای درجه دوم برازش داده شدند. این مدل ها، که نشان دهنده روابط مستقیم و غیرمستقیم میان متغیرهای مستقل کدگذاری شده شامل توان میکروویو (توان میکروویو:XA)، زمان پرتو دهی (زمان پرتو دهی:XB) و pH (XC) و پاسخ های مورد بررسی هستند، به صورت زیر ارائه می شوند:

$$Y \quad (\%) \quad = +16.35879 + 0.131832XA + 6.23050XB - 15.51667XC + 0.013725XAXB - 0.005750XAXC - 1.55000XBXC - 0.000174XA^2 - 0.912083XB^2 + 1.29542XC^2 \quad (\delta)$$

$$DE \quad (\%) \quad = +34.65234 + 0.045689XA + 1.89675XB - 44.25292XC - 0.020900XAXB - 0.033250XAXC - 0.077500XBXC + 0.000087XA^2 + 0.602917XB^2 + 19.87792XC^2 \quad (\epsilon)$$

$$GalA \quad (\%) \quad = -94.47805 - 0.274051XA - 2.67425XB + 96.49742XC - 0.011475XAXB - 0.057850XAXC - 4.03250XBXC - 0.000170XA^2 + 2.56333XB^2 - 9.95417XC^2 \quad (\gamma)$$

GalA برابر با ۰/۹۹۹۴ برآورد شد. این نتایج نشان می دهند که مدل های برازش یافته به ترتیب ۰/۹۹/۹۰، ۰/۹۹/۷۴ و ۰/۹۹/۹۴ درصد از تغییرات کل داده های تجربی را توضیح می دهند و تنها بخش بسیار اندکی از واریانس (۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۶ درصد) به عوامل غیر قابل توضیح یا خطای مدل نسبت داده می شود (Wai و همکاران، ۲۰۱۰). علاوه بر این، مقادیر ضریب تعیین تعدیل شده (Adjusted R2) برای مدل بازده برابر با ۰/۹۹۷۲، برای مدل DE معادل ۰/۹۹۲۷ و برای مدل GalA برابر با ۰/۹۹۸۲ گزارش شد. این مقادیر بیانگر معنی داری بسیار بالا و کفایت آماری قابل توجه مدل های رگرسیونی در تبیین روند داده ها هستند [۲۰].

به طور کلی، نتایج حاصل نشان می دهد که برازش مدل های سطح پاسخ درجه دوم با استفاده از طراحی باکس-بنکن بر داده های تجربی استخراج پکتین از پوست لیموترش از اعتبار بسیار زیاد و توان پیش بینی قابل توجهی برخوردار است. این مدل ها می توانند به عنوان مبنایی معتبر برای تحلیل های کیفی و کمی فرایند استخراج مورد استفاده قرار گیرند و نقش مؤثری در بهینه سازی شرایط فرآیندی ایفا کنند.

به منظور ارزیابی اثر توان اعمال شده ی میکروویو، زمان پرتو دهی و مقدار pH بر بازده استخراج، درجه استری شده (DE) و محتوای گالاکتورونیک اسید (GalA) پکتین استخراج شده از پوست لیموترش، از طراحی فاکتوریل باکس-بنکن نوع ۳۳ استفاده شد. این رویکرد آزمایشی امکان تحلیل هم زمان سه متغیر مستقل و بررسی اثرات اصلی و متقابل آن ها را فراهم می سازد، در حالی که تعداد آزمایش های مورد نیاز نسبت به طرح های فاکتوریل کامل به طور قابل توجهی کاهش می یابد. به کارگیری این روش، زمینه را برای برازش مدل های ریاضی معنادار بر داده های

در مدل های آماری ارائه شده، هر یک از متغیرهای مستقل به صورت کدگذاری شده در نظر گرفته شدند؛ به طوری که XA نمایانگر توان میکروویو، XB معرف زمان پرتو دهی و XC بیانگر مقدار pH در فرآیند استخراج بود. جدول ۳ نتایج حاصل از برازش مدل های رگرسیونی درجه دوم مبتنی بر روش سطح پاسخ، در قالب تحلیل واریانس (ANOVA) را نشان می دهد.

بر اساس نتایج آماری، مقادیر p مربوط به مدل های برازش یافته برای بازده استخراج، درجه استری شده و محتوای گالاکتورونیک اسید به طور معناداری کمتر از ۰/۰۰۰۱ گزارش شد. این مقادیر بیانگر معنی داری بسیار بالای مدل ها و اعتبار آن ها در تبیین تغییرات پاسخ ها تحت شرایط آزمایشگاهی (P < ۰/۰۰۰۱) است. همچنین، آزمون عدم برازش برای سه پاسخ بازده، DE و GalA به ترتیب با مقادیر P = ۰/۰۶۳۲، P = ۰/۰۵۰۸ و P = ۰/۰۹۴۵ به دست آمد که نشان می دهد عدم تطابق مدل با داده های تجربی از نظر آماری معنی دار نیست؛ بنابراین مدل ها از کفایت لازم برای پیش بینی دقیق پاسخ ها برخوردارند. مقادیر ضریب تعیین (R2) برای مدل بازده استخراج ۰/۹۹۹۰، برای مدل DE معادل ۰/۹۹۷۴ و برای مدل

جدول ۳- تحلیل واریانس (ANOVA) مربوط به بازده استخراج، درجه استری شدن (DE) و محتوای گالاکتورونیک اسید (GalA) پکتین

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	ارزش F	ارزش P
(الف) بازده					
رگرسیون	۲۵۲۹/۶۱	۹	۲۸۱/۰۷	۵۶۱/۲۳	<۰/۰۰۰۱
خطی	۲۴۸۹/۵۲	۳	۸۲۹/۸۴	۲۱۴/۳۱	<۰/۰۰۰۱
درجه ۲	۲۱/۶۲	۳	۷/۲۱	۱۴/۳۹	۰/۰۰۱۸
باقیمانده	۲/۵۰	۵	۰/۵۰۰۸		
برازش داده	۲/۴۰	۳	۰/۷۹۹۱	۱۴/۹۸	۰/۰۶۳۲
خطای خالص	۰/۱۰۶۷	۲	۰/۰۵۳۳		
مجموع مربعات کل	۲۵۳۲/۱۱	۱۴			
R2	۰/۹۹۹۰				
Adj. R2	۰/۹۹۷۲				
Pred. R2	۰/۹۸۴۸				
(ب) استری شدن					
رگرسیون	۵۷۳۰/۳۸	۹	۶۳۶/۷۱	۲۱۱/۹۰	<۰/۰۰۰۱
خطی	۴۲۰۵/۲۱	۳	۱۴۰۱/۷۴	۱۰/۰۱	۰/۰۰۱۸
درجه ۲	۱۴۶۳/۴۴	۳	۴۸۷/۸۱	۱۶۲/۳۵	<۰/۰۰۰۱
باقیمانده	۱۵/۰۲	۵	۳/۰۰		
برازش داده	۱۴/۸۱	۳	۴/۹۴	۴۷/۲۴	۰/۰۵۰۸
خطای خالص	۰/۲۰۹۱	۲	۰/۱۰۴۵		
مجموع مربعات کل	۵۷۴۵/۴۰	۱۴			
R2	۰/۹۹۷۴				
Adj. R2	۰/۹۹۲۷				
Pred. R2	۰/۹۵۸۷				
(ج) گالاکتورونیک اسید					
رگرسیون	۴۹۱۵/۸۶	۹	۵۴۶/۲۱	۲۱۱/۹۰	<۰/۰۰۰۱
خطی	۴۱۵/۰۸	۶	۶۹/۱۸	۶۸۶/۰۹	۰/۰۰۱۵
درجه ۲	۲/۹۵	۳	۰/۹۸۲۰	۹/۷۴	۰/۰۹۴۵
باقیمانده	۳/۱۵	۵	۰/۶۲۹۵		
برازش داده	۲/۹۵	۳	۰/۹۸۲۰	۹/۷۴	۰/۰۹۴۵
خطای خالص	۲۰/۱۷	۲	۰/۱۰۰۸		
مجموع مربعات کل	۴۹۱۹/۰۱	۱۴			
R2	۰/۹۹۹۴				
Adj. R2	۰/۹۹۸۲				
Pred. R2	۰/۹۹۰۳				

شرایط استخراج بهینه پکتین

بازده استخراج پکتین از پوست لیموترش بر اساس داده‌های جدول ۲، در محدوده ۷/۸ تا ۴۹/۷ درصد وزنی قرار گرفت و این مقدار به‌طور معناداری تحت تأثیر سه پارامتر اصلی شامل زمان پرتودهی، توان مایکروویو و pH محیط بود (شکل ۱؛ بخش‌های الف، ب و ج). در میان متغیرهای مورد بررسی، pH محیط بیشترین تأثیر را بر

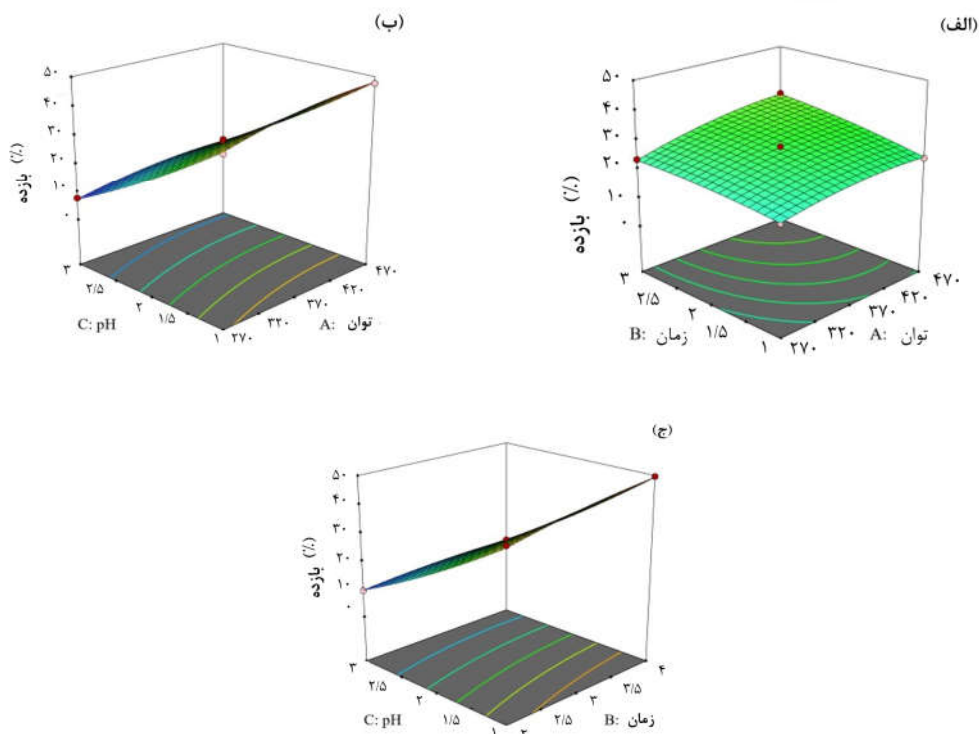
بازده استخراج داشت. داده‌های تجربی (مطابق شکل‌های اب و ج) نشان داد که کاهش pH و حرکت به سمت محیط اسیدی‌تر، موجب افزایش قابل توجه بازده استخراج می‌شود. این رفتار ناشی از توان زیاد محیط اسیدی در شکستن پیوندهای ساختاری و تسریع هیدرولیز پکتین‌های نامحلول به شکل‌های محلول است؛ فرآیندی که در نهایت میزان استخراج‌پذیری پکتین را از منابع

تسریع آزادسازی ترکیبات محلول می‌شود. این پدیده عمدتاً ناشی از لزوم ایجاد فرصت کافی برای تماس مؤثر حلال با بافت گیاهی و انتقال تدریجی اجزاء پکتینی به فاز مایع است [۲۶]. Costa و همکاران (۲۰۲۵) گزارش کردند که بازده استخراج پکتین از قفاله سیب در روش مایکروویو طی تنها ۵ دقیقه به $0.10/6 \pm 0.13$ رسید، در حالی که در روش حرارتی متعارف پس از ۲ ساعت بازده $0.9/5 \pm 0.13$ حاصل شد که نشان دهنده کارایی بیشتر MAE در زمان کوتاه‌تر است [۲۷]. بر اساس مطالعه Turan و همکاران (۲۰۲۳)، بازده استخراج پکتین از پوست پرتقال در شرایط استخراج به کمک مایکروویو و استفاده از حلال‌های عمیق طبیعی (MW-DES) برابر ۴۶٪ بوده است. در همان تحقیق، بازده روش اسیدی سنتی ۴۰٪ گزارش شد که نشان‌دهنده افزایش محسوس بازده در روش MW-DES است [۲۸].

گیاهی افزایش می‌دهد [۲۱-۲۲]. بنابراین انتخاب pH بهینه، از مهم‌ترین پارامترها در طراحی فرآیند استخراج محسوب می‌شود.

توان مایکروویو نیز در افزایش کارایی استخراج نقش داشت؛ به‌گونه‌ای که با افزایش توان از ۲۷۰ به ۴۷۰ وات، بازده استخراج با شیب ملایمی افزایش یافت (شکل‌های الف و ب). این روند را می‌توان به تأثیر انرژی پرتودهی مایکروویو در افزایش نفوذ حلال در ماتریس گیاهی، توزیع سریع انرژی بین حلال و ماده جامد و تسریع فرآیند جداسازی اجزای محلول نسبت داد [۲۳].

زمان پرتودهی نیز یکی از عوامل مؤثر بر بازده استخراج پکتین بود. نتایج نشان داد که افزایش زمان پرتودهی، موجب بهبود بازده استخراج می‌شود (شکل‌های ب و ج). مطابق گزارش‌های پیشین [۲۴-۲۵]، افزایش مدت تماس نمونه با امواج مایکروویو باعث فراهم‌شدن زمان کافی برای نفوذ حلال، تسهیل انحلال پکتین و



شکل ۱- اثر توان مایکروویو، زمان تابش و pH بر بازده استخراج پکتین (بخش‌های الف، ب و ج) از پوست لیموترش

اساس تحلیل مدل سطح پاسخ، شرایط بهینه استخراج شامل زمان تابش ۴ دقیقه، توان مایکروویو ۴۵۰ وات و pH برابر با ۱ تعیین گردید. تحت این شرایط، بیشترین بازده استخراج پکتین از پوست لیموترش برابر با $50/64$

بهینه‌سازی بازده استخراج با مایکروویو

با توجه به نتایج و مباحث ارائه‌شده در بخش‌های پیشین، تعیین شرایط بهینه برای دستیابی به بیشترین بازده استخراج پکتین از پوست لیموترش ضروری بود. بر

امر با مکانیسم هیدرولیز گروه‌های متوکسیل در شرایط اسیدی و دمای بالا مطابقت دارد. پکتین با DE متفاوت، کاربردهای عملکردی متفاوتی نیز دارد؛ بنابراین پکتین حاصل از این فرآیند می‌تواند هم در تولید محصولات کم‌قند مانند ژله‌ها و مرباهای کم‌کالری [۳۱] و هم در تولید فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی، به‌واسطه حضور گروه‌های متوکسیل آزاد، مورد استفاده قرار گیرد. مطابق با نتایج Hosseini و همکاران (۲۰۱۶) و Yapo و همکاران (۲۰۰۸)، DE با کاهش pH کاهش می‌یابد. این پژوهشگران گزارش کردند که شرایط استخراج شدید نظیر اسیدیته بالا، دمای زیاد و زمان طولانی، موجب تشدید فرآیند استرزدایی زنجیره پلی‌گالاکتورونیک اسید شده و در نتیجه مقدار DE را کاهش می‌دهد [۳۲-۱۸]. Turan و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که مقدار DE برای پکتین استخراج‌شده به روش MW-DES برابر ۸۵/۶٪ و برای روش اسیدی ۷۴/۴٪ بوده است و پکتین حاصل از MW-DES در گروه پکتین‌های با درجه استری بالا (HM) قرار گرفت.

همان‌گونه که در شکل‌های ۲الف و ۲ب مشاهده می‌شود، مقدار DE با افزایش توان مایکروویو به‌طور تدریجی افزایش یافته است. در توان‌های بالاتر، افزایش دمای محلول پکتین موجب بهبود نفوذ حلال و افزایش سرعت انتشار ترکیبات در محیط استخراج می‌شود. بنابراین اثر ترکیبی زمان و توان اهمیت دارد؛ به‌طوری‌که در توان‌های بالاتر، دستیابی به DE نسبتاً زیاد نیازمند زمان کوتاه‌تری است و بالعکس [۳۳]. برخی پژوهشگران پیشنهاد کرده‌اند که استفاده از توان پایین مایکروویو در کنار زمان طولانی‌تر، برای حفظ خلوص پکتین مناسب‌تر است [۳۳-۳۴-۳۵]. در مقابل، گروهی دیگر بر این باورند که توان زیاد همراه با زمان تابش کوتاه، راهکار سریع‌تر و کارآمدتری برای استخراج پکتین محسوب می‌شود [۳۸-۳۷-۳۶-۱۸]. افزایش توان مایکروویو با افزایش تحرک مولکولی در ماتریس گیاهی و افزایش گرادیان انتقال جرم، موجب آزاد شدن سریع‌تر مولکول‌ها و بهبود بازده استخراج می‌شود؛ با این حال، شدت بالای توان و دمای زیاد آن می‌تواند سرعت هیدرولیز گروه‌های استری را افزایش داده و در نتیجه DE را کاهش دهد [۱۸]. به‌طور کلی، پکتین‌های حاصل از شرایط بسیار شدید (توان بالا، زمان طولانی و pH بسیار کم) دارای مقادیر DE کمتری

درصد به دست آمد. این مقدار در سه تکرار آزمایشی به‌طور مستقل اندازه‌گیری شد و میانگین مقادیر تجربی ($50/60 \pm 0/3$ درصد)، صحت، قابلیت اعتماد و تکرارپذیری شرایط بهینه استخراج را تأیید کرد.

اثر شرایط استخراج بر درجه استری‌شده (DE)

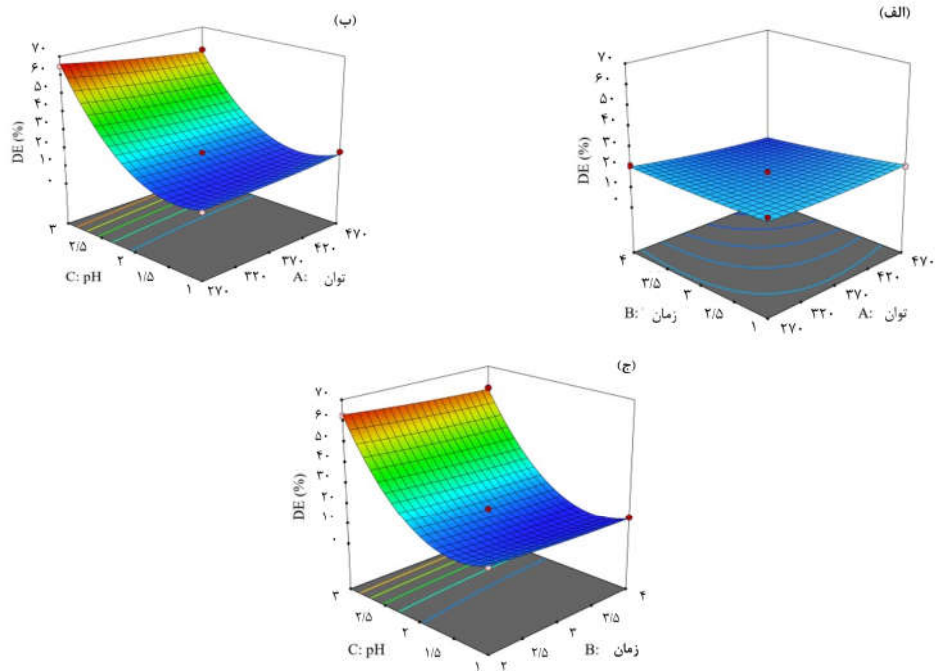
پکتین

درجه استری‌شده (DE) از مهم‌ترین ویژگی‌های ساختاری پکتین است و نقش تعیین‌کننده در کاربردهای صنعتی، به‌ویژه در صنایع غذایی دارد؛ زیرا این ویژگی به‌طور مستقیم با رفتار ژل‌کنندگی، قدرت امولسیون‌کنندگی و قابلیت ایجاد بافت مرتبط است [۲۹-۳۰]. در روش استخراج به کمک امواج مایکروویو، مقدار DE تحت تأثیر شرایط فرآیندی قرار می‌گیرد، زیرا گروه‌های استری در محیط‌های بسیار اسیدی، دماهای زیاد و زمان‌های طولانی، دچار هیدرولیز شده و از ساختار پکتین جدا می‌شوند. از این‌رو، بررسی اثر متغیرهای استخراج بر DE و شناخت مکانیسم‌های مؤثر بر آن، برای طراحی فرآیندهایی که منجر به تولید پکتین با ویژگی‌های عملکردی مطلوب شوند، ضروری است.

جدول ۲ مقادیر تجربی و پیش‌بینی‌شده DE و جدول ۳ نتایج تحلیل واریانس (ANOVA) مرتبط رانشان می‌دهند. همچنین روابط میان توان مایکروویو، زمان تابش و pH و تغییرات DE در پکتین استخراج‌شده از پوست لیموترش در شکل ۲ (بخش‌های الف، ب و ج) ترسیم شده‌اند. بر اساس جدول ۲، مقدار DE پکتین‌های استخراجی در محدوده ۱۰/۶۱ تا ۶۲/۵ درصد قرار داشت. نمونه‌های حاصل از شرایط بهینه بازده (زمان تابش ۳ دقیقه، توان ۴۵۰ وات و $pH=1$) دارای DE برابر با $16/5 \pm 0/2$ درصد بودند؛ مقدار نسبتاً کم نشان می‌دهد پکتین استخراج‌شده تحت این شرایط، در گروه پکتین‌های با درجه استری‌شده کم قرار گرفته و برای کاربردهایی مناسب است که بازده استخراج در آن‌ها اهمیت بالایی دارد. این یافته همچنین نشان می‌دهد که رابطه مستقیمی میان بازده استخراج و مقدار DE وجود ندارد. نتایج نشان داد که مقدار DE با افزایش زمان تابش و توان مایکروویو و با کاهش pH، کاهش می‌یابد. به‌طور کلی، پکتین استخراج‌شده تحت شرایط فرآیندی شدید (توان بالا، زمان طولانی و pH کم)، دارای DE کمتری است. این

هستند، زیرا این شرایط منجر به تشدید فرآیند استرزدایی

زنجیره‌های پکتین می‌شود [۳۹].



شکل ۲- اثر توان میکروویو، زمان تابش و pH بر DE استخراج پکتین استخراج شده از پوست لیمو ترش (بخش‌های الف، ب و ج)

را تأیید کرد؛ به طوری که مقادیر تجربی DE دارای انحراف کمتر از ۲ درصد نسبت به مقادیر پیش‌بینی شده بودند. این امر بیانگر کفایت مدل رگرسیونی و توان آن در توصیف رفتار واقعی سیستم است. این نتایج نشان می‌دهد که افزایش توان میکروویو تا حد بهینه و کنترل دقیق زمان تابش، می‌تواند فرایند بازآرایی و تثبیت پیوندهای استری را در ماتریس پکتین تسریع کند، در حالی که حفظ pH مناسب مانع از تخریب حرارتی یا شیمیایی زنجیره‌های پلیمری می‌شود. از این رو، شرایط استخراج بهینه شده می‌تواند به تولید پکتینی با درجه متوکسیل بالا و خواص ژل‌دهی مطلوب منجر شود؛ ویژگی‌هایی که آن را برای کاربردهای صنعتی در صنایع غذایی و دارویی به گزینه‌ای مناسب و ارزشمند تبدیل می‌کند.

اثر شرایط استخراج بر مقدار گالاکتورونیک

اسید

پکتین‌ها به طور طبیعی دارای مقادیر زیادی از گالاکتورونیک اسید هستند و بر اساس استانداردهای سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) و اتحادیه اروپا (EU)، یک ترکیب برای آن که تحت عنوان «پکتین»

بهینه‌سازی درجه استری شدن پکتین

بر اساس تحلیل مدل سطح پاسخ، شرایط بهینه برای دستیابی به بیشترین درجه استری شده پکتین استخراج شده از پوست لیموترش شامل توان میکروویو ۴۷۰ وات، زمان تابش ۲ دقیقه و pH برابر با ۳ تعیین شد. این ترکیب شرایط، تعادلی مناسب میان شدت انرژی میکروویو، واکنش‌پذیری محیط استخراج و پایداری ساختار پکتین ایجاد کرده و باعث افزایش قابل توجه نسبت گروه‌های متوکسیل به گروه‌های کربوکسیل آزاد در زنجیره پکتینی شد. توان نسبتاً بالا موجب تسریع انتقال حرارت و تحریک قطب‌های مولکولی گردید و در مدت کوتاه، امکان حفظ ساختار اصلی پکتین همراه با افزایش گروه‌های استری را فراهم کرد. علاوه بر این، محیط با pH اسیدی ملایم (حدود ۳) از وقوع استرزدایی شدید جلوگیری کرده و با حفظ گروه‌های متیل‌استر، افزایش درجه استری شده را تسهیل نمود.

در این نقطه بهینه، مقدار DE پکتین برابر با ۶۴/۰۷ درصد حاصل شد که در محدوده پکتین‌های با درجه متوکسیل زیاد (HMP) قرار می‌گیرد. ارزیابی تجربی انجام شده در شرایط مشابه، صحت مدل پیش‌بینی‌کننده

خلوص پکتین باشد و در همین راستا، نتایج این پژوهش نیز کاهش خلوص پکتین در pHهای کم را نشان می‌دهد. شکل‌های ۳ و ۳ج همچنین نشان می‌دهند که در مقادیر پایین pH (کمتر از ۲)، محتوای Gala کاهش می‌یابد. بنابراین، اثر متقابل میان توان مایکروویو و pH همچنین اثر متقابل زمان استخراج و pH از نظر آماری تأثیر معنی‌داری بر محتوای Gala دارند. Liu و همکاران (۲۰۱۰) نیز کاهش Gala را در پوست درخت توت با افزایش غلظت اسید گزارش کردند و این کاهش را ناشی از افزایش توانایی هیدرولیز اسید و استخراج بیشتر گلیکان‌های غیرپکتیکی دانستند که به‌طور غیرمستقیم موجب کاهش مقدار گالاکتورونیک اسید می‌شود [۴۲]. با این حال، Ma و همکاران (۲۰۱۳) نتایج متفاوتی را گزارش کردند [۲۲] و Oliveira (۲۰۱۶) نیز عنوان نمود که بخش زیادی از گالاکتورونیک اسید در شرایط اسیدی آزاد یا تخریب می‌شود و تغییرات شرایط استخراج می‌تواند نتایج متضادی ایجاد کند [۴۳]. Hosseini و همکاران (۲۰۱۶) نیز شرایط بهینه برای استخراج پکتین از پوست پرتقال را شامل توان ۷۰۰ وات، زمان ۱۸۰ ثانیه و pH برابر با ۱/۵ گزارش کردند [۱۸]. Lefsih و همکاران (۲۰۱۷) نیز بیان کردند که محدوده pH بین ۱/۵ تا ۳ تأثیر معنی‌داری بر محتوای Gala پکتین استخراج‌شده از کاکتوس انجیری ندارد [۴۲]. در مطالعه Turan و همکاران (۲۰۲۳) مقدار گالاکتورونیک اسید (Gala) برای پکتین استخراج‌شده از پوست پرتقال به روش مایکروویو با حلال عمیق طبیعی (MW-DES) حدود ۵۷/۲٪ و برای روش اسیدی سنتی حدود ۶۰/۵٪ گزارش شده است. در حالی که مقدار Gala در پکتین تجاری حدود ۷۴/۶٪ بوده است.

علاوه بر این، افزایش زمان تابش (مطابق شکل‌های ۳الف و ۳ب) نیز سبب افزایش Gala در پکتین استخراج‌شده از پوست لیموترش شد. این افزایش را می‌توان ناشی از نفوذ بهتر امواج مایکروویو در ماتریس گیاهی و افزایش سرعت فرآیند آزادسازی اجزاء پکتینی دانست. گزارش‌های مشابهی در خصوص استخراج پکتین از پوست لیمو شیرین تحت شرایط بهینه (توان ۷۰۰ وات، pH برابر ۱/۵ و زمان تابش ۱۸۰ ثانیه) موجود است که پکتین استخراجی را در گروه پکتین‌های با درجه خلوص بالا طبقه‌بندی کرده‌اند [۱۸]. Costa و همکاران (۲۰۲۵)

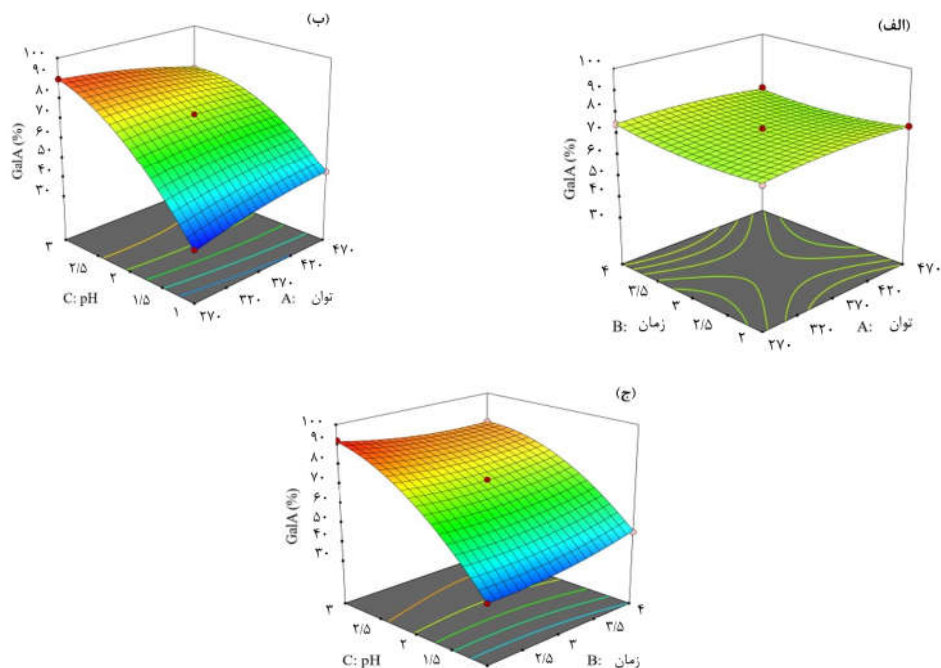
طبقه‌بندی شود باید حداقل ۶۵ درصد گالاکتورونیک اسید داشته باشد [۴۰]. شکل ۳ (بخش‌های الف، ب و ج)، اثر شرایط مختلف استخراج بر محتوای گالاکتورونیک اسید پکتین استخراج‌شده به روش امواج مایکروویو از پوست لیموترش و جدول ۳ نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) را نشان می‌دهند.

بر اساس داده‌های جدول ۲، بیشترین مقدار Gala در شرایطی به دست آمد که ترکیب بهینه توان مایکروویو ۳۷۰ وات، pH معادل ۳ و زمان تابش ۲ دقیقه اعمال شده بود. در این شرایط، میزان گالاکتورونیک اسید به ۹۲/۱۶ درصد رسید. در مقابل، کمترین مقدار Gala (۳۲/۴۲ درصد) در شرایط توان ۲۷۰ وات، pH برابر با ۱ و زمان تابش ۳ دقیقه مشاهده شد. مقادیر به‌دست‌آمده در این پژوهش مشابه با مقادیر گزارش‌شده برای پکتین استخراجی از پوست لیمو و پکتین چغندر قند توسط Hosseini و همکاران (۲۰۱۵) و Ma و همکاران (۲۰۱۳) بوده است [۱۸-۲۲].

همان‌گونه که در شکل‌های ۳الف و ۳ب مشاهده می‌شود، افزایش توان مایکروویو و افزایش زمان تابش سبب افزایش قابل‌توجه محتوای Gala می‌شود. نتایج مشابهی در مطالعات استخراج پکتین از پوست پرتقال، پوست لیمو و کدو تنبل نیز گزارش شده است. این مطالعات نشان داده‌اند که گرمایش مایکروویو روشی مؤثر برای استخراج پکتین با حداقل افت کیفیت است. توان بالای مایکروویو می‌تواند محتوای گالاکتورونیک اسید را افزایش دهد، اما گرمایش طولانی‌مدت سبب تخریب حرارتی Gala و کاهش محتوای آن خواهد شد. Wai و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که بازده استخراج لزوماً نشان‌دهنده خلوص یا محتوای پلی‌ساکاریدی نیست، زیرا بازده‌های بالاتر ممکن است ناشی از رسوب هم‌زمان ناخالصی‌ها در هنگام اضافه کردن الکل یا باقی‌ماندن مقادیر بیشتر سیتریک اسید باشد که در نهایت منجر به خلوص پایین‌تر پکتین می‌شود [۳۱]. Kurita و همکاران (۲۰۰۸) نیز اشاره کردند که سیتریک اسید قادر است نواحی خطی هموگالاکتورونان را تخریب کرده و تشدید تجزیه این نواحی سبب کاهش محتوای Gala می‌شود [۴۱]. این یافته‌ها تأیید می‌کند که باقی‌ماندن سیتریک اسید در پکتین استخراجی می‌تواند یکی از عوامل مؤثر بر کاهش

مطالعه، پکتین لیموترش به دلیل درصد بالای گالاکتورونیک، پتانسیل بالایی برای کاربرد در تولید فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر و سامانه‌های بسته‌بندی خوراکی دارد.

گزارش کردند که مقدار GA پکتین استخراج‌شده از تفاله سیب در محدوده ۶۴/۷ درصد تا ۷۰/۲ درصد قرار دارد. تفاوت چشمگیر بین این دو منبع می‌تواند ناشی از نوع ماده خام و شرایط استخراج باشد. بر اساس نتایج این



شکل ۳- اثر توان مایکروویو، زمان تابش و pH بر محتوای گالاکتورونیک اسید (GalA) پکتین استخراج‌شده از پوست لیموترش (بخش‌های الف، ب و ج)

به ساختار اصلی پکتین فراهم می‌سازد. مقایسه مقادیر پیش‌بینی‌شده با داده‌های تجربی نشان داد که اختلاف میان این دو کمتر از یک درصد بوده و این امر دقت مدل آماری و صحت شرایط استخراج بهینه را تأیید می‌کند. این یافته‌ها بیانگر آن است که بیشینه خلوص پکتین لزوماً با بیشترین بازده استخراج هم‌زمان نیست و به جای آن، نتیجه تعادلی دقیق میان شدت انرژی، مدت زمان هیدرولیز و شرایط اسیدی محیط است. بنابراین، شرایط فوق به‌عنوان بهترین الگوی فرآیندی برای تولید پکتین باکیفیت شیمیایی برتر و حداکثر مقدار گالاکتورونیک اسید معرفی می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که استخراج پکتین از پوست لیموترش با بهره‌گیری از فناوری استخراج به کمک مایکروویو، رویکردی سبز، سریع و کارآمد برای بازیابی

بهینه‌سازی مقدار گالاکتورونیک اسید استخراج‌شده با مایکروویو

بر اساس نتایج حاصل از مدل‌سازی سطح پاسخ، شرایط بهینه استخراج از نظر مقدار گالاکتورونیک اسید شامل توان مایکروویو ۴۷۰ وات، زمان تابش ۳/۷۸ دقیقه و pH برابر با ۲/۹۸ تعیین شد. این ترکیب عوامل موجب بیشترین آزادسازی واحدهای گالاکتورونیک اسید از ماتریس سلولی پوست لیموترش گردید و در نتیجه، بالاترین خلوص پکتین استخراجی به دست آمد. در این شرایط، شدت میدان مایکروویو برای گسستن مؤثر پیوندهای گلیکوزیدی و افزایش نفوذ حرارتی در دیواره سلولی کافی بوده و مدت زمان تابش نیز به اندازه‌ای است که بدون ایجاد تخریب حرارتی، فرآیند استخراج بهینه شود. از سوی دیگر، مقدار pH نزدیک به ۳ هیدرولیز کنترل‌شده پیوندهای استری را تسهیل کرده و امکان آزادسازی کارآمد گروه‌های کربوکسیل را بدون آسیب‌زدن

- Technology, 24(5), 117–130. <https://doi.org/10.12912/27197050/163762>.
- [2] Durán-Aranguren D.D., Ramírez C.J., Díaz L., Valderrama M.A and Sierra, R., 2022. Pectins the New-Old Polysaccharides: Production of Pectin from Citrus Residues: Process Alternatives and Insights on Its Integration under the Biorefinery Concept. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.100153>.
- [3] Pei, Ch., Hsien, T, Sh., Hsuan, F, Sh., Hsuan, H, L., Chi, Ch. and Yi, M, L., 2024. Microwave- and Ultrasound Assisted Extraction of Pectin Yield and Physicochemical Properties from Lemon Peel. *Journal of Agriculture and Food Research*, <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101009>.
- [4] Gharibzahedi, S.M., Smith, B. and Guo, Y., 2019. Ultrasound-microwave assisted extraction of pectin from fig (*ficus carica* L.) skin: optimization, characterization and bioactivity. *Carbohydrate Polymer*, 222, 114992, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114992>.
- [5] Hossain, Md., Ara, R., Yasmin, F., Suchi, M. and Zzaman, W., 2024. Microwave and ultrasound assisted extraction techniques with citric acid of pectin from Pomelo (*Citrus maxima*) peel. *Measurement Food*, <https://doi.org/10.1016/j.meaf.2024.100135>.
- [6] Mahmud, M., Belal, S., Ahmed, M.M. and Hoque, W., 2021. Microwave-assisted extraction and characterization of pectin from citrus fruit wastes for commercial application, *Food Research*, 5 (5): 80–88, [https://doi.org/10.26656/fr.2017.5\(5\).592](https://doi.org/10.26656/fr.2017.5(5).592).
- [7] Sen, E., Gokturk, E., Hajiyev, V. and Uguzdogan, E., 2023. Comparisons of pulsed ultrasound-assisted and hot acid extraction methods for pectin extraction under dual acid mixtures from onion (*Allium cepa* L.) waste. *Food Science and Nutrition*, 11:7320–7329. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3657>.
- [8] Chandel, V., Biswas, D., Roy, S., Vaidya, D., Verma, A. and Gupta, A., 2022. Current Advancements in Pectin: Extraction, Properties and Multifunctional Applications. *Food*, <https://www.researchgate.net/publication/363230310>.
- [9] Allian, M., Ramasaviny, B, and Emmambuk, M., 2020. Extraction, Characterisation, and Application of Pectin from Tropical and Sub-Tropical Fruits: A Review. *Food Reviews International*, <https://doi.org/10.1080/87559129.2020>.
- [10] Pereira, P.H., Oliveira, T. I. N., Waldron, W. and Azeredo. H.M.C., 2016. Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid. *International Journal Biological Macromolecule*, 88 (2016) 373–379, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.03.074>.
- [11] Chalapud, M.C., Salgado-Cruz, Ma de., Bäumlner, E.R., Carelli, A.A., Morales- Sánchez, E., Calderón Domínguez, G., and García-Hernández, A.B., 2023. Study of the physical, chemical, and structural properties of low- and high-methoxyl pectin-based film matrices including Sunflower Waxes.

ترکیبات زیستی ارزشمند از ضایعات صنعتی مرکبات است. مدل‌سازی فرآیند با روش سطح پاسخ و طراحی آزمایش باکس-بنکن امکان تعیین دقیق شرایط بهینه برای هر یک از پاسخ‌های کلیدی استخراج را فراهم ساخت و برازش مناسب مدل‌های درجه دوم با مقادیر $R^2 > 0.99$ ، بیانگر کفایت آماری و قدرت پیش‌بینی بسیار بالای این مدل‌ها بود. بر اساس تحلیل‌های انجام‌شده، شرایط بهینه برای بیشترین بازده استخراج شامل توان ۴۵۰ وات، زمان ۴ دقیقه و pH برابر با ۱ تعیین شد که در این شرایط بیشترین میزان بازده پکتین بدون ایجاد تخریب ساختاری حاصل گردید. در مقابل، شرایط بهینه برای دستیابی به بیشترین درجه استری‌شده شامل توان ۴۷۰ وات، زمان ۲ دقیقه و pH برابر با ۳ و شرایط بهینه مقدار گالاکتورونیک اسید شامل توان ۴۷۰ وات، زمان ۳/۷۸ دقیقه و pH برابر با ۲/۹۸ بود. تطابق کامل داده‌های تجربی با مقادیر پیش‌بینی‌شده مدل، قابلیت اعتماد و کارآمدی روش RSM را در طراحی دقیق فرآیند تأیید کرد. به‌طور کلی، یافته‌ها نشان می‌دهند که فرآیند استخراج مایکروویو، با کنترل دقیق سه عامل توان، زمان و pH، قادر است پکتین‌هایی با ویژگی‌های شیمیایی و عملکردی هدفمند تولید کند؛ از جمله پکتین‌های با درجه متوکسیل بالا (HMP) مناسب برای ژل‌سازی و پکتین‌های با درجه متوکسیل پایین (LMP) مناسب برای محصولات کم‌قند و تولید فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی. این مطالعه با ارائه شواهد تجربی مبنی بر توانایی بالای MAE در استخراج پکتین با بازده، خلوص و کیفیت شیمیایی مطلوب، با انجام مطالعات تکمیلی شامل آزمون‌های مقیاس نیمه‌صنعتی و صنعتی و محاسبه دقیق مصرف انرژی و هزینه‌های اقتصادی می‌تواند چشم‌انداز روشی برای جایگزینی روش‌های مرسوم و پرمصرف استخراج اسیدی با فناوری‌های نوین، کارآمد و سازگار با محیط‌زیست در صنایع غذایی، دارویی و بسته‌بندی زیست‌پایه فراهم سازد.

منابع

- [1] Davitadze, N., Bejanidze, I. and Tsintsadze, M., 2023. Development of Technology for the Extraction of Natural Pectin from Juice Production Waste. *Ecological Engineering & Environmental*

- 97(2), 703–709. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.052>.
- [22] Ma, S., Yu, S., Zheng, X., Wang, X., Bao, Q. and Guo, X., 2013. Extraction, characterization and spontaneous emulsifying properties of pectin from Sugar Beet Pulp, *Carbohydrate Polymer*, 98 (1): 750–753, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.06.042>
- [23] Yan, M. M., Liu, W., Fu, Y. J., Zu, Y. G., Chen, C. Y. and Luo, M., 2010. Optimisation of the microwave-assisted extraction process for four main astragalosides in *Radix Astragali*. *Food Chemistry*, 119(4), 1663–1670. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.021>.
- [24] Bagherian, H., Ashtiani, F. Z., Fouladitajar, A. and Mohtashamy, M., 2011. Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50(11), 1237–1243. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2011.08.002>.
- [25] Li, D., Jia, X., Wei, Z. and Liu, Z., 2012. Box–Behnken experimental design for investigation of microwave-assisted extracted sugar beet pulp pectin. *Carbohydrate Polymers*, 88(1), 342–377. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.12.017>.
- [26] Samavati, V., 2013. Polysaccharide extraction from *Abelmoschus esculentus*: Optimization by response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 588–597. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.041>.
- [27] Costa, J.M., Wang, W., Nakasu, P.Y.S., Hu, Ch., Forster-Carneiro, T. and Hallet, J.P., 2025. Impacts of microwaves on the pectin extraction from apple pomace: Technological properties in structuring of hydrogels. 160, 110766. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110766>.
- [28] Turan, O., Isci, A., Yilmaz, M.S., Tolun, A. and Sakiyan, O., 2023. Microwave-assisted extraction of pectin from orange peel using deep eutectic solvents, 23,101352. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101352>.
- [29] Dranca, F. and Oroian, M., 2019. Ultrasound-assisted extraction of pectin from *Malus domestica* ‘Fälticeni’ apple pomace. *Processes*, 7(8), 488. <https://doi.org/10.3390/pr7080488>.
- [30] Mellinas, C., Ramos, M., Jimenez, A. and Garrigos, M.C., 2020. Recent trends in the use of pectin from agro-waste residues as a natural-based biopolymer for food packaging applications. *Materials*, 13 (3): 673, <https://doi.org/10.3390/ma13030673>.
- [31] Wai, W.W., Alkarkhi, A.F.M. and Easa, A.M., 2010. Effect of extraction conditions on yield and degree of esterification of Durian Rind pectin: an experimental design, *Food Bioproduction. Process*, 88 (2–3) 209–214. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.01.010>.
- Membranes, 13 (10): 846. <https://doi.org/10.3390/membranes13100846>.
- [12] Mendes, J.F., Norcino, L.B., Manrich, A., Pinheiro, A.C., Oliveira, J.E. and Mattoso, L.H., 2020. Characterization of pectin films integrated with cocoa butter by continuous casting: physical, thermal and barrier properties. *Journal Polymer Environmental*, 28 (11): 2905–2917, <https://doi.org/10.1007/s10924-020-01829-1>.
- [13] Eça, K.S., Machado, M.T., Hubinger, M.D. and Menegalli, F.C., 2015. Development of active films from pectin and fruit extracts: light protection, antioxidant capacity, and compounds stability. *Journal Food Science*, 80 (11), <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13074>.
- [14] Martau, G.A., Mihai, M. and Vodnar, D.C., 2019. The use of chitosan, alginate, and pectin in the biomedical and food sector—biocompatibility, bioadhesiveness, and biodegradability. *Polymers*, 11 (11) 1837. <https://doi.org/10.3390/polym11111837>.
- [15] Mahmoud, M., Abu-Salem, F.M. and Azab, D.E., 2022. A comparative study of pectin green extraction methods from Apple Waste: characterization and functional properties. *SSRN Electron Journal*, <https://doi.org/10.2139/ssrn.4005101>.
- [16] Karbuz, P. and Tugrul, N., 2020. Microwave and ultrasound assisted extraction of pectin from various fruits peel. *Journal Food Science Technological*, 58 (2): 641–650. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04578-0>.
- [17] Lasunon, P. and Sengkhampan, N., 2022. Effect of ultrasound-assisted, microwave-assisted and ultrasound microwave-assisted extraction on pectin extraction from industrial tomato waste. *Molecules*, 27 (4) 1157. <https://doi.org/10.3390/molecules27041157>.
- [18] Hosseini, S.S., Khodaiya, F. and Yarmand, M., 2016. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.051>.
- [19] Mosayebi, V. and Emam Djomeh, Z., 2017. Optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from black mulberry (*Morus nigra*L) pomace. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 13 (4): No. 594-610. <https://doi.org/10.22067/ifstrj.v1395i0.50466>.
- [20] Khodaiyan, F., Razavi, S. H. and Mousavi, S. M., 2007. Optimization of canthaxanthin production by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 from cheese whey using statistical experimental methods. *Biochemical Engineering Journal*, 40(3), 415–422. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.2544.2552>.
- [21] Maran, J. P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K. and Sridhar, R., 2013. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydrate Polymers*,

- Microwave assisted extraction of pectin from waste Citrullus lanatus fruit rinds. *Carbohydrate Polymer*, 101, 786–791. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.062>.
- [40] Nateghi, L., Zarei, F. and Zarei, M., 2022. Optimize the Extraction Conditions of Pectin Extracted from Saveh Pomegranate Peels. *Iran Journal Chemistry Chemical Engineering*, 41(11):3835-3850. <https://doi.org/10.30492/ijcce.2022.531704.4780>.
- [41] Willats, W. G. T., Knox, J. P. and Mikkelsen, J. D., 2006. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, 17(3), 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.10.008>.
- [42] Kurita, O., Fujiwara, T. and Yamazaki, E., 2008. Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid, *Carbohydrate Polymer*, 74 (3): 725–730, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.04.033>.
- [43] Liu, L., Cao, J., Huang, J., Cai, Y. and Yao, J., 2010. Extraction of pectins with different degrees of esterification from Mulberry Branch bark, *Bioresource. Technological*, 101 (9): 3268–3273, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.062>
- [44] Oliveira, T.T., Rosa, M.F., Cavalcante, F.L., Pereira, P.H., Moates, G.K., Wellner, N., Mazzetto, S.E., Waldron, K.W. and Azeredo, H.M.C., 2016. Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology, *Food Chemical*, 198: 113–118, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.080>
- [45] Lefsih, K., Giacomazza, D., Dahmoune, F., Mangione, M.R., Bulone, D., Luigi San Biagio, P., Passantino, R., Assunta Costa, M., Guarrasi, V. and Madani, Kh., 2017. Pectin from *Opuntia ficus indica*: Optimization of microwave-assisted extraction and preliminary characterization. *Food Chemistry*, 221, 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.073>.
- [32] Yapo, B.M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B. and Paquot, M., 2008. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts, *Food Chemical*, 100 (4) 1356–1364, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.012>.
- [33] Liew, S. Q., Ngoh, G. C., Yusoff, R. and Teoh, W. H., 2016. Sequential ultrasound-microwave assisted acid extraction (UMAE) of pectin from pomelo peels. *International Journal Biological Macromolecule*, 93, 426–435. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.065>.
- [34] Swamy, G. J. and Muthukumarappan, K., 2017. Optimization of continuous and intermittent microwave extraction of pectin from banana peels. *Food Chemistry*, 220, 108–114 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.197>.
- [36] Thirugnanasambandham, K. and Sivakumar, V., 2015. Application of D-optimal design to extract the pectin from lime bagasse using microwave green irradiation. *International Journal Biological Macromolecule*, 72, 1351–1357. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.09.054>.
- [37] Marić, M., Grassino, A.N., Zhu, Zh., Barba, F., Brncic, m. and Rimac Brncic, S., 2018. An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends Food Science Technology*, 76, 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.022>.
- [38] Rahmani, Z., Khodaiyan, F., Kazemi, M. and Sharifan, A., 2020. Optimization of microwave-assisted extraction and structural characterization of pectin from Sweet Lemon Peel, *International. Journal Biological Macromolecule*, 147 1107–1115. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.079>.
- [39] Prakash Maran, J., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K. and Sridhar, R., 2014.