

استخراج پکتین از تفاله چغندر قند و بررسی کاربرد آن در محصولات غذایی

غلامرضا مصباحی و جلال جمالیان^۱

چکیده

پکتین به عنوان ماده ایجاد کننده ژل، قوام دهنده، بافت دهنده، امولسیون کننده و تثبیت کننده، در بسیاری از مواد غذایی کاربرد دارد. تفاله چغندر قند، که پس از استخراج قند از چغندر حاصل می شود، منبعی سرشار از پکتین است. هدف از این پژوهش، ارائه روشی خاص برای استخراج پکتین از تفاله چغندر، و نیز بهبود خواص عملکرد پکتین استخراجی به منظور افزایش کاربرد آن بود. نخست تفاله چغندر، خشک شده و به صورت پودر در آورده شد. سپس در شرایط اسیدی با pH برابر ۱ و $1/5$ ، و در دمای ۸۰ و ۹۰ درجه سانتی گراد، و طی زمان های استخراج ۱، ۲، ۳ و ۴ ساعت، عمل استخراج پکتین از تفاله انجام شد. بیشترین بازده استخراج پکتین به میزان ۲۲/۳۵ درصد، تحت شرایط دمایی ۹۰ درجه سانتی گراد، pH برابر ۱ و مدت استخراج ۴ ساعت حاصل گردید. در مرحله بعد ترکیبات ساختمانی پکتین استخراج شده از تفاله چغندر قند بررسی، و با پکتین تجاری مرکبات مقایسه شد. آن گاه پکتین تفاله چغندر قند در چند ماده غذایی مورد استفاده قرار گرفت، و برخی خواص عملکردی آن با پکتین تجاری مرکبات مقایسه گردید. هم چنین، اثر آمونوم پرسولفات و pH بالا بر توانایی ایجاد ژل و افزایش ویسکوزیته توسط پکتین حاصله بررسی شد. سپس اثر کاربرد پکتین تفاله چغندر قند بر عطر و طعم چند ماده غذایی ارزیابی، و با پکتین تجاری مرکبات مقایسه شد.

سرانجام نتیجه گرفته شد که پکتین استخراجی از تفاله چغندر، در برخی مواد غذایی مانند سس کچاپ به عنوان ماده قوام دهنده و افزایش دهنده ویسکوزیته قابل استفاده است، ولی نمی توان از آن انتظار داشت که در مواد غذایی، ژل مستحکمی را ایجاد کند.

واژه های کلیدی: پکتین، تفاله چغندر قند، تولید ژل، قوام دهنده، افزایش ویسکوزیته

۱. به ترتیب مربی و دانشیار علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

مقدمه

مواد پکتینی حدود یک سوم ماده خشک دیواره سلولی بیشتر گیاهان را تشکیل می‌دهند (۱۱). بیشترین مقدار پکتین در قسمت لاملای میانی (Middle Lamella) در دیواره‌های سلولی وجود دارد، و تغییرات ساختمانی آن موجب تغییرات فیزیکی و بافتی مانند نرم شدن گیاه می‌شود (۳، ۲۷ و ۲۹). از نظر شیمیایی، قسمت عمده اجزای ساختمانی پکتین و مواد پکتیکی را پلی مری از دی گالاکتورونیک اسید (D-Galacturonic acid) تشکیل می‌دهد، که به صورت زنجیره‌هایی از طریق اتصالات گلیکوزیدی (α -1,4-Glycosidic bond) به هم متصل شده‌اند (۲۳ و ۲۸). برخی از گروه‌های کربوکسیل موجود در ساختمان مولکول‌های گالاکتورونیک اسید در زنجیره پکتین با متیل‌الکل استری شده‌اند، که میزان آن بر اساس درجه استری شدن (Degree of Esterification یا DE) برحسب درصد بیان می‌شود. مقدار درجه استری شدن پکتین در بافت‌های گیاهی ویژگی‌های فیزیکی و سفتی یا نرمی بافت را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲). با در نظر گرفتن درجه استری شدن پکتین، غالباً پکتین استخراج شده از گیاهان را به دو دسته بزرگ تقسیم می‌کنند، یکی پکتین با درجه استری زیاد (High Methoxyl Pectin, DE>50%) یا HMP، و دیگری پکتین با درجه استری کم (Low Methoxyl Pectin, DE<50%) یا LMP (۲۳ و ۲۸). در رشته‌های جانبی پکتین ترکیبات دیگری مانند آرابینان، آرابینوگالاکتان و قندهایی مانند گلوکز و مانوز و زیلوز نیز، برحسب منبع پکتین، ممکن است وجود داشته باشد (۲۲).

پکتین در صنایع، به ویژه صنایع غذایی، دارویی و پزشکی کاربردهای فراوان دارد (۹، ۱۳، ۲۰ و ۲۳). بیشترین کاربرد پکتین در صنایع غذایی استفاده از آن در تولید مرباها و ژله‌ها، به عنوان یک ماده ایجاد کننده ژل و قوام دهنده است، گرچه کاربرد آن در نوشابه‌ها، شربت‌ها، سس‌ها و مواد غذایی دیگر نیز مطرح است (۴، ۹ و ۲۰).

همان گونه که بیان شد، پکتین در گیاهان زیادی وجود دارد (۸ و ۲۳)، ولی عمده‌ترین منابع استخراج و تولید پکتین در

جهان در سطح تجاری، پوست مرکبات (مقدار پکتین بیش از ۲۵ درصد ماده خشک) و تفاله سیب (مقدار پکتین حدود ۱۵ تا ۱۸ درصد ماده خشک) هستند (۷ و ۱۵). تفاله چغندر قند یکی از محصولات جانبی کارخانه‌های تولید شکر است، که پس از استخراج قند از خلال چغندر، به مقدار زیاد حاصل می‌شود، و بیش از ۲۵ درصد پکتین در ماده خشک دارد (۲۴). برخی منابع دیگر مقدار پکتین موجود در تفاله چغندر قند را ۱۵-۳۰ درصد ماده خشک گزارش کرده‌اند (۵ و ۱۷). بنابراین، تفاله چغندر قند در ابتدا به عنوان رقیب و حتی جانشینی برای پوست مرکبات و تفاله سیب برای استخراج پکتین در بعد صنعتی و تجاری به حساب آمد (۱۶)، ولی پژوهش‌های بعدی نشان داد که به علت زیاد بودن گروه‌های استیل در ساختمان پکتین تفاله چغندر، و هم‌چنین کم بودن نسبی وزن ملکولی متوسط رشته‌های آن، از نظر ویژگی ایجاد ژل اغلب ضعیف عمل می‌کند (۲۱). این مسئله تا حدی کاربرد و استفاده از آن را محدود کرد، ولی در سال‌های اخیر نیز پژوهش در مورد آن، و به ویژه در زمینه روش‌های استخراج، بررسی خصوصیات و یافتن کاربردهای خاص برای آن در صنایع غذایی و داروسازی و پزشکی ادامه داشته است (۶، ۱۴ و ۳۰).

در سال ۱۹۸۵، میشل و همکاران (۱۸) استخراج پکتین تفاله چغندر را در شرایط pH اسیدی و دماهای ۸۵ و ۹۵ درجه سانتی‌گراد بررسی کردند، و در برخی شرایط بازده ۲۳ درصد را نیز گزارش نمودند. فاتک و همکاران (۱۹) استخراج پکتین تفاله چغندر را در سه شرایط متفاوت، یعنی با استفاده از محلول اسیدی، با کاربرد محلول EDTA و با به کارگیری محلول آمونیوم اگزالات بررسی کردند. در این پژوهش، گرچه روش استخراج با محلول آمونیوم اگزالات با بازده بیشتر استخراج همراه بود، ولی پکتین به دست آمده از نظر درجه استری شدن نسبت به شرایط استخراج اسیدی، حد بسیار پایین تری را نشان می‌داد. و سروسیکی (۳۰) با طراحی دستگاه استخراج کننده خاصی، در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد، با اسید معدنی و در pH برابر ۱/۵، در مدت ۴۵ دقیقه پکتین تفاله چغندر قند را

شد تا در آزمایش‌های استخراج پکتین مورد استفاده قرار گیرد.

استخراج پکتین

برای استخراج پکتین از تفاله چغندر قند روش‌های گوناگونی به کار می‌رود. ضمن بررسی و بهره‌گیری از گزارش‌های پیشین (۱، ۶، ۱۸، ۱۹، ۲۵ و ۳۰)، سعی شد که در مجموع با روشی متفاوت عمل استخراج انجام شود. به سخن دیگر، پس از ارزیابی نکات مثبت و منفی روش‌ها و آزمایش‌های انجام شده، به ویژه از نظر میزان بازده استخراج و استحصال پکتین چغندر با ویژگی‌های عملکردی مناسب‌تر، هزینه کمتر، سهولت روش و در دسترس بودن مواد و وسایل و امکانات لازم، و هم‌چنین وجود امکان بیشتر برای اجرای آن در بعد صنعتی، استخراج پکتین به روش زیر صورت گرفت:

در هر یک از آزمایش‌های استخراج پکتین که در شرایط متفاوتی انجام می‌شدند، ۳۰ گرم نمونه پودر تفاله خشک شده با ۵۰ برابر وزنی آب مقطر مخلوط شده، ضمن هم زدن با هم‌زن مکانیکی پره‌دار (Arthur N. Thomas Co., U.S.A.) (با سرعت حدود ۲۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب گرم ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک، قسمت محلول جدا و دور ریخته شد، و تفاله باقی‌مانده روی صافی دوباره با ۵۰ برابر وزنی آب مقطر مخلوط و با هیدروکلریک اسید غلیظ، pH آن در دو سطح ۱ و ۱/۵ تنظیم گردید. سپس، ضمن هم زدن مداوم با سرعت حدود ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ ساعت، در دو سطح دمایی ۸۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم نگهداری شد.

در مرحله بعد، با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک، تفاله‌ها جداسازی و دور ریخته شد، و آن‌گاه محلول صاف شده که محتوی پکتین بود با محلول سدیم هیدروکسید (غلظت وزنی ۱ به ۵) به pH حدود ۳-۳/۲ رسانده شد. سپس به محلول حاصل، ایزوپروپیل الکل یا ۲-پروپانل (2-Propanol, Gehalt Merck, 99%) به نسبت حجمی ۱ به ۱ افزوده شد. محلول به

استخراج کرد، که با نتایج قابل قبولی همراه بود. فاکس (۶) در سال ۱۹۹۴ استخراج پکتین تفاله چغندر را در دماهای بین ۵۰ درجه سانتی‌گراد و نقطه جوش در محلول اسیدی بررسی نمود، و اثر دما را بر طول زنجیره پلی‌مری پکتین مشخص ساخت. این پژوهشگر پکتین استخراجی خود را به عنوان تثبیت کننده کف در بستنی‌سازی قابل استفاده دانست. در سال ۱۹۹۵، ارسلان (۱) وضعیت استخراج پکتین تفاله چغندر را با کاربرد هیدروکلریک اسید و آمونیوم اگزالات و EDTA، در شرایط زمانی و دمایی متفاوت آزمایش کرد، و با محلول آمونیوم اگزالات به بازده استخراج بیشتری دست یافت، ولی پکتین استخراجی در شرایط مذکور، از نظر میزان گروه‌های استیل و وزن مولکولی چندان مطلوب نبود.

به رغم کاربردهای فراوان و ویژگی‌های مفید و چشم‌گیری که مواد پکتینی دارند، متأسفانه در ایران هنوز تولید تجاری این مواد با ارزش معمول نشده و پژوهش‌های انجام شده در این زمینه نیز بسیار ناچیز است. این پژوهش‌گامی در این راستا است، و تلاش دارد ضمن در نظر داشتن بررسی‌ها و پژوهش‌های پیشین، روش عملی نسبتاً ساده‌ای برای استخراج پکتین از تفاله چغندر قند ارائه داده، و ویژگی‌های عملکردی و امکان کاربرد پکتین حاصل را در برخی مواد غذایی بررسی نماید.

مواد و روش‌ها

آماده سازی تفاله چغندر قند

حدود ۱۰۰ کیلوگرم تفاله پرس شده تولیدی در کارخانه قند مرودشت برای استفاده در آزمایش‌ها تهیه گردید. رطوبت متوسط تفاله مذکور ۸۷/۵ درصد بود، که در دستگاه خشک‌کن (Proctor and Schwartz, U.S.A.)، تحت اثر جریان هوای گرم ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج ساعت تا رسیدن به رطوبت ۲/۳-۲/۵ درصد خشک شد. سپس تفاله خشک شده در آسیاب کاملاً خرد و به پودر تبدیل گردید، و پس از الک کردن (روزنه ۶۰) در کیسه‌های پلاستیکی غیر قابل نفوذ رطوبت بسته‌بندی

آزمایش‌های فوق در دو تکرار انجام شد، و برای مقایسه، این آزمایش‌ها در پکتین تجاری مرکبات (Pectin, Pure from Citrus, Serva Feinbiochemica, Heidelberg/ New York) با درجه استری بالا نیز انجام گرفت.

بررسی خواص عملکردی پکتین استخراجی

پکتین استخراج شده از تفاله چغندر قند در شرایط مختلفی مورد استفاده قرار گرفت، و در همه این شرایط، چگونگی عملکرد، و کارایی آن با پکتین تجاری مرکبات مقایسه گردید. برای این کار از غلظت‌های مختلف پکتین (۰/۱، ۰/۳، ۰/۵، ۰/۷، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد) در محلول‌های شکر با غلظت $Bx = 7.68 \pm 0.5$ استفاده شد، و با تنظیم pH در حد ۳-۳/۲، وضعیت ویسکوزیته و قوام و حالت ژلی ایجاد شده توسط پکتین در محلول‌های مذکور بررسی گردید. از سوی دیگر، در pH حدود ۱۰-۱۰/۵ نیز آزمایش‌های مذکور در همان غلظت‌ها تکرار شد تا اثر افزایش pH نیز مطالعه شود. همچنین، آزمایش‌های مورد اشاره با استفاده از همان غلظت‌های ذکر شده از پکتین همراه با آمونیوم پرسولفات (۰/۱ مولار) در pH حدود ۴/۵ در محلول‌های شکر انجام گرفت تا اثر این ماده در بهبود کیفیت ایجاد ویسکوزیته و ژل توسط پکتین تفاله چغندر بررسی گردد.

در بخش دیگری از این پژوهش، پکتین استخراجی از تفاله چغندر در غلظت‌های ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷ درصد، در دو نوع سس کچاپ با درصد ماده خشک ۲۸ و ۳۰ به کار برده شد. همچنین، همین غلظت‌ها از پکتین در نوعی شربت پرتقال با درصد ماده خشک محلول 66.5 ± 0.5 استفاده شد و تأثیر پکتین بر ویسکوزیته و قوام مواد غذایی مذکور بررسی گردید.

در آزمایش‌های فوق برای اندازه‌گیری ویسکوزیته از دستگاه ویسکومتر بروکفیلد (Brookfield Viscometer, Model RTV) استفاده شد، و اندازه‌گیری‌ها در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. اندازه‌گیری قوام با دستگاه بوستویک (Bostwick Consistometer) در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد

دست آمده به مدت ۱۲ ساعت در یخچال در دمای حدود پنج درجه سانتی‌گراد نگهداری شد، و سپس محلول به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای حدود ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه سانتریفوژ مجهز به سیستم تنظیم دما سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ کردن، پکتین موجود در محلول ته‌نشین شد، و فاز مایع که در بالا قرار گرفت، از آن جدا گردید. در مرحله بعد، پکتین ته‌نشین شده دوباره با حجم مساوی از ایزوپروپیل الکل مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد تا به صورت بهتری شست‌شو شود. سپس فاز مایع جداسازی شد و پکتین استخراج شده به ظرف‌های مخصوص منتقل گردید. فاز مایع که در هر دو مرحله سانتریفوژ جداسازی می‌شود، محتوی آب مقطر و مواد ناخالصی و ایزوپروپیل الکل است، و می‌تواند برای بازیابی الکل در دمای ۸۱-۸۳ درجه سانتی‌گراد و استفاده مجدد از آن به کار رود.

پکتین به دست آمده، در دستگاه خشک‌کن با جریان هوای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج ساعت خشک گردید. سپس برای محاسبه بازده استخراج دقیقاً توزین شده، در آسیاب به پودر تبدیل، و پودر پکتین حاصل از الک (روزنه ۶۰) گذرانده شد. هر یک از آزمایش‌های استخراج پکتین، در هر یک از شرایط از نظر pH، دما و زمان، سه بار تکرار گردید.

بررسی ترکیب ساختمانی پکتین استخراجی

برای اندازه‌گیری درصد خاکستر نمونه‌ها، از دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد (۱۰)، و اندازه‌گیری درصد پروتئین نمونه‌ها به روش کلیدال صورت گرفت (۱۰). به منظور اندازه‌گیری درصد ماده خشک نمونه‌ها، از روش قرار دادن آنها در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج ساعت در دستگاه خشک‌کن تحت خلأ استفاده گردید (۱۰). درصد آنهیدروگالاکتورونیک اسید (Anhydrogalacturonic acid) و درجه استری شدن به روش بیان شده توسط مک کرییدی (۱۷) اندازه‌گیری شد.

انتخاب گردد. نتایج جدول ۱ نشان داد که از نظر pH، انتخاب pH در حد ۱، با بازده بسیار بیشتر استخراج همراه است. از نظر دما، گرچه در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد بازده استخراج زیادتر بود، ولی گزارش‌های پژوهشگرانی مانند فاتک (۱۰) گویای این است که امکان هیدرولیز و تجزیه پکتین حاصل و کاهش درجه استری شدن آن، و هم‌چنین کاهش وزن ملکولی رشته‌های پکتین در این دما بیشتر است. بنابراین، از دمای ۸۰ درجه سانتی گراد استفاده شد. از نظر انتخاب زمان استخراج، گرچه در زمان چهار ساعت، بازده استخراج پکتین بیشتر بود، ولی چون در مقایسه با بازده استخراج پکتین در زمان‌های ۳ ساعت و ۴ ساعت، اختلاف بسیار کمی میان آنها وجود داشت، به منظور پرهیز از هیدرولیز و شکسته شدن پکتین در اثر طولانی‌تر شدن زمان استخراج، زمان ۳ ساعت انتخاب شد. بنابراین، تولید پکتین از تفاله چغندر برای آزمایش‌های بعدی در شرایط pH برابر ۱ و دمای ۸۰ درجه سانتی گراد و زمان استخراج ۳ ساعت انجام گردید. پکتین تولید شده در این شرایط از نظر ویژگی‌های شیمیایی و ترکیب مورد بررسی قرار گرفت، که نتایج در مقایسه با پکتین تجاری مرکبات در جدول ۲ آمده است.

این نتایج نشان می‌دهد که پکتین تولیدی حاوی درصد خاکستر و پروتئین بیشتری است، که تا حد زیادی به ویژگی‌ها و ترکیبات موجود در ماده اولیه، یعنی تفاله چغندر قند مربوط می‌شود. از نظر درصد انهدروگالاکتورونیک اسید و درجه استری شدن، که در حقیقت نشان دهنده میزان گروه‌های متوکسیل در ساختار واحدهای سازنده پکتین است، پکتین تفاله چغندر حد کمتری را نشان می‌دهد. این دو عامل در ویژگی‌ها و شرایط ایجاد ژل و افزایش ویسکوزیته توسط پکتین تأثیر تعیین کننده دارند. به هر حال، پکتین استخراج شده از تفاله چغندر جزو پکتین‌های با درجه استری بالا محسوب می‌شود.

بررسی خواص عملکردی و کاربردی پکتین تولیدی از تفاله

چغندر

نتایج کاربرد پکتین تفاله چغندر و پکتین تجاری مرکبات با

و با استفاده از ۵۰ سانتی متر مکعب از نمونه‌های مورد آزمایش انجام شد.

برای بررسی تأثیر پکتین استخراج شده از تفاله چغندر بر مواد غذایی، از نظر چشایی و رنگ و مقایسه آن با پکتین تجاری، غلظت ۰/۵ درصد از پکتین در دو نوع سس کچاپ و یک نوع شربت پرتقال به کار برده شد، و با روش آزمون سه‌تایی (Triangle Test) (۱۲) ارزیابی گردید. در این آزمایش‌ها به هر یک از افراد آزمون کننده سه نمونه از ماده غذایی داده شد، که در یکی از آنها پکتین تفاله چغندر به میزان ۰/۵ درصد، و در دو نمونه دیگر به همین میزان پکتین تجاری مرکبات استفاده شده بود. از این افراد خواسته شد تا نمونه‌ای را که از نظر عطر و طعم و رنگ با دو نمونه دیگر تفاوت دارد، مشخص سازند.

برای تحلیل آماری نتایج از آزمایش فاکتوریل در چارچوب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و از برنامه کامپیوتری MSTATC بهره‌گیری شد. در مورد آزمون‌های چشایی و رنگ نیز بررسی آماری نتایج با استفاده از جدول آماری رزلر و همکاران (به نقل از ۱۲) صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از آزمایش‌های استخراج پکتین از تفاله چغندر، در شرایط گوناگون (جدول ۱)، نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) از نظر میزان بازده استخراج پکتین بود. بالاترین درصد استخراج پکتین به میزان ۲۲/۳۵ درصد در pH برابر ۱ و دمای ۹۰ درجه سانتی گراد و زمان استخراج چهار ساعت حاصل شد. این میزان استخراج در مقایسه با گزارش‌های دیگر (۶، ۱۸، ۱۹ و ۳۰) حد بالا و مناسبی را نشان می‌دهد. کمترین درصد استخراج به میزان ۵/۷۴ درصد در pH برابر ۱/۵ و دمای ۸۰ درجه سانتی گراد و زمان استخراج یک ساعت به دست آمد.

برای تولید مقدار کافی پکتین تفاله چغندر برای آزمایش‌ها و پژوهش‌های بعدی، نیاز بود که یکی از شرایط بررسی شده

جدول ۱. بازده استخراج پکتین از تفاله چغندر قند (برحسب درصد ماده خشک) در شرایط مختلف از نظر pH، دما و زمان

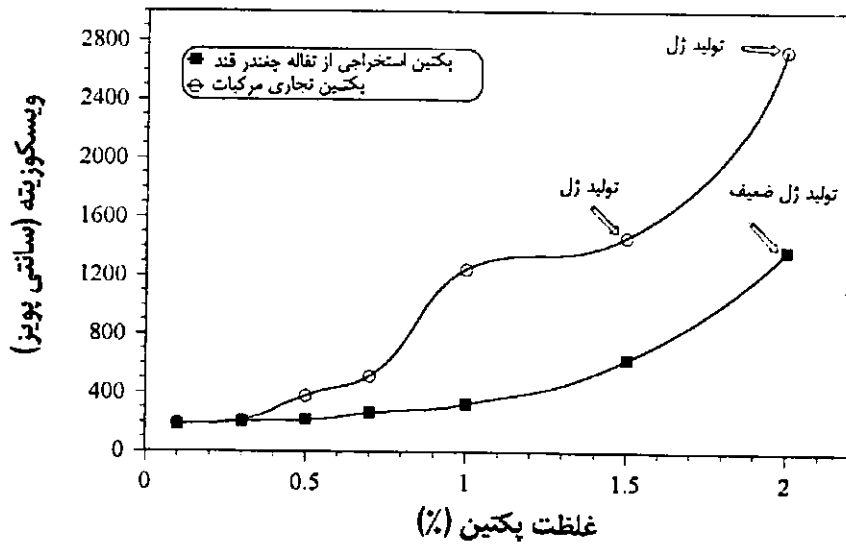
| pH | ۱ | | | | ۱/۵ | | | | دما (°C) | زمان استخراج (ساعت) | بازده استخراج (%) | | | | | | | | | | | | | |
|----|----|----|----|----|-----|----|----|----|----------|---------------------|-------------------|------|-------|-------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | ۹۰ | ۸۰ | ۷۰ | ۶۰ | ۹۰ | ۸۰ | ۷۰ | ۶۰ | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | ۴ | ۳ | ۲ | ۱ | ۴ | ۳ | ۲ | ۱ | ۱۷/۸۶ | ۱۵/۵۹ | ۱۲/۴۷ | ۹/۹۷ | ۱۱/۹۶ | ۱۰/۸۹ | ۹/۵۶ | ۵/۶۷ | ۲۲/۳۵ | ۲۱/۹۱ | ۲۰/۱۶ | ۱۴/۸۳ | ۲۰/۵۳ | ۲۰/۰۱ | ۱۷/۰۸ | ۱۴/۶۷ |

جدول ۲. ویژگی‌های شیمیایی و ترکیب پکتین تولیدی از تفاله چغندر قند و پکتین تجاری مرکبات

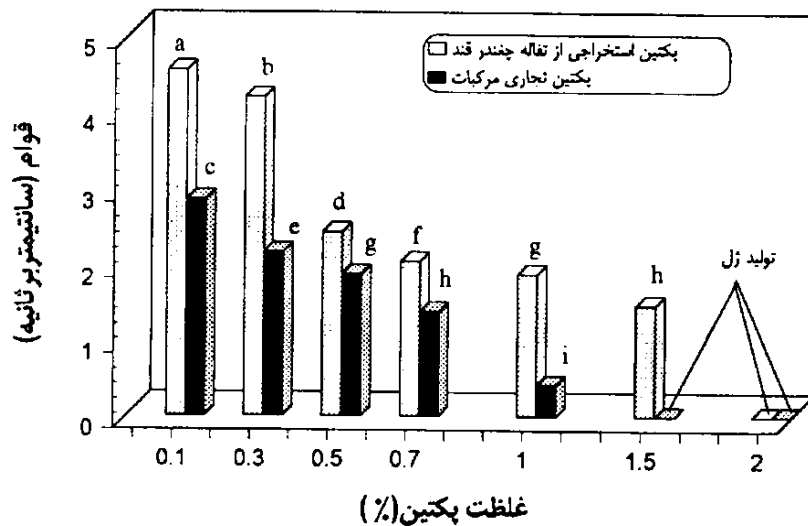
| نوع پکتین | ترکیب و ویژگی‌ها | رطوبت (درصد) | خاکستر (درصد) | پروتئین (درصد) | انهیدروگالاکتورونیک اسید (درصد) | درجه استری شدن (درصد) |
|-----------------------|------------------|--------------|---------------|----------------|---------------------------------|-----------------------|
| پکتین تفاله چغندر قند | | ۲/۰۱ | ۴/۹۱ | ۵/۲۰ | ۶۶/۱۸ | ۵۸/۹۲ |
| پکتین تجاری مرکبات | | ۳/۲۱ | ۰/۵۵ | ۱/۱۰ | ۷۸/۴۱ | ۶۷/۸۰ |

گذشته از اندازه‌گیری ویسکوزیته محلول‌های شکر با غلظت‌های مختلف پکتین چغندر و پکتین تجاری مرکبات، در بخش دیگری از این پژوهش، اندازه‌گیری قوام محلول‌های مذکور با دستگاه بوستویک نیز صورت گرفت، که نتایج در نمودار ۲ آورده شده است. چون واحد قوام در این دستگاه برحسب سانتی‌متر بر ثانیه است، و در حقیقت دستگاه وضعیت تحرک محلول‌های مورد آزمایش را اندازه‌گیری می‌کند، هر چه مقدار عددی سانتی‌متر بر ثانیه کمتر باشد، نشان دهنده سرعت حرکت کمتر محلول‌ها، و به سخن دیگر قوام بیشتر آنهاست. در نمودار ۲ دیده می‌شود که در مورد هر دو نوع پکتین، با افزایش غلظت، افزایش قوام در محلول‌های شکر به وجود می‌آید. البته میزان افزایش قوام در مورد پکتین تجاری در حد بالاتری بوده است، و این پکتین در غلظت ۱/۵ درصد در محلول شکر ژل مناسبی را پدید آورده و محلول شکر را فاقد تحرک ساخته است (صفر سانتی‌متر بر ثانیه)، در حالی که ایجاد ژل توسط پکتین چغندر در غلظت دو درصد صورت گرفته، و گرچه ژل حاصل از استحکام زیادی برخوردار نبوده، ولی به هر حال توانسته است از تحرک محلول شکر جلوگیری کند.

هفت غلظت مختلف در محلول‌های شکر، و تجزیه و تحلیل آماری آنها، نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد میان مقادیر ویسکوزیته ایجاد شده توسط پکتین‌های مذکور بود. نمودار ۱ نمایانگر نتایج حاصل در این زمینه و چگونگی روند افزایش ویسکوزیته در اثر افزایش غلظت پکتین به کار برده شده در محلول‌های شکر است. ملاحظه می‌شود که پکتین تجاری مرکبات در افزایش ویسکوزیته محلول شکر، در مقایسه با پکتین چغندر مؤثرتر عمل کرده است. ایجاد ژل توسط پکتین تجاری در غلظت ۱/۵ درصد آغاز شده، در حالی که پکتین چغندر در غلظت دو درصد، ژل ضعیفی را با ویسکوزیته کمتر در محلول شکر پدید آورده است. ولی به هر حال، با افزایش غلظت پکتین تفاله چغندر، روند افزایشی مناسبی در ویسکوزیته محلول‌های شکر دیده می‌شود، به طوری که ویسکوزیته محلول شکر از ۱۸۱ سانتی‌پویز در غلظت ۰/۱ درصد پکتین چغندر به ویسکوزیته ۱۳۷۵ سانتی‌پویز در غلظت دو درصد پکتین مذکور رسیده است، که نشان می‌دهد کاربرد پکتین چغندر به عنوان یک افزایش دهنده ویسکوزیته در محلول‌های قندی امکان‌پذیر است.



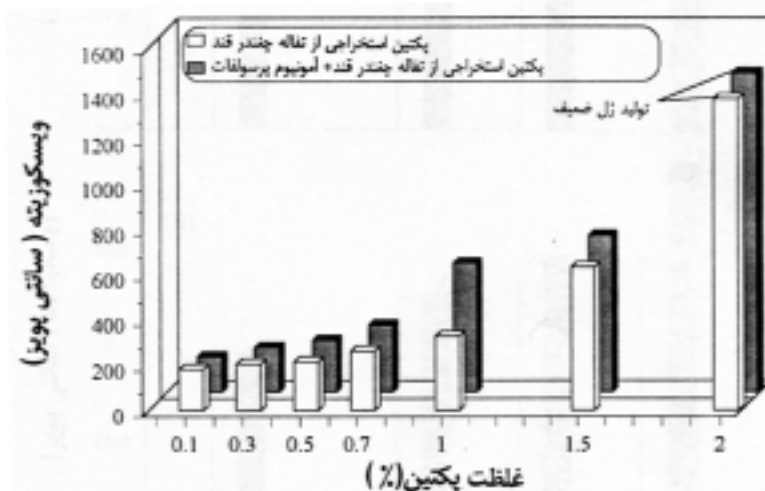
نمودار ۱. تأثیر غلظت‌های مختلف پکتین چغندر قند و پکتین تجاری مرکبات بر ویسکوزیته و بروز حالت ژل در محلول‌های شکر (غلظت محلول‌های شکر $0.5 \pm 0.68\%$ ، $3/2-3$ pH)



نمودار ۲. تأثیر غلظت‌های مختلف پکتین چغندر قند و پکتین تجاری مرکبات بر قوام و بروز حالت ژل در محلول‌های شکر (غلظت محلول‌های شکر $0.5 \pm 0.68\%$ ، $3/2-3$ pH) (حروف متفاوت نمایانگر معنی‌دار بودن اختلاف هستند).

برخی از پژوهشگران بیان کرده‌اند که بعضی از مواد اکسید کننده مانند آمونیوم پرسولفات در محلول‌های حاوی شکر و پکتین چغندر با ایجاد پیوندهایی (Oxidative coupling) میان رشته‌های پکتین، سبب افزایش ویسکوزیته و بهبود ویژگی ایجاد ژل می‌شوند (۲۴، ۲۵ و ۲۶). بنابراین در یک آزمایش، کاربرد آمونیوم پرسولفات و تأثیر آن در این مورد بررسی شد. نتایج این بررسی، که در نمودار ۳ آمده است، نشان می‌دهد که

استفاده از pH در محدوده ۳-۳/۲ و غلظت $0.5 \pm 0.68\%$ درصد شکر در محلول‌های قندی، به منظور نزدیک شدن به شرایط ایجاد ژل در مریاسازی و ژله‌سازی بود. دلیل ضعف پکتین چغندر در ایجاد ژل محکم را می‌توان به وجود گروه‌های استیل در ساختار این نوع پکتین، و هم‌چنین به کم بودن وزن ملکولی رشته‌های آن، در مقایسه با پکتین مرکبات و سیب مرتبط دانست (۱، ۱۸، ۱۹ و ۲۱).



نمودار ۳. ویسکوزیته و حالت ژل ایجاد شده در محلول‌های شکر توسط غلظت‌های مختلف پکتین چغندر به تنهایی، و پکتین چغندر همراه با آمونیوم پرسولفات (۰/۰۱ مولار) (غلظت محلول‌های شکر 68 ± 0.5 درصد و pH در حد ۳-۳/۲ برای پکتین چغندر به تنهایی، و pH برابر ۴/۵ برای پکتین چغندر همراه با آمونیوم پرسولفات)

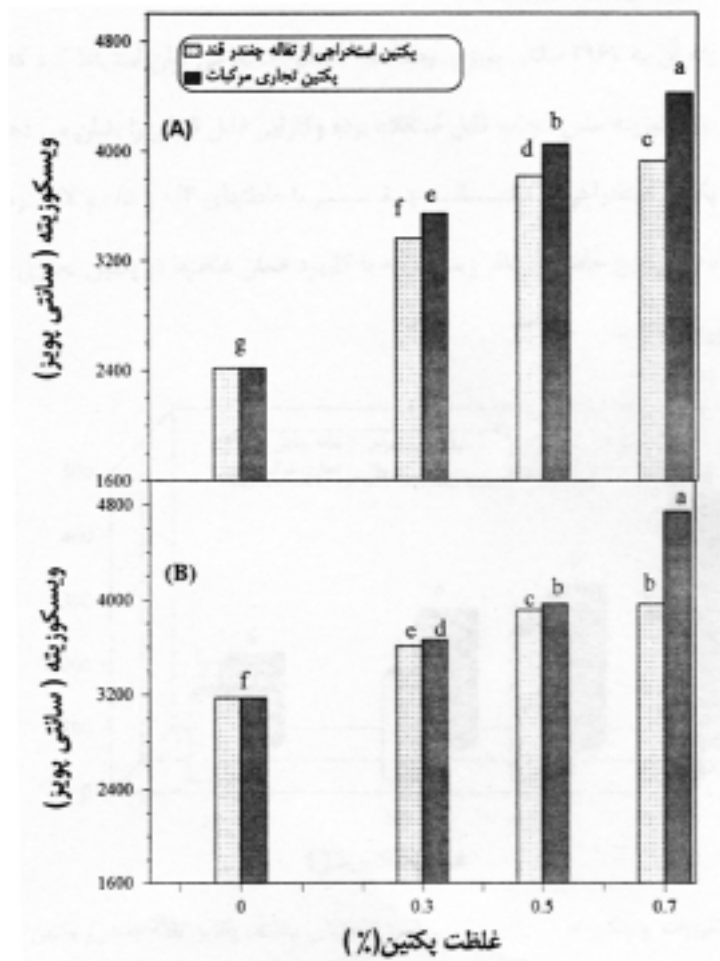
شکری که پکتین چغندر به همراه آمونیوم پرسولفات در آنها به کار رفت، به این دلیل بود که گزارش‌های پژوهشگران دیگر (۲۴، ۲۵ و ۲۶) نشان داده است که محدوده pH برابر ۳/۸-۵/۷ ژل مناسب‌تری ایجاد می‌شود.

در نمودار ۴ نتایج کاربرد پکتین به دست آمده از تفاله چغندر، در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۵ و ۰/۷ درصد در دو نوع سس کچاپ، از نظر تغییرات ویسکوزیته به نمایش در آمده، و با اثر همان غلظت‌ها از پکتین تجاری مرکبات مقایسه شده است.

غلظت‌های مختلف پکتین چغندر در مقایسه با غلظت‌های مختلف پکتین تجاری مرکبات، از نظر ایجاد ویسکوزیته در سس‌ها اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد داشته‌اند، و پکتین تجاری مرکبات ویسکوزیته بیشتری ایجاد کرده است، ولی افزایش ویسکوزیته سس‌ها توسط پکتین تولیدی از تفاله چغندر قند نیز در حد قابل قبولی بوده است. برای مثال، در سس کچاپ B با کاربرد ۰/۷ درصد پکتین تفاله چغندر، ویسکوزیته ایجاد شده در حد کاربرد ۰/۵ درصد پکتین تجاری مرکبات بوده است، و به طور کلی با کاربرد پکتین تفاله چغندر روند افزایشی مناسبی در ویسکوزیته سس‌ها دیده می‌شود. در سس A ویسکوزیته نمونه شاهد ۲۴۲۰ سانتی‌پویز بوده است، که با

غلظت‌های مختلف پکتین تفاله چغندر از نظر ایجاد ویسکوزیته در محلول‌های شکر، در مقایسه با حالتی که پکتین مذکور همراه با آمونیوم پرسولفات در محلول‌های شکر استفاده شده، دارای اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد هستند. البته مقایسه میانگین‌های ویسکوزیته‌های ایجاد شده با آزمون دانکن در مورد هر یک از غلظت‌های پکتین به طور جداگانه، نشان داد که وقتی غلظت‌های کم پکتین (۰/۱ تا ۰/۵ درصد) به کار رود، اختلاف معنی‌داری میان ویسکوزیته‌های ایجاد شده وجود ندارد، ولی با به کار بردن غلظت‌های ۰/۷ درصد پکتین و بیشتر، وجود اختلاف معنی‌دار میان ویسکوزیته‌ها در هر یک از غلظت‌ها، در دو حالت ذکر شده به خوبی دیده می‌شود، و اثر مثبت کاربرد آمونیوم پرسولفات به همراه پکتین در ایجاد ویسکوزیته زیادتر در این غلظت‌ها نمود بیشتری دارد.

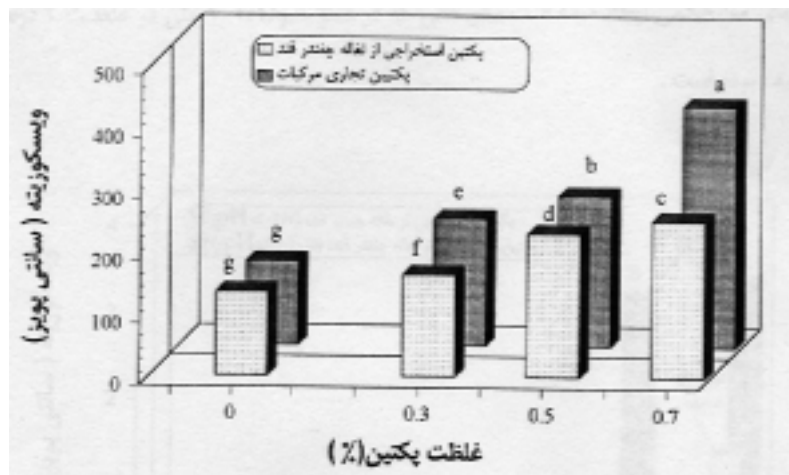
نمودار ۳ هم‌چنین نشان می‌دهد که با کاربرد دو درصد پکتین چغندر در محلول شکر همراه با آمونیوم پرسولفات و بدون آمونیوم پرسولفات، ژل ایجاد خواهد شد. گرچه در هر دو حالت، ژل استحکام زیادی ندارد، ولی در حالتی که پکتین چغندر همراه آمونیوم پرسولفات استفاده شده، ژل با ویسکوزیته بیشتری پدید آمده است. تنظیم pH در حد ۴/۵ در محلول‌های



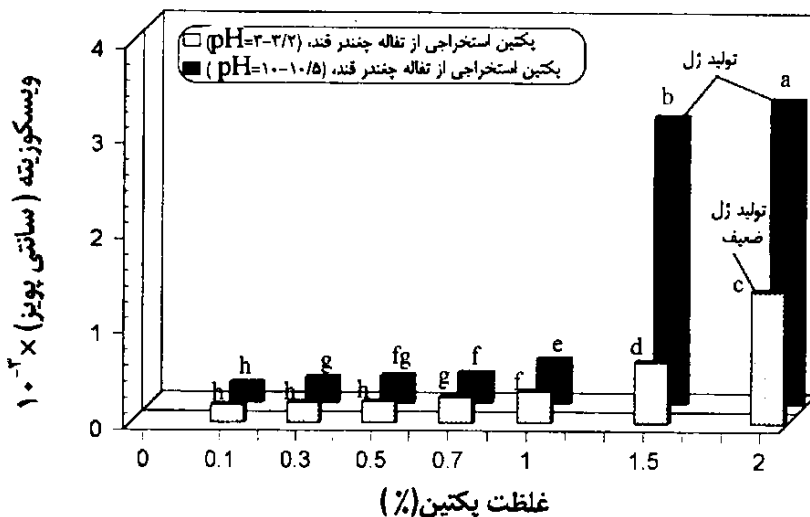
نمودار ۴. اثر غلظت‌های مختلف پکتین استخراج شده از چغندر قند و پکتین تجاری مرکبات بر ویسکوزیته دو نوع سس کچاپ، سس A با بریکس ۲۸ و سس B با بریکس ۳۰ درصد (حروف مشابه نمایانگر معنی دار بودن اختلاف هستند و غلظت صفر پکتین مربوط به نمونه‌های شاهد است).

با کاربرد همان غلظت‌ها در پکتین تجاری مرکبات مقایسه گردید. این نتایج در نمودار ۵ آورده شده است. در این پژوهش نیز روند صعودی ویسکوزیته همراه با افزایش غلظت هر دو نوع پکتین دیده شد. البته میزان ویسکوزیته در مورد کاربرد پکتین تجاری در همه غلظت‌های مورد استفاده بالاتر بود، ولی میزان ویسکوزیته ایجاد شده توسط پکتین تفاله چغندر نیز، به خصوص در غلظت ۰/۷ درصد چشم‌گیر بوده است، و از مقدار ۱۳۵ سانتی‌پویز در نمونه شاهد به حدود ۲۵۳ سانتی‌پویز رسیده است. شایان ذکر است که در شربت میوه، هدف از افزودن پکتین تنها افزایش دادن

استفاده از ۰/۷ درصد پکتین تفاله چغندر در آن، ویسکوزیته به ۳۹۲۳ سانتی‌پویز افزایش یافته است. در مورد سس B نیز ویسکوزیته نمونه شاهد ۳۱۷۰ سانتی‌پویز بوده است، و با کاربرد ۰/۷ درصد پکتین تفاله چغندر قند ویسکوزیته آن به ۳۹۶۳ سانتی‌پویز رسیده است. از این نتایج می‌توان دریافت که پکتین تولیدی از تفاله چغندر به منظور افزایش ویسکوزیته سس کچاپ قابل استفاده بوده و کارایی قابل قبولی دارد. در آزمونی دیگر، پکتین استخراجی از تفاله چغندر با غلظت‌های ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷ درصد در نوعی شربت میوه (شربت پرتقال) استفاده شد، و نتایج حاصل از نظر ویسکوزیته،



نمودار ۵. تغییرات ویسکوزیته شربت پرتقال با کاربرد غلظت‌های مختلف پکتین تفاله چغندر و پکتین تجاری مرکبات (بریکس $67/5 \pm 0/5$ درصد، $pH=2/9-3/1$) (حروف متفاوت نمایانگر معنی‌دار بودن اختلاف هستند و غلظت صفر پکتین مربوط به نمونه‌های شاهد است).



نمودار ۶. مقایسه ویسکوزیته و وضعیت ایجاد ژل در محلول‌های شکر (با غلظت $68 \pm 0/5$ درصد) محتوی غلظت‌های مختلف پکتین تفاله چغندر در دو سطح $pH=3-3/2$ و $pH=10-10/5$ (حروف متفاوت نمایانگر معنی‌دار بودن اختلاف هستند).

در محلول‌های شکر، استفاده از pH بالا است. این مسئله در شرایط مختلف pH قلیایی بررسی شد، و چون در pH حدود $10-10/5$ تأثیر بهتری مشاهده گردید، مقایسه آن با اثر pH حدود $3-3/2$ انجام شد. نمودار ۶ مربوط به نتایج این بررسی است. ملاحظه می‌شود که در pH حدود $10-10/5$ ، اولاً در غلظت‌های مختلف پکتین چغندر به کار رفته در محلول‌های شکر، در مقایسه با همان غلظت‌ها در pH حدود $3-3/2$ ، ویسکوزیته زیادتری پدید آمده است، و ثانیاً در غلظت $1/5$ و 2

ویسکوزیته و قوام بوده، و ایجاد ژل اصولاً در چنین محصولی مد نظر نیست.

آزمایش‌های مربوط به شربت میوه با دستگاه بوستویک نیز انجام شد، و از نظر مقایسه قوام ایجاد شده توسط دو نوع پکتین مذکور، نتایج مشابه بررسی ویسکوزیته آنها به دست آمد.

اثر pH بالا بر ویژگی ایجاد ژل توسط پکتین

آزمایش‌های انجام شده در این پژوهش نشان داد که یکی از روش‌های تقویت خاصیت ایجاد ژل توسط پکتین چغندر قند

میزان ۰/۵ درصد، تغییر چندانی در عطر و طعم غذا، در مقایسه با پکتین تجاری مرکبات پدید نیآورده است. هم‌چنین، نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد که کاربرد ۰/۵ درصد پکتین تفاله چغندر در دو نوع سس کچاپ، از نظر رنگ اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های پکتین تجاری مرکبات ایجاد نکرده است. ولی در مورد شربت پرتقال، که رنگ روشنی دارد، کاربرد پکتین تفاله چغندر موجب تغییر رنگ معنی‌دار در مقایسه با نمونه‌های شاهد شده است. از این رو، می‌توان دریافت که در شربت‌ها و مواد غذایی دارای رنگ روشن، پکتین تفاله چغندر تا حدی بر رنگ اثر می‌گذارد، ولی در مواد غذایی با رنگ تیره‌تر مانند سس کچاپ تغییر محسوسی در رنگ بروز نمی‌کند.

نتیجه‌گیری

کاربرد پکتین تولیدی از تفاله چغندر قند، با روش ارائه شده در این پژوهش، در مقایسه با پکتین تجاری مرکبات در شرایط معمول ایجاد ژل در مواد غذایی، از نظر توان ایجاد ژل ضعیف است. از جنبه ویژگی افزایش قوام و ویسکوزیته نیز، گرچه عملکردی کمتر از پکتین تجاری مرکبات دارد، ولی این عملکرد در حدی هست که بتوان از آن به عنوان ماده افزایش دهنده قوام و ویسکوزیته در برخی مواد غذایی مانند سس کچاپ (در حد ۰/۵ درصد) استفاده کرد.

سپاسگزاری

از کلیه مسئولین محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی و دانشگاه شیراز، به ویژه آقای دکتر رونقی که در تصویب و تأمین هزینه‌ها و امکانات اجرای این طرح عنایت فرموده‌اند، و از همه کارکنان بخش علوم و صنایع غذایی، به ویژه آقای حسین اسفندیاری که در اجرای بخش‌های مختلف پژوهش یاری

درصد پکتین چغندر در pH حدود ۱۰-۱۰/۵، ژل‌های مستحکمی ایجاد شده، در حالی که در pH حدود ۳-۳/۲، حتی در غلظت دو درصد پکتین چغندر، ژل ایجاد شده ضعیف بوده است. در مورد پکتین تجاری مرکبات نیز افزایش زیاد ویسکوزیته و تقویت شدید قدرت ایجاد ژل در محلول‌های شکر با pH حدود ۱۰-۱۰/۵ دیده شد. علت تقویت ویژگی ایجاد ژل توسط پکتین‌ها در چنین pH زیادی، احتمالاً می‌تواند به یونیزه شدن کامل گروه‌های کربوکسیل در مولکول‌های گالاکتورونیک اسید موجود در رشته‌های پکتین، و ایجاد شرایط بهتر برای تشکیل اتصالات بین رشته‌ای مربوط باشد. البته، یادآوری این نکته بسیار مهم ضروری است که شرایط pH در حد ۱۰-۱۰/۵ در تولید مواد غذایی امکان کاربرد عملی ندارد، ولی شاید در تولید برخی مواد دارویی و بهداشتی بتوان کاربردی برای آن پیدا کرد.

بررسی اثر پکتین تفاله چغندر بر عطر، طعم و رنگ غذا

پکتین به کار رفته در تولید مواد غذایی تا حد امکان نباید موجب بروز عطر و طعم خاص و تغییر رنگ در آنها شود. بنابراین، بخش دیگری از این پژوهش به بررسی این نکته پرداخته شد که آیا پکتین تولید شده از تفاله چغندر قند در مقایسه با پکتین تجاری بر عطر و طعم و رنگ مواد غذایی اثر محسوسی می‌گذارد؟

نتایج این بررسی، که به روش آزمون سه‌تایی در دو نوع سس کچاپ و یک نوع شربت میوه (شربت پرتقال) انجام گرفت، در جدول‌های ۳ و ۴ آمده است.

بر پایه نتایج جدول ۳، افراد آزمون کننده، میان نمونه‌های غذایی دارای پکتین تفاله چغندر و نمونه‌های محتوی پکتین تجاری مرکبات اختلاف معنی‌داری از نظر عطر و طعم تشخیص ندادند. به سخن دیگر، می‌توان گفت که پکتین تفاله چغندر به

جدول ۳. تأثیر پکتین تفاله چغندر (در حد ۰/۵ درصد) بر عطر و طعم دو نوع سس کچاپ و یک نوع شربت میوه

| ویژگی | شمار آزمون | شمار پاسخ | حداقل پاسخ درست ^۱ برای معنی دار | وضعیت معنی دار |
|----------------|------------|----------------------------------|--|----------------|
| نوع ماده غذایی | درست | بودن اختلاف در سطح $\alpha=0/05$ | بودن اختلاف | |
| سس کچاپ A | ۴۵ | ۱۵ | ۲۱ | معنی دار نبود |
| سس کچاپ B | ۴۵ | ۱۱ | ۲۱ | معنی دار نبود |
| شربت پرتقال | ۴۵ | ۱۳ | ۲۱ | معنی دار نبود |

۱. براساس جدول آماری رزلی و همکاران (به نقل از ۱۶)

جدول ۴. تأثیر پکتین تفاله چغندر (در حد ۰/۵ درصد) بر رنگ دو نوع سس کچاپ و یک نوع شربت میوه

| ویژگی | شمار آزمون | شمار پاسخ | حداقل پاسخ درست ^۱ برای معنی دار | وضعیت معنی دار |
|----------------|------------|----------------------------------|--|----------------|
| نوع ماده غذایی | درست | بودن اختلاف در سطح $\alpha=0/05$ | بودن اختلاف | |
| سس کچاپ A | ۴۵ | ۱۰ | ۲۱ | معنی دار نبود |
| سس کچاپ B | ۴۵ | ۱۳ | ۲۱ | معنی دار نبود |
| شربت پرتقال | ۴۵ | ۲۳ | ۲۱ | معنی دار بود |

۱. براساس جدول آماری رزلی و همکاران (به نقل از ۱۶)

کرده‌اند، و هم‌چنین از مسئولین محترم سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی، مخصوصاً آقایان مهندس عمرانیان و دکتر باعزت، به خاطر مساعدت در اجرای بخشی از پژوهش، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

- Arslan, N. 1995. Extraction of pectin from sugar beet pulp and intrinsic viscosity-molecular weight relationship of pectin solutions. *J. Food Sci. Tech. Mysore*. 32(5): 381-385.
- DeVries, J. A. 1986. Distribution of methoxyl groups in pectins. *Carbohydr. Polymers* 6: 165-176.
- Dravill, A. 1980. The primary cell walls of flowering plants. PP. 91-161. *In: The Biochemistry of Plants*. Academic Press, New York.
- El-Shamei, Z. and M. El-Zoghbi. 1994. Production of natural clouding agents from orange and lemon peels. *Nahrung* 38: 158.
- Fogarty, W. M. and O. P. Ward. 1974. pectinases and pectic polysaccharides. P. 59. *In: Progress in Industrial Microbiology*. Churchill Privingstone, Edinburgh.
- Fox, G. 1994. Process for recovery of pectin extract from sugar beet and its use. German Federal Republic Patent, DE 43, 13, 549, CL.
- Hang, Y. D. and R. H. Walter. 1989. Treatment and utilization of apple processing wastes. P. 370. *In: Processed Apple Products*. AVI, Van Nostrand, Reinhold, New York.
- Hodgson, A. S. and L. H. Kerr. 1991. Tropical fruit products. PP. 67-86. *In: The Chemistry and Technology of Pectin*. Academic Press, New York.

9. Hoefler, A. C. 1991. Other pectin food products. PP. 51-66. *In: The Chemistry and Technology of Pectin.* Academic Press, New York.
10. Horwitz, W. 1975. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 12th ed. P. 129, 553 and 557, Washington, D.C.
11. Jarvis, M. C. 1988. A survey of pectin content of nonlignified monocot cell walls. *Plant Physiol.* 88: 309-314.
12. Jellinek, G. 1990. Sensory Evaluation of Food, Theory and Practice. Ellis Horwood, England.
13. Jongen, W. M. 1987. Inhibitory effect of cheese and some food constituents on mutagenicity. *Food Chem. Toxicol.* 25: 141-145.
14. Karapvich, N. 1989. Production of pectin from sugar beet pulp. USSR Patent, SU 1, 507, 293.
15. Keller, J. 1984. Commercially important pectin substances. PP. 418-437. *In: Food Hydrocolloids.* AVI, Westport, Connecticut.
16. Kertesz, Z. I. 1951. Beet pectin. PP. 463-466. *In: The Pectic Substances.* Interscience, New York.
17. McCready, R. M. 1970. Pectins. PP. 565-599. *In: Methods in Food Analysis.* Academic Press, New York.
18. Michel, F., J. F. Thibault and C. Mercier. 1985. Extraction and characterization of pectins from sugar beet pulp. *J. Food Sci.* 50: 1499-1502.
19. Phatak, L., K. C. Chang and G. Brown. 1988. Isolation and characterization of pectin in sugar beet pulp. *J. Food Sci.* 53(3): 830-833.
20. Pilgrim, G. W. 1991. Jam, jellies and preserves. PP. 23-50. *In: The Chemistry and Technology of Pectin.* Academic Press, New York.
21. Rombouts, F. M. and J. F. Thibault. 1986. Feruloylated pectic substances from sugar beet pulp. *Carbohydr. Res.* 154: 177-188.
22. Ryden, P. and R. R. Selvendran. 1990. Structural features of cell wall polysaccharides of potato. *Carbohydr. Res.* 195: 257-272.
23. Thakur, B. R. 1997. Chemistry and uses of pectin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 37(1): 47-73.
24. Thibault, J. F. 1991. Gelation of sugar beet pectin by oxidative coupling. PP. 119-133. *In: The Chemistry and Technology of Pectin.* Academic Press, New York.
25. Thibault, J. F. 1988. Characterization and oxidative cross-linking of sugar beet pectins extracted from cossettes and pulps under different conditions. *Carbohydr. Polym.* 8: 209-223.
26. Thibault, J. F. and F. M. Rombouts. 1986. Effect of some oxidizing agents and especially ammonium persulfate on sugar beet pectins. *Carbohydr. Res.* 154: 205-216.
27. Towel, G. A. and O. Christensen. 1959. Pectin. P. 377. *In: Industrial Gums.* Academic Press, New York.
28. Van Buren, J. P. 1991. Function of pectin in plant tissue structure and firmness. PP. 3-4. *In: The Chemistry and Technology of Pectin.* Academic Press, New York.
29. Vennigerhotz, F. and B. Wales. 1987. Cytochemical studies of pectin in epidermis with specific cell separation. *Protoplasma.* 140: 110-117.
30. Vserossiikii, Z. 1992. Extraction of sugar beet pectin. *Pishchevaya Promyshlennost*, No. 12, 18-19, USSR.