

(OPEN ACCESS)

## Extraction of pectin from lime peel using ultrasound: Modeling and optimization of process parameters

Seyedeh Motahareh Mohseni Shektai<sup>1</sup>, Seyed Majid Zabihzadeh<sup>\*2</sup>,  
Maryam Ghorbani Kokandeh<sup>3</sup>, Ghasem Asadpour<sup>4</sup>

1. Ph.D. Student of Cellulosic Industry, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: [motahareh66mohseni@gmail.com](mailto:motahareh66mohseni@gmail.com)
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Wood and Cellulosic Products Engineering, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: [m.zabihzadeh@sanru.ac.ir](mailto:m.zabihzadeh@sanru.ac.ir)
3. Professor, Dept. of Wood and Cellulosic Products Engineering, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: [ghorbani-mary@yahoo.com](mailto:ghorbani-mary@yahoo.com)
4. Associate Prof., Dept. of Wood and Cellulosic Products Engineering, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: [asadpour2002@yahoo.com](mailto:asadpour2002@yahoo.com)

| Article Info                                                                                                                    | ABSTRACT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Article type:</b><br>Full Length Research Paper                                                                              | <b>Background and Objectives:</b> In recent years, the sustainable utilization and valorization of agricultural residues within the framework of green chemistry principles have received increasing attention. Pectin, as an efficient biopolymer with notable gelling ability, biocompatibility, and biodegradability, represents a promising candidate for developing edible and bio-based packaging materials and for replacing petroleum-derived synthetic plastics. Lemon peel, a low-value by-product of the juice industry, serves as a rich and economical source of high-quality pectin. Conventional pectin extraction methods based on heat and mineral acids not only pose environmental and operational challenges but also degrade the molecular structure of pectin, thereby reducing its functional performance in packaging applications. Accordingly, this study aimed to optimize pectin extraction from lemon peel using ultrasound-assisted technology and response surface methodology (RSM) to determine the optimal processing conditions for achieving maximum yield and suitability for bio-based packaging applications. |
| <b>Article history:</b><br>Received: 11.22.2025<br>Revised: 11.29.2025<br>Accepted: 12.08.2025                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Keywords:</b><br>Box–Behnken design,<br>Green extraction,<br>Pectin,<br>Response surface<br>methodology (RSM),<br>Ultrasound |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|                                                                                                                                 | <b>Materials and Methods:</b> Fresh lime peel was washed, separated, dried, and ground to prepare it for pectin extraction. The extraction was carried out in a citric acid solution under the influence of three ultrasound amplitude levels (60, 80, and 100%), three extraction times (4, 8, and 12 minutes), and three pH levels (1, 2, and 3). The solid-to-liquid ratio was maintained at 1:15 (w/v) for all treatments. The extracted pectin was precipitated using ethanol, then dried and milled into a uniform powder, and its yield was determined gravimetrically. Experimental design was performed using a Box–Behnken Design within the framework of response surface methodology. Data analysis was conducted using Design Expert V13 software, and a second-order polynomial model was developed to describe the main, quadratic, and interactive effects of the extraction variables. Model adequacy was evaluated through a set of statistical tests,                                                                                                                                                                             |

---

including analysis of variance, coefficient of determination, adequate precision, and residual analysis.

**Results:** The proposed model demonstrated an excellent fit to the experimental data ( $R^2=0.9957$ , Adjusted  $R^2=0.9878$ , Predicted  $R^2=0.9306$ ,  $CV=5.02\%$ ). The lack-of-fit test was non-significant ( $P>0.05$ ), confirming the validity and adequacy of the model. Scatter plots and normal probability plots of the residuals further indicated normally distributed errors, absence of outliers, and satisfactory homogeneity. According to the ANOVA results, pH was identified as the most influential factor governing pectin extraction yield ( $P<0.0001$ ,  $\beta= +23.39$ ), while ultrasound amplitude and extraction time exhibited positive but less pronounced effects. Using Derringer's desirability function, the optimal extraction conditions were determined as 88.42% amplitude, 10.48 min extraction time, and pH 1.04. Under these conditions, the predicted pectin yield was 48.13% with an overall desirability of 1.00. A confirmatory experiment conducted under the same conditions produced an actual yield of 46.16%, and the small deviation between predicted and experimental values confirmed the high accuracy and reliability of the optimization model.

**Conclusion:** Ultrasound technology, as an efficient method aligned with green chemistry principles, exhibits high effectiveness in extracting pectin from plant-based sources. Integrating this technique with statistical modeling via response surface methodology (RSM) enables accurate prediction of process behavior, simultaneous optimization of influential factors, and substantial reduction in the number and cost of experiments. The findings of this study showed that acidic conditions and high ultrasonic amplitudes significantly enhance pectin extraction yield. The pectin obtained through this green method also exhibits desirable properties for application in edible film production and bio-based packaging. Overall, the results provide a scientific and practical framework for the industrial valorization of citrus waste and the production of high value-added biopolymers in green packaging. These outcomes can support the development of sustainable technologies based on pectin–cellulose systems as alternatives to conventional plastic packaging.

---

Cite this article: Mohseni Shektai, Seyedeh Motahareh, Zabihzadeh, Seyed Majid, Ghorbani Kokandeh, Maryam, Asadpour, Ghasem. 2025. Extraction of pectin from lime peel using ultrasound: Modeling and optimization of process parameters. *Journal of Wood and Forest Science and Technology*, 32 (3), 105-125.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/jwfst.2025.24303.2138

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

---

## استخراج پکتین از پوست لیموترش با کمک امواج فراصوت: مدل سازی و بهینه سازی پارامترهای فرآیند

سیده مطهره محسنی شکتائی<sup>1</sup>، سید مجید ذبیح زاده<sup>2\*</sup>، مریم قربانی کوکنده<sup>3</sup>، قاسم اسدپور<sup>4</sup>

1. دانشجوی دکتری صنایع سلولزی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: [motahareh66mohseni@gmail.com](mailto:motahareh66mohseni@gmail.com)
2. نویسنده مسئول، دانشیار گروه چوب و فرآورده‌های سلولزی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: [m.zabihzadeh@sanru.ac.ir](mailto:m.zabihzadeh@sanru.ac.ir)
3. استاد گروه چوب و فرآورده‌های سلولزی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: [ghorbani-mary@yahoo.com](mailto:ghorbani-mary@yahoo.com)
4. دانشیار گروه چوب و فرآورده‌های سلولزی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: [asadpour2002@yahoo.com](mailto:asadpour2002@yahoo.com)

| اطلاعات مقاله                                                                                        | چکیده                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>نوع مقاله:</b><br>مقاله کامل علمی - پژوهشی                                                        | <b>سابقه و هدف:</b> در سال‌های اخیر، بهره‌برداری پایدار و ارزش‌افزایی ضایعات کشاورزی در چارچوب اصول شیمی سبز مورد توجه گسترده قرار گرفته است. پکتین به‌عنوان یک زیست‌پلیمر کارآمد با ویژگی‌های ژل‌دهندگی، زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری، گزینه‌ای مناسب برای تولید بسته‌بندی‌های خوراکی و زیست‌پایه و جایگزینی پلاستیک‌های مشتق از نفت به شمار می‌رود. پوست لیموترش، به‌عنوان یکی از فرآورده‌های جانبی کم‌ارزش صنایع آبمیوه‌گیری، منبعی غنی و اقتصادی برای تولید پکتین با کیفیت بالا است. روش‌های مرسوم استخراج پکتین بر پایه حرارت و اسیدهای معدنی، علاوه بر چالش‌های زیست‌محیطی، موجب تخریب ساختار مولکولی و افت کیفیت عملکردی آن می‌شوند. در این پژوهش، با بهره‌گیری از فناوری فراصوت و مدل‌سازی سطح پاسخ (RSM)، شرایط بهینه استخراج پکتین از پوست لیموترش تعیین شد تا امکان دستیابی به بیش‌ترین بازده و کاربرد مؤثر آن در بسته‌بندی‌های زیست‌پایه فراهم شود. |
| <b>تاریخ دریافت:</b> 1404/09/01<br><b>تاریخ ویرایش:</b> 1404/09/08<br><b>تاریخ پذیرش:</b> 1404/09/17 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>واژه‌های کلیدی:</b><br>استخراج سبز، پکتین، روش سطح پاسخ (RSM)، طراحی باکس بنکن، فراصوت            | <b>مواد و روش‌ها:</b> پوست تازه لیموترش پس از جداسازی، شست‌وشو، خشک‌سازی و آسیاب، برای استخراج پکتین آماده شد. استخراج در محیط محلول سیتریک اسید و تحت تأثیر متغیرهای دامنه امواج فراصوت (60، 80 و 100 درصد)، زمان فرآیند (4، 8 و 12 دقیقه) و pH (1، 2 و 3) انجام گرفت. نسبت جامد به مایع در تمامی تیمارها برابر 1:15 (وزنی/ حجمی) بود. پکتین استخراج‌شده با اتانول رسوب داده شد، سپس خشک و به‌صورت پودر یکنواخت تهیه گردید و                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

بازده آن به روش وزنی محاسبه شد. طراحی آزمایش‌ها بر اساس طرح باکس- بنکن در چارچوب روش سطح پاسخ انجام گرفت. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار Design Expert V13 انجام شد و مدل چندجمله‌ای درجه دوم برای تبیین اثرات اصلی، درجه دوم و متقابل عوامل استخراج توسعه یافت. اعتبار مدل از طریق مجموعه‌ای از آزمون‌های آماری شامل تحلیل واریانس، ضریب تعیین، نسبت دقت کافی و تحلیل مانده‌ها ارزیابی شد.

**یافته‌ها:** مدل پیشنهادی برازش بسیار مطلوبی با داده‌های تجربی نشان داد ( $R^2=0/9957$ ).  $Adjusted R^2=0/9878$ ,  $Predicted R^2=0/9306$ ,  $CV=0/02$ . آزمون عدم برازش نیز معنی‌دار نبود ( $P>0/05$ ) که صحت و کفایت مدل را تأیید می‌کند. بررسی نمودارهای پراکندگی و احتمال نرمال مانده‌ها نیز بیانگر نرمال بودن خطاها، نبود نقاط پرت و یکنواختی مناسب پراکنش مانده‌ها بود. بر اساس تحلیل واریانس، pH مؤثرترین عامل کنترل‌کننده بازده استخراج پکتین شناخته شد ( $P<0/001$ ,  $\beta=+23/39$ )؛ درحالی‌که دامنه امواج و زمان استخراج نیز اثرات مثبت، اما کم‌تر از pH داشتند. با استفاده از تابع مطلوبیت درینگر، شرایط بهینه استخراج شامل دامنه ۸۸/۴۲ درصد، زمان ۱۰/۴۸ دقیقه و pH برابر با ۱/۰۴ تعیین گردید. تحت این شرایط، بازده پیش‌بینی‌شده برابر با ۴۸/۱۳ درصد و سطح مطلوبیت کلی برابر با ۱۰۰ درصد بود. انجام آزمایش تأییدی در همین شرایط منجر به بازده تجربی ۴۶/۱۶ درصد شد که اختلاف اندک میان مقادیر پیش‌بینی‌شده و تجربی، اعتبار و دقت بالای مدل بهینه‌سازی را تأیید می‌کند.

**نتیجه‌گیری:** امواج فراصوت به‌عنوان روشی کارآمد و سازگار با اصول شیمی سبز، کارایی بالایی در استخراج پکتین از منابع گیاهی نشان می‌دهند. ترکیب این فناوری با مدل‌سازی آماری مبتنی بر روش سطح پاسخ، امکان پیش‌بینی دقیق رفتار فرآیند، بهینه‌سازی هم‌زمان عوامل مؤثر و کاهش تعداد و هزینه آزمایش‌ها را فراهم می‌کند. یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که شرایط اسیدی و دامنه بالای امواج فراصوت به‌طور معنی‌داری موجب افزایش بازده استخراج پکتین می‌شود. پکتین حاصل از این روش سبز نیز ویژگی‌های مطلوبی برای کاربرد در تولید فیلم‌های خوراکی و بسته‌بندی‌های زیست‌پایه دارد. به‌طورکلی، نتایج این مطالعه چارچوبی علمی و کاربردی برای بهره‌برداری صنعتی از ضایعات مرکبات و تولید زیست‌پلیمرهای با ارزش افزوده در صنعت بسته‌بندی سبز ارائه می‌کند و می‌تواند زمینه‌ساز توسعه فناوری‌های پایدار مبتنی بر سامانه‌های پکتین- سلولز باشد.

استناد: محسنی شکنتائی، سیده مطهره، ذبیح‌زاده، سید مجید، قربانی کوکنده، مریم، اسدپور، قاسم (۱۴۰۴). استخراج پکتین از پوست لیموترش با کمک امواج فراصوت: مدل‌سازی و بهینه‌سازی پارامترهای فرآیند. نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل، ۳۲ (۳)، ۱۰۵-۱۲۵.

DOI: 10.22069/jwfst.2025.24303.2138



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

## مقدمه

در سال‌های اخیر، ارزش‌افزایی پسماندهای کشاورزی- صنعتی به‌عنوان رویکردی هوشمندانه و پایدار مورد توجه گسترده قرار گرفته است؛ رویکردی که باید بر پایه اصول شیمی سبز و با بهره‌گیری از روش‌های کارآمد، تکرارپذیر و سازگار با محیط‌زیست دنبال شود (1). استخراج و تصفیه ترکیبات فعال زیستی از این پسماندها نه تنها پاسخی مؤثر به چالش‌های اقتصادی به شمار می‌آید، بلکه می‌تواند در تأمین نیازهای روزافزون اجتماعی و محیط‌زیستی نیز نقش‌آفرین باشد و به‌طور ویژه در تحول صنایع غذایی و دارویی سهمی اساسی ایفا کند (2). بر اساس گزارش سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO<sup>1</sup>)، سالانه بیش از 8 میلیون تن پوست لیموترش به‌عنوان پسماند صنایع فراوری مواد غذایی و آب‌میوه‌گیری در سراسر جهان تولید می‌شود (3). مدیریت بهینه و ارزش‌بخشی به این ضایعات، می‌تواند نقشی کلیدی در کاهش بار محیط‌زیستی، توسعه فناوری‌های پایدار و تقویت اقتصاد چرخشی داشته باشد (4).

پوست لیموترش به‌عنوان ماده‌ای باارزش، حاوی مجموعه‌ای غنی از مولکول‌های زیستی مهم از جمله کربوهیدرات‌ها، پلی‌فنول‌ها و تری‌ترپن‌ها است که استخراج آن‌ها می‌تواند زمینه‌ساز توسعه فناوری‌های زیست‌پایه و ارتقای کیفیت محصولات نهایی باشد (5). در این میان، پکتین- پلی‌ساکارید کلیدی دیواره سلولی گیاهان- جایگاه ویژه‌ای داشته و قابلیت بازیابی آن از منابعی همچون تفاله مرکبات، سیب و سایر توده‌های زیستی گیاهی به‌خوبی شناخته شده است (6). پکتین به‌عنوان پلیمر کربوهیدراتی، در صنعت غذا کاربردهای گسترده‌ای دارد و به‌عنوان عامل ژل‌کننده، غلیظ‌کننده و پایدارکننده مورد استفاده قرار می‌گیرد. افزون بر این، نقش آن به‌عنوان جایگزین

چربی و نیز یک ترکیب عملکردی ارتقادهنده سلامت، مورد تأیید مطالعات متعدد قرار گرفته است (7). دامنه کاربرد پکتین استخراجی از پوست لیموترش فراتر از صنایع غذایی بوده و در صنایع دارویی و بهداشتی، به‌ویژه در فرمولاسیون سامانه‌های دارورسانی (9)، تولید محصولات درمانی و ترکیبات بهبوددهنده سلامت، رو به گسترش است (8، 10). این پلی‌ساکارید به دلیل ویژگی‌هایی همچون تحریک سیستم ایمنی و توانایی کلات‌سازی فلزات سنگین اهمیت فزاینده‌ای یافته است (11). بر اساس داده‌های جدید، پکتین‌های اصلاح‌شده مرکبات قادرند سطح سرب خون و پیامدهای ناشی از سمیت فلزات سنگین را کاهش دهند و همچنین از طریق فعال‌سازی سلول‌های هدف در سیستم ایمنی، فعالیت‌های ضدسرطانی از خود نشان دهند (10، 12). مطالعات پژوهشی گسترده‌ای به استخراج پکتین از تفاله مرکبات اختصاص یافته است. در مقیاس صنعتی، هرچند شرایط فرآیندی متنوعی مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما رویکرد غالب مبتنی بر به‌کارگیری محلول آب- اسیدهای معدنی (سولفوریک، نیتریک، فسفریک و هیدروکلریک اسید) با pH حدود 1/5 و حرارت‌دهی در دمای بیش از 80 °C است. در ادامه، رسوب‌دهی پکتین معمولاً با استفاده از اتانول با غلظت‌های 70 تا 100 درصد انجام می‌شود (13). اگرچه این مجموعه پارامترها منجر به استخراج مؤثر پکتین می‌گردند، اما با پیامدهای نامطلوبی همراه هستند که از جمله می‌توان به سایش تجهیزات، تولید پساب‌های اسیدی و آلودگی محیط‌زیست اشاره کرد. این عوامل چالش‌های جدی محیط‌زیستی و اقتصادی در مقیاس صنعتی ایجاد می‌کنند (14). در پاسخ به این محدودیت‌ها، پژوهش‌های آزمایشگاهی متعددی با هدف بهینه‌سازی و ارتقای پایداری فرآیند استخراج انجام شده است. این تلاش‌ها شامل ارزیابی استفاده از اسیدهای آلی، حلال‌های یوتکتیک، فرآیندهای آنزیمی

و نیز بهره‌گیری از رویکردهای کمکی مانند مایکروویو، فرکانس رادیویی، فراصوت یا ترکیب این فناوری‌ها است (15، 16).

در این راستا، فراصوت به‌عنوان روشی سریع، کارآمد و قابل‌اعتماد برای حفظ فعالیت زیستی اجزای غذایی، بهبود عملکرد فرآیند و افزایش بازده استخراج مطرح شده است (17). فناوری فراصوت از طریق تولید امواج صوتی با انرژی بالا و ایجاد نیروهای برشی شدید و پدیده کاویتاسیون در محیط‌های مایع، منجر به تشکیل و فروپاشی حباب‌ها و در پی آن تخریب غشاهای زیستی می‌شود. این فرایند، نفوذ حلال به درون ساختار سلولی را تسهیل کرده و آزادسازی ترکیبات قابل‌استخراج را افزایش می‌دهد (18). رخدادهای ناشی از کاویتاسیون به‌طور مستقیم سبب افزایش سرعت انتقال جرم، کاهش زمان فرآوری و درنهایت افزایش بازده استخراج می‌گردند (19، 20).

مطالعه حسینی و همکاران در زمینه استخراج پکتین از پوست لیموترش با استفاده از فراصوت نشان داد که اعمال شدت توان 150 وات، pH برابر 1/5 و زمان فرآوری 10 دقیقه، منجر به دستیابی به بازده 28 درصدی می‌شود؛ مقداری که به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از روش‌های سنتی گزارش شده است. در این مطالعه هم‌چنین کاهش چشمگیر مصرف انرژی و حداقل‌سازی تخریب ساختاری پکتین به‌عنوان مزایای قابل‌توجه این روش بیان شده است (20). نتایج سایر پژوهش‌ها نیز کارایی فناوری فراصوت را در بهبود بازده و کیفیت ساختاری پکتین تأیید کرده‌اند. به‌عنوان نمونه، ژو و همکاران گزارش کردند که بالاترین میزان استخراج در تیمار ترکیبی حرارتی - فراصوت و تحت شرایط دمای پایین و زمان کوتاه به‌دست‌آمده است (21). همکاران، استفاده از محلول سیتریک اسید در فرآیند فراصوت به مدت 30 دقیقه نشان داده است که در

دامنه بالای فراصوت و pH پایین، بیش‌ترین بازده استخراج پکتین (9/1 درصد) حاصل می‌شود (22). صرف‌نظر از روش استخراج، متغیرهای فرآیندی هم‌چون دامنه فراصوت، pH، زمان استخراج و نوع حلال مورد استفاده، تأثیر تعیین‌کننده‌ای بر کیفیت و کمیت پکتین دارند. به‌گونه‌ای که افزایش مدت‌زمان استخراج و دمای بالاتر - اگرچه ممکن است موجب افزایش بازده شود - اما معمولاً سبب کاهش وزن مولکولی و افت گرانیوی محلول پکتین می‌گردد (25). افزون بر این، کاهش pH محلول استخراج‌کننده منجر به افزایش درجه استری شدن و افزایش تعداد گروه‌های کربوکسیلیک موجود بر زنجیره پلی‌گالاکتورونیک می‌شود؛ رخدادی که درنهایت ظرفیت انحلال‌پذیری پکتین را محدود کرده و موجب کاهش گرانیوی ظاهری محلول‌ها می‌شود (26). این رفتار به کاهش توانایی پکتین در ایجاد پیوندهای هیدروژنی با مولکول‌های آب و تضعیف شبکه ژل نسبت داده می‌شود. بر این اساس، برای دستیابی به پکتین با کیفیت بالا و بازده استخراج مطلوب، بهینه‌سازی دقیق پارامترهای فرآیندی امری ضروری و راهبردی به شمار می‌رود (27).

در این زمینه، روش سطح پاسخ ( $RSM^1$ ) به‌عنوان یک ابزار قدرتمند آماری و طراحی آزمایش، امکان تحلیل هم‌زمان متغیرهای اثرگذار بر فرآیند و ارتقای بازده استخراج را فراهم می‌سازد (28). این رویکرد در مطالعات متعدد برای بهینه‌سازی و مدل‌سازی استخراج ترکیبات زیستی از منابع گوناگون به‌کاررفته است (29، 30) و کارآمدی آن در بررسی اثر چندین عامل کمی بر پاسخ‌های فرآیندی از جمله بازده استخراج پکتین به‌خوبی تأیید می‌کند. به‌طورکلی، پوست لیموترش نه‌تنها منبعی ارزان‌قیمت و کارآمد برای تولید پکتین با کیفیت بالا به‌شمار می‌آید، بلکه بهره‌گیری از فناوری‌های نوینی هم‌چون فراصوت

فرصت‌های ارزشمندی برای افزایش بازده، کاهش هزینه‌های انرژی، حفظ خواص زیست‌فعال و توسعه اقتصادی صنایع زیست‌پایه فراهم می‌آورد (31، 32). توسعه و ترویج این رویکرد در سطح ملی و بین‌المللی می‌تواند نقش پررنگی در کاهش بار محیط‌زیستی ضایعات مرکبات، ایجاد ارزش افزوده مطلوب و تقویت جایگاه فرآورده‌های طبیعی در بازار جهانی ایفا کند؛ به‌گونه‌ای که با مهندسی فرآیند و بهینه‌سازی پارامترهای استخراج، زمینه بنیان‌گذاری یک صنعت پایدار و سازگار با محیط‌زیست فراهم شود (13، 19).

درمجموع، استقرار و ترویج فناوری‌های سبز و نوین استخراج از جمله فراصوت، نه تنها هزینه‌های محیط‌زیستی و عملیاتی مرتبط با فرآیند استخراج پکتین را کاهش می‌دهد، بلکه با حفظ و بهبود ویژگی‌های ساختاری، عملکردی و زیستی این پلی‌ساکارید، مسیر توسعه تولید پایدار و تقویت اقتصاد زیستی را تسهیل می‌کند (33). به‌کارگیری این رویکردها می‌تواند راهکاری مؤثر برای مقابله با محدودیت‌های موجود در بازار پکتین فراهم آورد و نقش قابل‌توجهی در پیشبرد صنعت غذا و ارتقای سلامت جامعه ایفا نماید.

در دو دهه اخیر، پژوهش‌های گسترده‌ای به استخراج پکتین از مواد غذایی مختلف با استفاده از روش‌های مرسوم و فناوری‌های نوین اختصاص یافته است. بر این اساس، فرضیه اصلی مطالعه حاضر بر مبنای وجود مقادیر قابل‌توجه پکتین در پوست لیموترش شکل گرفت و بررسی شد که بازده استخراج تا چه اندازه تحت‌تأثیر شرایط بهینه فرآیندی قرار می‌گیرد. در همین راستا، این پژوهش با به‌کارگیری روش سطح پاسخ به بهینه‌سازی پارامترهای فرآیندی پرداخته است تا امکان استخراج پکتین با بازده مطلوب از پوست لیموترش فراهم شود. نتایج این پژوهش می‌تواند نقشی مؤثر در ارتقای پایداری

زنجیره ارزش محصولات کشاورزی و کاهش اثرات محیط‌زیستی ناشی از ضایعات میوه ایفا کند. افزون بر این، فراهم‌سازی منبعی طبیعی، در دسترس و اقتصادی از پکتین برای صنایع غذایی، دارویی و بسته‌بندی، از دیگر پیامدهای مثبت این رویکرد است. این فرآیند زمینه ایجاد درآمد برای بخش کشاورزی را تقویت می‌کند و ارزش اقتصادی جدیدی برای منابع ضایعاتی تعریف کرده و آن‌ها را به بخشی سودآور از اقتصاد زیستی تبدیل می‌سازد.

### مواد و روش‌ها

**مواد شیمیایی:** سیتریک اسید از شرکت مرک آلمان، اتانول مطلق و 96 درصد از شرکت مجلی ایران تهیه شدند.

**آماده‌سازی نمونه:** در این پژوهش، لیموترش (*Citrus aurantifolia* L.) از بازار شهر ساری، استان مازندران، ایران تهیه شد. میوه‌ها پیش از پوست‌گیری به‌طور کامل شست‌وشو شدند تا هرگونه آلودگی سطحی و ذرات خارجی حذف شود. پس از جداسازی آلبیدو، جهت کاهش طعم تلخ ناشی از حضور گلیکوزیدها، قطعات آلبیدو چندین بار با آب شست‌وشو شدند. تکه‌های آلبیدوی آماده‌سازی‌شده، برش خورده و در آون با دمای  $50^{\circ}\text{C}$  تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند تا شرایط نگهداری بهینه تضمین گردد. سپس آلبیدوهای خشک‌شده با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی به‌طور کامل پودر شده و برای یکنواخت‌سازی اندازه ذرات، از غربال آزمایشگاهی عبور داده شدند. نمونه‌های پودر آلبیدو پس از آماده‌سازی، در کیسه‌های پلی‌اتیلنی درزبندی‌شده بسته‌بندی شدند تا از نفوذ رطوبت محیطی و آلودگی جلوگیری شده و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه تا زمان انجام آزمایش‌ها حفظ شود. تمام نمونه‌های بسته‌بندی‌شده تا پیش از انجام فرآیند استخراج در دمای  $4^{\circ}\text{C}$

نگهداری شدند تا احتمال تجزیه یا فساد میکروبی کاهش یابد و ساختار پکتین حفظ گردد.

در مرحله بعد، محلول‌های استخراجی با pH های 1، 2 و 3 با استفاده از محلول سیتریک اسید تهیه شدند. انتخاب این دامنه pH با هدف بهینه‌سازی فرایند استخراج پکتین صورت گرفت، زیرا مطالعات پیشین نشان داده‌اند که محیط اسیدی شرایط لازم را برای آزادسازی و حل شدن پکتین از ماتریس گیاهی فراهم می‌سازد. فرایند استخراج پکتین از پوست خشک‌شده لیموترش با بهره‌گیری از این محلول‌های استخراج‌کننده در فاز آزمایشی انجام شد تا امکان مقایسه نتایج و تعیین شرایط بهینه استخراج فراهم گردد. تمام مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها شامل جداسازی پوست میوه، خشک‌سازی، آسیاب، بسته‌بندی و نگهداری بر اساس اصول دقیق آزمایشگاهی و با رعایت استانداردهای کنترل کیفیت انجام شد تا صحت و تکرارپذیری نتایج تضمین شود. اجرای این فرایندها در شرایط کنترل‌شده، امکان استخراج پکتین با حداکثر بازده و قابلیت تکرارپذیری را فراهم ساخت.

**طراحی آزمایش:** در این مطالعه، به‌منظور طراحی آزمایش‌های بهینه‌سازی استخراج پکتین از پوست لیموترش، از طرح باکس- بنکن ( $BBD^1$ ) استفاده شد که یکی از پرکاربردترین و قدرتمندترین طرح‌های متعلق به روش سطح پاسخ در پژوهش‌های مهندسی و علوم زیستی به شمار می‌آید. طرح باکس- بنکن به‌طور خاص برای ارزیابی اثرات اصلی و متقابل چندین متغیر مستقل بر یک متغیر پاسخ و توسعه مدل آماری درجه دوم بدون نیاز به اجرای کلیه ترکیب‌های ممکن آزمایشی طراحی شده است. این روش با تکیه بر تعداد محدود اما هدفمند آزمایش‌ها و قرار دادن نقاط آزمایشی در مرکز فضاهای عاملی، موجب

افزایش کارایی آماری و عملی فرایند بهینه‌سازی و کاهش قابل توجه تعداد آزمایش‌ها می‌شود.

در چارچوب طراحی باکس- بنکن در این پژوهش، سه متغیر عملیاتی کلیدی شامل دامنه صوت (60 تا 80 درصد)، pH محلول استخراج‌کننده (بین 1 تا 3) و مدت زمان استخراج (بین 4 تا 12 دقیقه) به‌عنوان ورودی‌های اصلی مدل انتخاب شدند. برای هر متغیر، سه سطح در نظر گرفته شد تا امکان تحلیل دقیق اثرات منفرد و متقابل عوامل بر بازده استخراج پکتین فراهم گردد.

در مجموع، تعداد آزمایش‌های طرح باکس- بنکن برای سه عامل، 15 آزمایش بود که شامل 12 آزمایش ترکیبی و سه نقطه مرکزی برای ارزیابی خطا و سنجش تکرارپذیری داده‌ها می‌باشد. این ساختار، امکان برآورد دقیق اثرات خطی، مربعی و متقابل هر متغیر را با دقت آماری بالا فراهم ساخت. تمامی آزمایش‌ها به‌صورت تصادفی اجرا شدند تا تأثیر عوامل غیرقابل کنترل و خطاهای سیستماتیک بر نتایج به حداقل برسد.

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

که در آن،  $X$  مقدار کدگذاری شده،  $X_i$  مقدار واقعی متغیر،  $X_0$  مقدار واقعی در نقطه مرکز دامنه و  $\Delta X$  بیانگر تغییر در مقدار  $X_i$  برای یک واحد تغییر در مقدار کدگذاری شده  $X$  است. معادله زیر، مدل ریاضی مرتبط با طرح باکس- بنکن را نشان می‌دهد:

(2)

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

در این رابطه،  $K$  بیانگر تعداد متغیرهای مستقل است و  $X_i$  و  $X_j$  متغیرهای مستقل به‌کاررفته در مدل را نشان می‌دهند.  $\beta_0$  ضریب ثابت مدل بوده و  $\beta_j$  و  $\beta_{ij}$



$\beta_{ij}$  به ترتیب نشان‌دهنده ضرایب مربوط به اثرهای خطی، اثرهای مربعی و اثرهای متقابل میان متغیرهای مختلف هستند. به‌کارگیری این مدل آماری، امکان شبیه‌سازی، پیش‌بینی و بهینه‌سازی هم‌زمان فرایند استخراج را فراهم ساخت و اجازه داد تا اثرات هر متغیر به‌صورت منفرد و ترکیبی با دقت بالا مورد ارزیابی قرار گیرد.

برای تجزیه و تحلیل رگرسیونی داده‌های تجربی، از نرم‌افزار Design Expert نسخه 13 استفاده شد. آزمون  $t$  برای ارزیابی معنی‌داری آماری ضرایب رگرسیون به کار گرفته شد و آزمون  $F$  برای بررسی معنادار بودن معادله مدل درجه دوم در سطح احتمال  $P \leq 0/05$  مورد استفاده قرار گرفت. کفایت مدل از طریق ارزیابی شاخص‌های عدم برازش، ضریب تعیین ( $R^2$ )، دقت کافی و مقدار  $F$  حاصل از تحلیل واریانس (ANOVA) تعیین شد. پس‌از آن، ضرایب رگرسیونی حاصل برای تولید سطوح پاسخ و تحلیل رفتار سیستم مورد استفاده قرار گرفتند. درنهایت، آزمایش‌های تأییدی مستقل به‌منظور اعتبارسنجی مدل آماری و اطمینان از تطابق مقادیر پیش‌بینی‌شده با داده‌های واقعی انجام شدند. اجرای روش باکس- بنکن در طراحی آزمایش‌های استخراج پکتین موجب شد تا تعداد آزمایش‌ها، هزینه تحقیق و زمان مصرفی به‌میزان قابل‌توجهی کاهش یابد، درحالی‌که دقت آماری، قدرت مدل‌سازی و قابلیت تعمیم‌پذیری نتایج به‌طور کامل تأمین شد. طرح باکس- بنکن به‌عنوان یکی از راهکارهای ایده‌آل برای بهینه‌سازی فرآیندهای چندعاملی در حوزه‌های بیوشیمی، صنایع غذایی و علوم زیستی شناخته می‌شود.

**استخراج پکتین:** استخراج پکتین تحت‌تأثیر سه متغیر عملیاتی شامل دامنه صوت (60، 80 و 100 درصد)، زمان فراوری (4، 8 و 12 دقیقه) و pH محلول

استخراج‌کننده (1، 2 و 3) با استفاده از امواج فراصوت انجام شد. در هر مرحله، مقدار مشخصی از پودر آلبدو با حجم ثابتی از محلول سیتریک‌اسید، با نسبت مایع به جامد 15:1 (وزنی/ حجمی) و در سه سطح pH مخلوط گردید. سپس مخلوط حاصل تحت سه زمان و سه دامنه مختلف فراصوت قرار گرفت و پس از پایان تیمار تا رسیدن به دمای محیط خنک شد. مخلوط حاوی پکتین به‌مدت 30 دقیقه و با سرعت 6000 دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از جداسازی بخش مایع، فاز رویی به نسبت 1:1 با اتانول 96 درصد مخلوط گردید تا امکان رسوب‌دهی پکتین فراهم شود. نمونه‌ها به‌مدت 24 ساعت در دمای  $4^\circ\text{C}$  نگهداری شدند تا پکتین به‌صورت توده‌های ابری‌رنگ ظاهر گردد. در ادامه، مخلوط مجدداً سانتریفیوژ شد و توده پکتین تشکیل‌شده در سه مرحله شست‌وشوی متوالی با اتانول 96 درصد به‌منظور حذف مونوساکاریدها و دی‌ساکاریدها و با استفاده از کاغذ صافی و قیف بوختر تصفیه گردید. پکتین استخراج‌شده سپس در آون با دمای  $40^\circ\text{C}$  تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد و درنهایت توسط آسیاب آزمایشگاهی پودر گردید.

برای تعیین میزان بازده پکتین، از رابطه زیر استفاده شد:

$$(3) \quad \text{بازده پکتین (\%)} = \frac{\text{وزن پکتین}}{\text{وزن آلبدو}} \times 100$$

هر آزمایش مطابق طرح آزمایشی، سه بار تکرار شد و میانگین مقادیر حاصل به‌عنوان داده نهایی مورد تحلیل و گزارش قرار گرفت.

### نتایج و بحث

**تحلیل آماری و برازش مدل:** جدول 1 مقادیر تجربی مربوط به درصد بازده پکتین تحت شرایط مختلف

آزمایشی را نشان می‌دهد. به‌منظور تعیین مناسب‌ترین مدل برازش، روش سطح پاسخ با استفاده از داده‌های تجربی اجرا گردید. بر اساس شاخص‌های آماری به‌دست‌آمده از جمله سطح معنی‌داری ( $P < 0/0001$ )، بی‌معنی بودن عدم برازش ( $P > 0/05$ )، مقدار بالای ضریب تعیین ( $R^2 > 0/99$ )، انحراف معیار پایین و کم‌ترین مقدار مجموع مربعات خطای پیش‌بینی (PRESS) مطابق داده‌های جدول 2، مدل درجه دوم

انتخاب‌شده از برازش مطلوب و قابل‌اعتماد برخوردار است. این شاخص‌ها نشان می‌دهند که مدل آماری توسعه‌یافته، توانایی بالایی در توصیف برهم‌کنش میان متغیرهای فرآیند و پیش‌بینی بازده استخراج پکتین در شرایط مختلف آزمایشگاهی دارد و می‌تواند به‌عنوان ابزاری معتبر در تحلیل و بهینه‌سازی فرآیند استخراج مورد استفاده قرار گیرد.

جدول 1- ماتریس طراحی باکس بنکن شامل داده‌های آزمایشی و مقادیر پیش‌بینی‌شده مربوط به بازده استخراج پکتین.

Table 1. Box-Behnken design matrix presenting the experimental data and predicted values for pectin extraction yield.

| extraction yield.                           |              |                       |              |               |                 |
|---------------------------------------------|--------------|-----------------------|--------------|---------------|-----------------|
| دامنه و سطح متغیر مستقل                     |              |                       |              |               |                 |
| Range and level of the independent variable |              |                       |              |               |                 |
| متغیرها                                     |              |                       |              |               |                 |
| Variables                                   |              |                       |              |               |                 |
| دامنه ( $X_1$ ) Range (%)                   |              |                       |              |               |                 |
| Amplitude ( $X_1$ , %)                      |              |                       |              |               |                 |
| زمان ( $X_2$ ) دقیقه                        |              |                       |              |               |                 |
| Time ( $X_2$ , min)                         |              |                       |              |               |                 |
| pH                                          |              |                       |              |               |                 |
| بازده پکتین (%) <sup>b</sup>                |              | متغیرهای مستقل        |              |               | تعداد آزمایش    |
| Pectin yield (%)                            |              | Independent variables |              |               |                 |
| پاسخ پیش‌بینی‌شده                           | پاسخ تجربی   | pH                    | زمان (دقیقه) | دامنه (%)     |                 |
| Predicted                                   | Experimental |                       | Time (min)   | Amplitude (%) | Run order       |
| 47.45                                       | 46.8         | 1                     | 12           | 80            | 1               |
| 16.42                                       | 15.4         | 3                     | 12           | 80            | 2               |
| 28.13                                       | 28.2         | 2                     | 8            | 80            | 3 <sup>a</sup>  |
| 13.93                                       | 14.8         | 3                     | 8            | 100           | 4               |
| 28.13                                       | 28           | 2                     | 8            | 80            | 5 <sup>a</sup>  |
| 9.95                                        | 10.6         | 3                     | 4            | 80            | 6               |
| 21.56                                       | 21.4         | 2                     | 4            | 60            | 7               |
| 21.31                                       | 19.8         | 2                     | 4            | 100           | 8               |
| 11.88                                       | 11.4         | 3                     | 8            | 60            | 9               |
| 23.08                                       | 24.6         | 2                     | 12           | 60            | 10              |
| 42.37                                       | 43.4         | 1                     | 4            | 80            | 11              |
| 28.13                                       | 28.2         | 2                     | 8            | 80            | 12 <sup>a</sup> |
| 31.33                                       | 31.5         | 2                     | 12           | 100           | 13              |
| 47.61                                       | 48.1         | 1                     | 8            | 100           | 14              |
| 41.66                                       | 40.8         | 1                     | 8            | 60            | 15              |

a، نقاط مرکزی، b، پاسخ پیش‌بینی‌شده بهینه = 47/61% - پاسخ تأییدشده بهینه = 48/1%

جدول 2- خلاصه برازش مدل‌های مختلف روش سطح پاسخ (RSM) برای بازده پکتین.

Table 2. Fit summary of different response surface methodology (RSM) models for pectin yield.

| منبع<br>Source        | انحراف معیار<br>Standard deviation | عدم برازش<br>Lack of Fit | ضریب<br>تعیین<br>$R^2$ | تعدیل شده<br>$R^2$ | پیش‌بینی شده<br>$R^2$ | مقدار<br>PRESS | مقدار<br>P | توضیحات<br>Remark |
|-----------------------|------------------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------|-----------------------|----------------|------------|-------------------|
| خطی<br>Linear         | 2.85                               | 0.0013                   | 0.9593                 | 0.9482             | 0.9134                | 190.66         | <0.0001    |                   |
| دو عاملی<br>2FI       | 2.90                               | 0.0012                   | 0.9695                 | 0.9466             | 0.8396                | 353.17         | 0.4879     |                   |
| درجه دوم<br>Quadratic | 1.38                               | 0.0042                   | 0.9957                 | 0.9878             | 0.9306                | 152.66         | 0.0148     | Suggested         |
| مکعبی<br>Cubic        | 0.1155                             |                          | 1.0000                 | 0.9999             |                       | *              | 0.0042     | Aliased           |

هشدار: مدل مکعبی به دلیل وجود تداخل قابل تفسیر نیست و نمی‌تواند برای تحلیل و پیش‌بینی مورد استفاده قرار گیرد

به‌منظور تبیین دقیق‌تر روابط میان متغیرهای ورودی و متغیر پاسخ، مدلی درجه دوم با در نظر گرفتن اثرات خطی، متقابل و مربعی عوامل، بر اساس داده‌های آزمایشگاهی استخراج شد. معادله چندجمله‌ای حاصل (مرتبه دوم) در قالب فاقد کدگذاری متغیرها به‌صورت زیر ارائه می‌شود:

(4)

$$Y(\%) = +27.68333 + 0.801667X_A + 0.188542X_B - 23.39583X_C + 0.026562X_AX_B - 0.048750X_AX_C + 0.087500X_BX_C - 0.005104X_A^2 - 0.110417X_B^2 + 2.68333X_C^2$$

که در این معادله A، B و C به ترتیب نشان‌دهنده دامنه استخراج، مدت زمان استخراج و pH محلول استخراج‌کننده هستند.

جدول 3، نتایج مربوط به تحلیل واریانس، کفایت و برازش مدل‌ها را به‌صورت تفکیک‌شده نشان

می‌دهد. تحلیل داده‌ها نشان داد که مقدار F مدل (127/31) و سطح معنی‌داری آن ( $P < 0.0001$ ) بیانگر معنی‌داری آماری مدل بوده و کارایی آن را در توصیف فرآیند استخراج پکتین تأیید می‌کند. بر اساس این تحلیل، اثرات خطی دامنه امواج استخراج (A)، مدت زمان استخراج (B) و pH محلول استخراج‌کننده (C)، هم‌چنین اثرات درجه دوم (توان دوم) این سه عامل و اثر متقابل دامنه امواج و مدت زمان استخراج (AB)، همگی از نظر آماری معنی‌دار بوده و تأثیر چشمگیری بر بازده پکتین در شرایط آزمایشگاهی مطالعه حاضر داشته‌اند. این یافته‌ها نقش کلیدی هر یک از فاکتورهای عملیاتی و هم‌چنین اهمیت تعاملات دوگانه میان آن‌ها را در فرآیند استخراج بهینه پکتین نشان می‌دهد و تأکید می‌کند که بررسی توأمان اثرات فردی و ترکیبی این عوامل برای دستیابی به بیش‌ترین بازده، ضروری است.

جدول 3- برآورد ضرایب رگرسیونی برای مدل چندجمله‌ای درجه دوم و نتایج تحلیل واریانس (ANOVA) داده‌های تجربی.

Table 3. Estimated regression coefficients for the quadratic polynomial model and ANOVA results for the experimental data.

| منبع                        | درجه آزادی | ضریب رگرسیون تخمینی | مجموع مربعات   | مقدار F | مقدار P              |
|-----------------------------|------------|---------------------|----------------|---------|----------------------|
| Source                      | df         | $\beta$             | Sum of Squares | F-Value | P-Value              |
| مدل                         | 9          | 27.68               | 2191.63        | 127.31  | <0.0001 <sup>a</sup> |
| دامنه (A)                   | 1          | 0.80                | 32.00          | 16.73   | 0.0094 <sup>a</sup>  |
| زمان (B)                    | 1          | 0.18                | 66.70          | 34.87   | 0.0020 <sup>a</sup>  |
| pH                          | 1          | -23.39              | 2012.95        | 1052.34 | <0.0001 <sup>a</sup> |
| برهمکنش AB                  | 1          | 0.02                | 18.06          | 9.44    | 0.0277 <sup>a</sup>  |
| برهمکنش AC                  | 1          | -0.04               | 3.80           | 1.99    | 0.2176               |
| برهمکنش BC                  | 1          | 0.08                | 0.49           | 0.2562  | 0.6343               |
| توان دوم A <sup>2</sup>     | 1          | -0.005              | 15.39          | 8.05    | 0.0364 <sup>a</sup>  |
| توان دوم B <sup>2</sup>     | 1          | -0.110              | 11.52          | 6.02    | 0.0576 <sup>a</sup>  |
| توان دوم C <sup>2</sup>     | 1          | +2.68               | 26.59          | 13.90   | 0.0136 <sup>a</sup>  |
| عدم برازش                   | 3          |                     | 9.54           | 238.44  | 0.1042               |
| Lack of Fit                 |            |                     |                |         |                      |
| R <sup>2</sup>              | 0.9957     |                     |                |         |                      |
| R <sup>2</sup> تعدیل شده    | 0.9878     |                     |                |         |                      |
| Adjusted R <sup>2</sup>     |            |                     |                |         |                      |
| R <sup>2</sup> پیش‌بینی شده | 0.9306     |                     |                |         |                      |
| Predicted R <sup>2</sup>    |            |                     |                |         |                      |
| نسبت دقت کافی               | 33.35      |                     |                |         |                      |
| Adequate Precision          |            |                     |                |         |                      |
| ضریب تغییرات (%)            | 5.02       |                     |                |         |                      |
| C.V. (%)                    |            |                     |                |         |                      |

<sup>a</sup> معنی‌دار در سطح اطمینان 95%

است و این مقدار به خطای مدل یا عوامل ناشناخته نسبت داده می‌شود.

علاوه بر این، انطباق مطلوب میان ضرایب R<sup>2</sup> تعدیل شده (0/9878) و R<sup>2</sup> پیش‌بینی شده (0/9306) با مقدار کلی R<sup>2</sup>، نشان‌دهنده پایداری ساختاری مدل و همخوانی آن با داده‌های تجربی است. این هماهنگی بیان می‌کند که مدل ارائه‌شده، افزون بر برازش مناسب داده‌های مشاهده‌ای، از توان پیش‌بینی و قابلیت تعمیم‌پذیری مطلوبی نیز برخوردار است.

یکی از معیارهای مهم در ارزیابی کفایت مدل، نسبت دقت کافی است. در مطالعات مدل‌سازی، مقدار

در فرایند ارزیابی میزان برازش مدل آماری استخراج پکتین، مجموعه‌ای از شاخص‌های تخصصی مورد بررسی قرار گرفت تا اعتبار، قابلیت پیش‌بینی و کفایت مدل به صورت جامع سنجیده شود. نخست، ضریب تعیین (R<sup>2</sup>) مدل مقدار 0/9957 به دست آمد که عددی بسیار نزدیک به 1 است و از منظر آماری نشان می‌دهد که حدود 99/57 درصد تغییرات مشاهده‌شده در بازده استخراج پکتین توسط متغیرهای مستقل ورودی یعنی دامنه امواج، مدت زمان استخراج و p توضیح داده می‌شود. بدین ترتیب، تنها 0/43 درصد از واریانس پاسخ توسط مدل تشریح نشده

این شاخص باید بیش از 4 باشد تا توان مدل در ایجاد تمایز میان سیگنال واقعی و نویز پس‌زمینه تأیید گردد (32). در پژوهش حاضر، مقدار نسبت دقت کافی برابر با 33/35 محاسبه شد که نشان‌دهنده سیگنال آماری بسیار قوی است و اعتبار مدل را برای طراحی و بهینه‌سازی فضای آزمایش به‌طور کامل تأیید می‌کند. شاخص مهم دیگر، ضریب تغییرات (CV) است که بیانگر دقت نسبی و قابلیت اتکای نتایج آزمایش‌ها بوده و هرچه مقدار آن کم‌تر باشد، اعتمادپذیری نتایج بیش‌تر خواهد بود. در مقابل، مقادیر بالای CV نشان‌دهنده عدم ثبات و اتکای پایین نتایج است (27، 30، 38). در این مطالعه، مقدار ضریب تغییرات برابر 5/02 درصد گزارش شد که عددی پایین و مطلوب است و نشان‌دهنده پایداری مناسب و یکنواختی قابل قبول در اجرای آزمایش‌ها می‌باشد.

درنهایت، کفایت مدل بر اساس مقدار عدم برازش مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی، مقدار P مربوط به عدم برازش برابر با 0/1042 به دست آمد. با توجه به این‌که این مقدار بالاتر از سطح معنی‌داری رایج ( $P > 0/05$ ) است، عدم برازش از نظر آماری معنی‌دار نبوده و این موضوع نشان می‌دهد که مدل توسعه‌یافته، هماهنگی و انطباق مناسبی با داده‌های تجربی دارد و ساختار آن قادر است رفتار سامانه را با دقت توصیف کند.

به‌طورکلی، در محدوده شرایط بررسی‌شده برای متغیرهای اصلی آزمایش، مدل ارائه‌شده نه تنها از کفایت و اعتبار آماری بالا برخوردار است، بلکه قابلیت پیش‌بینی بازده پکتین را نیز با دقت قابل‌توجهی تضمین می‌کند. تمامی شاخص‌های ارزیابی برازش شامل  $R^2$  تعدیل‌شده،  $R^2$  پیش‌بینی‌شده، نسبت دقت کافی و ضریب تغییرات (CV) همگی به‌صورت هماهنگ، اعتبار و اعتمادپذیری مدل نهایی را در تحلیل اثر عوامل فرآیندی و بهینه‌سازی استخراج پکتین تأیید می‌کنند.

ارزیابی کفایت و شایستگی مدل: در ارزیابی دقیق کفایت و شایستگی مدل آماری مورد استفاده برای پیش‌بینی بازده استخراج پکتین، تکیه صرف بر شاخص‌های عددی مانند ضریب تعیین ( $R^2$ ) کافی نیست؛ بلکه بهره‌گیری از مجموعه‌ای از نمودارهای تشخیصی آماری برای اعتبارسنجی جامع مدل امری ضروری است. این رویکرد مطابق با استانداردهای تحلیلی ارائه‌شده در چارچوب مدل‌سازی سطح پاسخ (RSM) و بر اساس روش‌شناسی مطالعات علمی معتبر دنبال شده است (1، 17، 33). بر این اساس، هم‌زمان با بررسی شاخص‌های کمی، مجموعه‌ای از نمودارهای تشخیصی شامل نمودار مقادیر پیش‌بینی‌شده در برابر مقادیر واقعی، نمودار احتمال نرمال و پراکنش مانده‌های استانداردشده داخلی با دقت مورد تحلیل قرار گرفت. نتایج حاصل از این نمودارها شواهدی روشن و مستقیم از اعتبار، پایداری و کفایت مدل آماری ارائه می‌دهند (34).

در شکل 1- الف رابطه میان مقادیر پیش‌بینی‌شده مدل و مقادیر واقعی آزمایشگاهی به‌صورت دوبعدی بررسی شد. نتایج نشان داد که داده‌های حاصل، به شکلی منسجم و معنادار در امتداد خط همبستگی (خط 45 درجه) قرار می‌گیرند. این هم‌ترازی نزدیک بیانگر انطباق بالا میان پیش‌بینی‌های مدل و داده‌های مشاهده‌شده بوده و کفایت مدل را در شبیه‌سازی دقیق بازده استخراج پکتین تحت شرایط مختلف آزمایشی تأیید می‌کند.

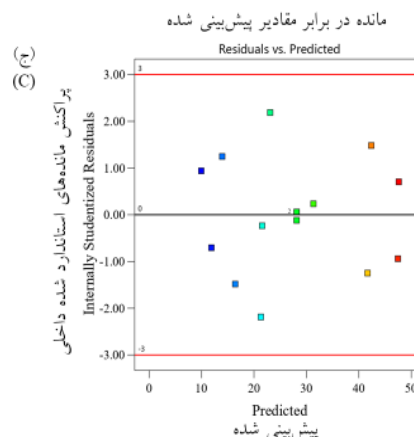
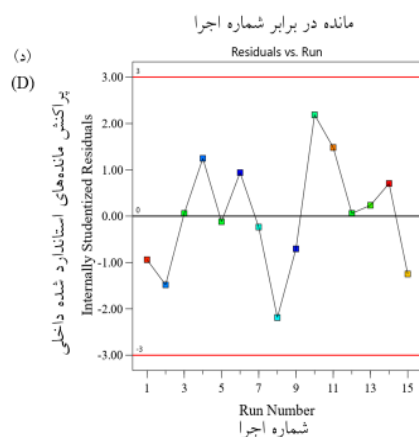
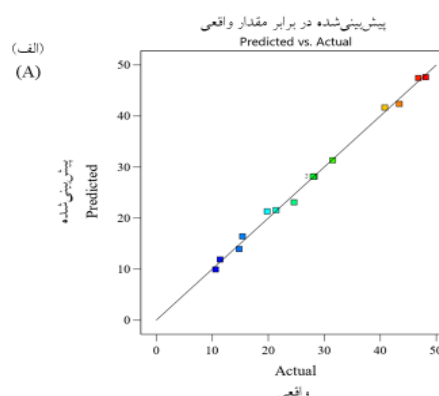
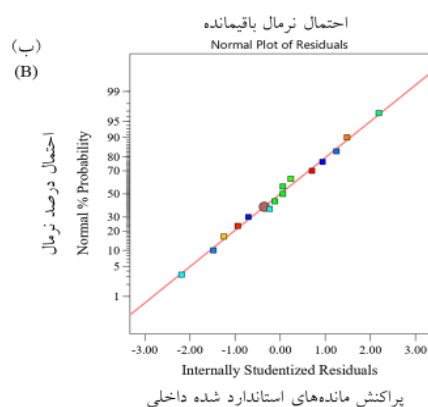
بررسی احتمال درصد نرمال (شکل 1- ب) که با هدف ارزیابی فرض نرمال بودن خطاها یا مانده‌های رگرسیونی ترسیم می‌شود، نشان داد که مانده‌ها به‌طور معناداری در امتداد خط راست مرکزی قرارگرفته‌اند و هیچ‌گونه واگرایی آشکار یا الگوی ناهمگونی غیرمنتظره‌ای در رفتار خطاها مشاهده نشد. قرارگیری منظم داده‌ها حول خط نرمالیتی بیانگر آن است که مدل مورد استفاده فاقد انحراف سیستمی بوده و توزیع

براساس شاخص‌هایی مانند ضریب تعیین  $R^2$  و میزان خطاهای باقی‌مانده - دارای اعتبار آماری بالا است، بلکه همه آزمون‌های تشخیصی گرافیکی نیز انطباق کامل خروجی‌های مدل با داده‌های تجربی، نرمالیتی خطاها و عدم وجود نقاط پرت را تأیید می‌کنند. مجموع این شواهد بیانگر صحت ساختاری مدل و قابلیت تعمیم‌پذیری آن در پیش‌بینی، تفسیر و کنترل بازده استخراج پکتین در چارچوب متغیرهای مستقل طراحی شده است. از منظر علمی، چنین مدلی می‌تواند به‌عنوان یکی از گزینه‌های قابل‌اتکا برای پیاده‌سازی و بهینه‌سازی فرآیند استخراج پکتین مورد استفاده قرار گیرد.

خطاها با پیش‌فرض نرمال‌بودن در تحلیل‌های رگرسیونی هم‌خوانی دارد. این ویژگی، اعتبار استنباط‌های آماری و در نتیجه صحت نتایج کمی حاصل از مدل را تضمین می‌کند.

مطالعه تطبیقی شکل‌های 1-ج و 1-د که به بررسی پراکنش مانده‌های استاندارد شده داخلی می‌پردازند، شواهد معتبری مبنی بر عدم وجود داده‌های پرت یا نقاط انحرافی قابل‌توجه ارائه می‌دهد. مطابق نتایج این دو نمودار، تقریباً تمامی نقاط (یعنی مانده‌ها) در بازه آماری مجاز  $\pm 3\sigma$  قرار گرفته‌اند؛ الگویی که بار دیگر صحت برازش مدل و فقدان خطاهای سیستماتیک یا پراکندگی‌های غیرمعمول را تأیید می‌کند.

جمع‌بندی کلی نتایج عددی و گرافیکی نشان می‌دهد که مدل توسعه‌یافته، نه تنها از منظر کمی -



شکل 1- نمودارهای تشخیصی برای ارزیابی کفایت مدل.

Figure 1. Diagnostic plots for evaluating model competency.

#### اثرات پارامترهای استخراج بر بازده پکتین

اثر متقابل دامنه امواج (A) و زمان استخراج (B) بر بازده: شکل سه بعدی 2- الف سطح پاسخ و خطوط هم‌ارز مربوط به اثر متقابل دامنه امواج فراصوت (60 تا 100 استخراج (4 تا 12 دقیقه) را بر بازده استخراج پکتین نشان می‌دهد، درحالی‌که pH در سطح ثابت نگه داشته درصد) و زمان شده است. همان‌گونه که سطح پاسخ نشان می‌دهد، مقدار بازده در بازه‌ای حدود 10 تا 40 درصد تغییر می‌کند و یکنواختی نسبی سطح نمودار بیانگر عدم وجود تعامل قوی میان این دو متغیر است. خطوط هم‌ارز در بخش پایینی نمودار نیز الگوی نسبتاً موازی و منظم را نشان می‌دهند؛ موضوعی که ضعیف بودن اثر متقابل AB را تأیید می‌کند. این یافته با نتایج تحلیل واریانس سازگار است، به‌طوری‌که اثر متقابل AB با  $P=0/0277$  نزدیک به مرز معنی‌داری قرار داشته و مقدار ضریب آن در معادله رگرسیونی  $(+4/26)$  نسبت به ضرایب اثرات اصلی مقدار کم‌تری را نشان می‌دهد. از نظر روند کلی، افزایش هر دو متغیر یعنی دامنه امواج و زمان استخراج، به افزایش بازده منجر می‌شود، اما شیب تغییرات ملایم است. این الگو بیانگر آن است که در شرایط ثابت بودن pH (که متغیر غالب در فرآیند استخراج محسوب می‌شود)، تغییرات دامنه امواج و زمان استخراج به‌تنهایی قادر به ایجاد نوسانات قابل‌توجه در بازده استخراج نیستند.

شکل 2- الف نشان می‌دهد که امواج فراصوت عمده‌تاً نقش تسهیل‌کننده انتقال جرم و تخریب مکانیکی ساختارهای سلولی را بر عهده دارند (35). پدیده حفره‌زایی صوتی (کاویتاسیون آکوستیک) که در اثر امواج فراصوت پر قدرت ایجاد می‌شود، به تشکیل و فروپاشی حباب‌های میکروسکوپی منجر شده و نیروهای برشی شدیدی تولید می‌کند که موجب تخریب دیواره سلولی و آزادسازی ترکیبات

میان‌سلولی می‌شود (17، 25). افزایش دامنه امواج، شدت این پدیده را تقویت کرده و افزایش زمان استخراج فرصت بیشتری برای وقوع کاویتاسیون، نفوذ مؤثر حلال و آزادسازی پکتین فراهم می‌آورد (30، 38). با این حال، مطالعات متعدد نشان داده‌اند که استخراج پکتین به‌شدت وابسته به فرآیندهای شیمیایی هیدرولیز است که تحت تأثیر pH قرار دارند؛ بنابراین، نتایج نمودار حاضر تأیید می‌کند که امواج فراصوت به‌تنهایی نمی‌تواند جایگزین نقش تعیین‌کننده pH در فرایند استخراج شوند؛ بلکه نقش مکمل و تقویت‌کننده داشته و با افزایش انتقال جرم و تخریب ساختاری، کارایی فرآیند شیمیایی وابسته به pH را بهبود می‌بخشند.

اثر متقابل دامنه امواج (A) و pH (C) بر بازده: شکل سه بعدی 2- ب سطح پاسخ و خطوط هم‌ارز مربوط به اثر متقابل دامنه امواج فراصوت (60 تا 100 درصد) و pH محیط (1 تا 3) را بر بازده استخراج پکتین نشان می‌دهد، درحالی‌که زمان استخراج در سطح ثابت نگه داشته شده است. الگوی مشاهده‌شده در این شکل، رفتاری کاملاً متفاوت نسبت به شکل 2- الف دارد. سطح پاسخ یک شیب تند و منظم را از مقادیر بالای pH (حدود 3) به سمت مقادیر پایین pH (حدود 1) نشان می‌دهد؛ الگویی که بیانگر تأثیر غالب و تعیین‌کننده pH بر بازده استخراج است. بر اساس این مدل، در pH پایین (نزدیک 1) و در شرایط دامنه بالای امواج (100 درصد)، بازده به بیش‌ترین مقدار خود (حدود 40 درصد) می‌رسد. در مقابل، در pH بالا (حدود 3) بازده به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافته و به مقادیری در حدود 10 درصد محدود می‌شود. این تفاوت چشمگیر، نقش کنترل‌کننده pH را در آزادسازی و حلالیت پکتین تأیید می‌کند، به‌گونه‌ای که شدت امواج فراصوت تنها در حضور شرایط اسیدی کافی قادر است بیش‌ترین کارایی خود را بروز دهد.

این غلبه pH کاملاً با تحلیل آنالیز واریانس سازگار است؛ به طوری که عامل C با  $P < 0/0001$  به عنوان معنادارترین متغیر شناخته شد و ضریب آن در معادله رگرسیونی  $(+11/76)$  تقریباً دو برابر ضرایب عوامل A و B گزارش گردید. خطوط هم‌ارز در بخش پایینی نمودار نیز الگویی نسبتاً موازی و پایدار نشان می‌دهند که بیانگر ضعیف بودن اثر متقابل AC است. از دیدگاه مکانیسمی، pH پایین با فراهم کردن مقدار فراوانی از پروتون‌ها ( $H^+$ )، فرآیند هیدرولیز پیوندهای گلیکوزیدی پروتوپکتین را تسریع کرده و آزادسازی پکتین محلول را تسهیل می‌کند (1، 3، 21). در چنین شرایطی، امواج فراصوت با تخریب فیزیکی دیواره سلولی، افزایش سطح تماس مؤثر و تقویت انتقال جرم، نقش تشدیدکننده و تکمیل‌کننده فرایند شیمیایی را ایفا می‌کنند (23). در مقابل، در pH های بالاتر سرعت واکنش‌های هیدرولیز به شدت کاهش می‌یابد و حتی دامنه‌های بالای امواج فراصوت نیز قادر به جبران این کاهش واکنش‌پذیری نیستند (38). این نمودار به روشنی نقش کنترل شیمیایی را در فرآیند استخراج پکتین نشان می‌دهد. پکتین در بافت گیاهی به صورت پروتوپکتین نامحلول وجود دارد که از طریق پیوندهای استری و گلیکوزیدی به سایر اجزای دیواره سلولی متصل است. هیدرولیز این پیوندها در شرایط اسیدی یک واکنش کاتالیزشونده اسیدی محسوب می‌شود که سرعت آن به طور لگاریتمی با کاهش pH افزایش می‌یابد (13، 17). وجود ضریب درجه دوم  $C^2$  با مقدار  $-2/70$  و  $P = 0/0136$  در معادله رگرسیونی نشان می‌دهد که رابطه میان بازده استخراج و pH غیرخطی بوده و یک نقطه بهینه در محدوده pH پایین وجود دارد. در  $pH = 1$  غلظت بالای یون‌های هیدروژن موجب می‌شود که واکنش هیدرولیز با سرعت بسیار بالا انجام شود و پکتین محلول با کارایی بیشتری از ماتریس گیاهی آزاد گردد.

اثر متقابل زمان استخراج (B) و pH (C) بر بازده: شکل سه‌بعدی 2- ج سطح پاسخ و خطوط هم‌ارز مربوط به اثر متقابل زمان استخراج (4 تا 12 دقیقه) و pH محیط (1 تا 3) را بر بازده استخراج پکتین نشان می‌دهد، درحالی که دامنه امواج در سطح ثابت نگه داشته شده است. همانند شکل 2- ب، این شکل نیز شیب تند و یکنواختی از pH بالا به سمت pH پایین نشان می‌دهد که بار دیگر تسلط آشکار عامل pH بر فرآیند استخراج را تأیید می‌کند. در pH پایین (1) و زمان‌های طولانی‌تر (12 دقیقه)، بازده به بیشینه مقدار خود می‌رسد، درحالی که در pH بالا (3)، حتی افزایش زمان استخراج نیز بهبود قابل توجهی در بازده ایجاد نمی‌کند و مقادیر به طور چشمگیری پایین باقی می‌مانند.

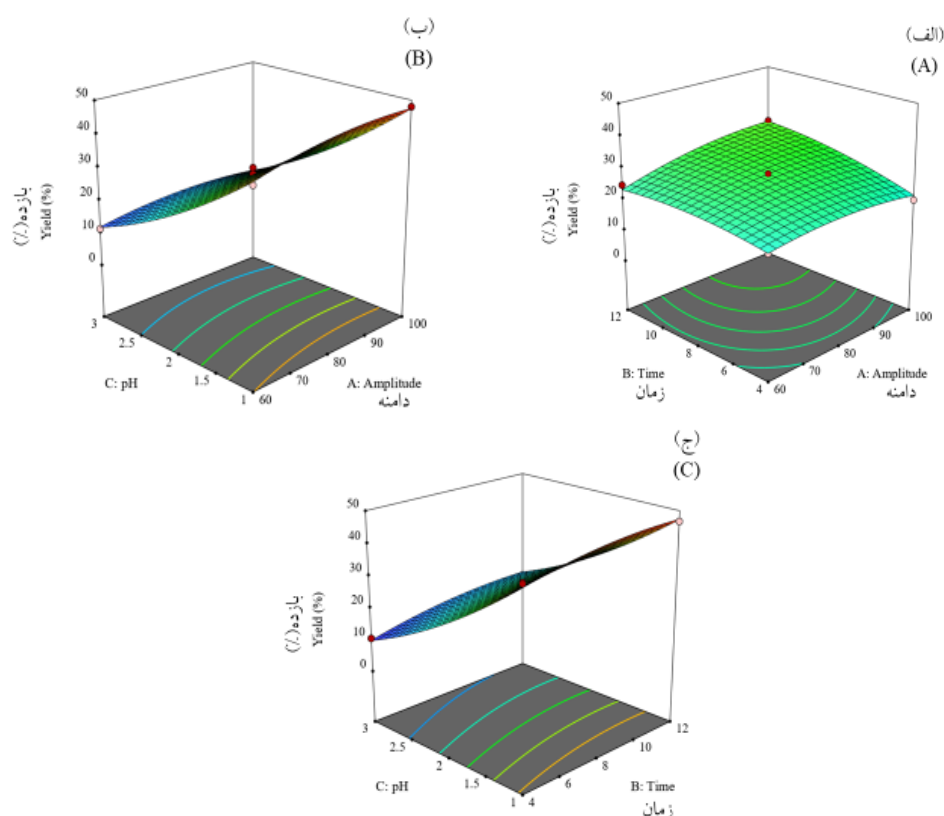
خطوط هم‌ارز تقریباً موازی هستند و نشان می‌دهند که اثر متقابل BC ضعیف است؛ به عبارت دیگر، اثر زمان بر بازده به طور مستقیم و شدید تحت تأثیر pH قرار نمی‌گیرد و این دو متغیر تا حد زیادی به صورت مستقل از یکدیگر عمل می‌کنند. باین حال، مقایسه با شکل 2- الف نشان می‌دهد که زمان استخراج در شرایط pH بهینه، نقش برجسته‌تری در افزایش بازده خواهد داشت. از منظر مکانیسمی، افزایش زمان استخراج فرصت کافی برای تکمیل واکنش‌های هیدرولیز و آزادسازی پکتین فراهم می‌آورد (18، 24). فرایند استخراج پکتین از بافت گیاهی یک فرآیند چندمرحله‌ای است که شامل نفوذ حلال به درون بافت، هیدرولیز پیوندهای پروتوپکتینی، انحلال پکتین آزادشده در فاز مایع و انتقال پکتین از ماتریس گیاهی به محیط استخراج است (26). هر یک از این مراحل نیازمند زمان بوده و کندترین مرحله، سرعت کلی فرآیند را تعیین می‌کند. در pH پایین، مرحله هیدرولیز بسیار سریع انجام می‌شود و احتمالاً انتقال جرم به مرحله محدودکننده تبدیل می‌شود. در



pH محیط با ضریب  $+76/11$  و  $P < 0/0001$ ، به عنوان یک متغیر شیمیایی کلیدی، نقش کاملاً مسلط و تعیین کننده در بازده استخراج پکتین دارد. در مقابل، دامنه امواج و زمان با ضرایب کوچکتر ( $+5/90$  و  $+7/01$ ) و اثرات متقابل ضعیفتر، نقش های مکمل و تقویت کننده را ایفا می کنند.

این شرایط، افزایش زمان استخراج اجازه می دهد مراحل انتقال و انحلال به طور کامل انجام شده و بازده افزایش یابد. در مقابل، در pH های بالاتر، مرحله هیدرولیز بسیار کند است و به مرحله تعیین کننده سرعت تبدیل می شود (1، 5، 14، 25).

مقایسه این سه شکل و تلفیق آن ها با نتایج آنالیز واریانس و ضرایب معادله رگرسیون نشان می دهد که



شکل 2- سطوح پاسخ سه بعدی (3D) مربوط به اثر متغیرهای فرآیند بر بازده استخراج پکتین.

Figure 2. Three-dimensional (3D) response surface plots illustrating the effects of process variables on pectin extraction yield.

بازده های 60 تا 100 درصد، 4 تا 12 دقیقه و 1 تا 3 تحت بهینه سازی قرار گرفتند. بر اساس خروجی مدل، مقادیر بهینه متغیرها به ترتیب عبارت بودند از دامنه امواج  $88/42$  درصد، مدت زمان استخراج  $10/48$  دقیقه و pH برابر با  $1/04$ . در این شرایط، بازده پکتین برابر با  $48/13$  درصد و مقدار مطلوبیت برابر با 1

شرایط بهینه استخراج پکتین و اعتبارسنجی نتایج: به منظور تعیین شرایط بهینه استخراج پکتین، از تابع مطلوبیت درینگر (Derringer's desirability function) استفاده شد. هدف این روش، دستیابی به بیشترین مقدار بازده استخراج بود و متغیرهای فرآیندی شامل دامنه امواج، مدت زمان استخراج و pH به ترتیب در

پیش‌بینی شد که نشان‌دهنده کفایت مدل در دستیابی به شرایط بهینه است. برای اعتبارسنجی مدل، آزمایش استخراج تحت شرایط عملی نزدیک به مقادیر بهینه (امواج 88 درصد و  $pH=1$  به جای 87/42 درصد و 1/04) دامنه انجام شد. نتایج تجربی نشان داد که میانگین بازده واقعی پکتین (46/16 درصد) با مقدار پیش‌بینی شده مدل (48/13 درصد) تطابق قابل‌توجهی داشته و صحت مدل و دقت پیش‌بینی‌های آن را تأیید می‌کند.

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش، فرآیند استخراج پکتین از پوست لیموترش با رویکردی نظام‌مند و بر پایه طراحی باکس- بنکن (BBD) در قالب روش مدل‌سازی سطح پاسخ (RSM) ارزیابی و بهینه‌سازی شد. سه متغیر عملیاتی اصلی شامل دامنه امواج فراصوت، مدت زمان استخراج و  $pH$  محلول استخراج‌کننده به‌عنوان عوامل مؤثر بر بازده استخراج مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که میان این پارامترها و بازده استخراج پکتین رابطه‌ای معنادار و غیرخطی وجود دارد؛ به‌گونه‌ای که افزایش کنترل‌شده هر متغیر تا رسیدن به نقطه بهینه، موجب افزایش بازده شده و عبور از این نقطه، روندی کاهشی را در بازده ایجاد می‌کند. مدل چندجمله‌ای درجه دوم استخراج‌شده از داده‌ها توانست تبیینی دقیق و قابل‌اعتماد از رفتار سیستم ارائه دهد و برازش بالایی میان مقادیر پیش‌بینی‌شده و داده‌های تجربی برقرار سازد. بر اساس

تحلیل تابع مطلوبیت، شرایط بهینه استخراج شامل دامنه امواج 88/42 درصد، مدت زمان استخراج 10/48 دقیقه و  $pH$  برابر با 1/04 تعیین شد. در این شرایط، بازده پیش‌بینی‌شده 48/13 درصد به دست آمد که از نظر کمی با مقدار تجربی حاصل‌شده (46/16 درصد) هم‌خوانی بسیار نزدیکی داشت. این تطابق، نشان‌دهنده دقت، اعتبار و کارآمدی مدل آماری در پیش‌بینی و بهینه‌سازی شرایط استخراج است. با وجود موفقیت مدل در تعیین شرایط بهینه، ضرورت دارد در مراحل بعدی، ویژگی‌های کیفی پکتین استخراج‌شده نیز مورد ارزیابی قرار گیرد تا قابلیت استفاده آن در صنایع غذایی، داروسازی و بسته‌بندی زیست‌پایه مواد غذایی به‌طور جامع مشخص شود. این ارزیابی‌ها می‌تواند شامل آنالیز ترکیب قندی، بررسی ساختار شیمیایی، میزان درجه استری شدن، رفتار رئولوژیک و توان ژل‌کنندگی پکتین باشد. به‌طورکلی، یافته‌های این مطالعه ضمن تأیید اثربخشی طرح باکس- بنکن (BBD) و مدل‌سازی سطح پاسخ (RSM) در بهینه‌سازی استخراج پکتین، مسیر نوینی برای توسعه فناوری‌های پایدار استخراج از ضایعات کشاورزی، به‌ویژه پوست لیموترش، فراهم می‌آورد. این نتایج می‌توانند پایه‌ای ارزشمند برای پژوهش‌های آینده در زمینه روش‌های نوین استخراج، ارتقای بهره‌وری صنعتی و ارزیابی کارکرد پکتین استخراج‌شده در تولید فیلم‌های خوراکی و بسته‌بندی‌های زیست‌تخریب‌پذیر به‌عنوان جایگزینی پایدار برای بسته‌بندی‌های پلاستیکی رایج باشند.

### منابع

1. Wang, Y., Liu, J., Chen, L., Jin, S., An, C., Chen, L., Yang, B., Schols, H. A., de Vos, P., Bai, W., & Tian, L. (2023). Effects of thermal treatments on the extraction and in vitro fermentation patterns of pectins from pomelo (*Citrus grandis*). *Food Hydrocolloids*, 141, 108755.
2. Food and agriculture organization of the United Nations (FAO). (2022). *FAO statistics of citrus production and processing waste: Global food waste*

- database 2022. Rome, Italy: FAO. Retrieved from.
3. Jermendi, E., Beukema, M., van den Berg, M. A., de Vos, P., & Schols, H. A. (2022). Revealing methyl-esterification patterns of pectins by enzymatic fingerprinting: beyond the degree of blockiness. *Carbohydrate Polymer*, 277, 118813.
4. Zdunek, A., Pieczywek, P. M., & Cybulska, J. (2021). The primary, secondary, and structures of higher levels of pectin polysaccharides. *Comparative Review Food Science Food Saft*, 20, 1101-1117.
5. Kamal, M. M., Kumar, J., Mamun, M. A. H., Ahmed, M. N. U., Shishir, M. R. I., & Mondal, S. C. (2021). Extraction and characterization of pectin from Citrus sinensis peel. *Journal Biosystem Engineering*.
6. Zaid, R. M., Mishra, P., Siti Noredyani, A. R., Tabassum, S., Ab Wahid, Z., & Mimi Sakinah, A. M. (2020). Proximate characteristics and statistical optimization of ultrasound-assisted extraction of high-methoxyl-pectin from Hylocereus polyrhizus peels. *Food Bioproduct Process*, 123, 134-149.
7. Sayed, M. A., Kumar, J., Rahman, M. R., Noor, F., & Alam, M. A. (2022). Effect of extraction parameters on the yield and quality of pectin from mango (*Mangifera indica* L.) peels. *Discover Food*, 2. <https://doi.org/10.1007/s44187-022-00029-1>.
8. Sengar, A. S., Rawson, A., Muthiah, M., & Kalakandan, S. K. (2020). Comparison of different ultrasound assisted extraction techniques for pectin from tomato processing waste. *Ultrasonic Sonochemistry*. 61, 104812.
9. Sabater, C., Sabater, V., Olano, A., Montilla, A., & Corzo, N. (2020). Ultrasound-assisted extraction of pectin from artichoke by-products. An artificial neural network approach to pectin characterization. *Food Hydrocolloids*. 98, 105238. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105238>.
10. Ke, J., Jiang, G., Shen, G., Wu, H., Liu, Y., & Zhang, Z. (2020). Optimization, characterization and rheological behavior study of pectin extracted from chayote (*Sechium edule*) using ultrasound assisted method. *International Journal Biological Macromolecule*, 147, 688-698.
11. Ezzati, S., Ayaseh, A., Ghanbarzadeh, B., & Heshmati, M. K. (2020). Pectin from sunflower by-product: optimization of ultrasound-assisted extraction, characterization, and functional analysis. *International Journal Biological Macromolecule*. 165, 776-786.
12. Tran, T. T. B., Saifullah, M., Nguyen, N. H., Nguyen, M. H., & Vuong, Q. V. (2021). Comparison of ultrasound-assisted and conventional extraction for recovery of pectin from Gac (*Momordica cochinchinensis*) pulp. *Future Foods*. 4, 100074.
13. Maric, M., Grassino, A. N., Zhu, Z., Barba, F. J., Brncic, M., & 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.
14. Singhal, S., & Swami Hulle, N. R. (2022). Citrus pectins: structural properties, extraction methods, modifications and applications in food systems – a review, *Appl Food Resource*. 2, 100215.
15. Karbuz, P., & Tugrul, N. (2021). Microwave and ultrasound assisted extraction of pectin from various fruits peel. *Journal Food Science Technology*. 58, 641-650.
16. Villamil-Galindo, E., & Piagentini, A. M. (2022). Sequential ultrasound-assisted extraction of pectin and phenolic compounds for the valorisation of 'Granny Smith' apple peel. *Food Bioscience*. 49, 101958.
17. Torres-Gallo, R., Bayuelo-Bonilla, S., Carpio-Ortiz, L., Barreto-Rodríguez, G., & Tirado, D. F. (2022). High-intensity

- ultrasound-assisted extraction of pectin from mango wastes at different maturity. *International Journal Food Science*. 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/4606024>.
18. Subash, M. C., & Perumalsamy, M. (2022). Ultrasound-mediated pectin extraction from pseudostem waste of *Musa balbisiana*: a resource from banana debris. *Polymer Bull.* <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04538-y>.
19. Kamal, M. M., Ali, M. R., Shishir, M. R. I., Saifullah, M., Haque, M. R., & Mondal, S. C. (2019). Optimization of process parameters for improved production of biomass protein from *Aspergillus niger* using banana peel as a substrate. *Food Science Biotechnology*. 28, 1693-1702.
20. Hosseini, S. S., Khodaiyan, F., Kazemi, M., & Najari, Z. (2019). Optimization and characterization of pectin extracted from sour orange peel by ultrasound assisted method. *International Journal Biological Macromolecule*. 125, 621-629.
21. Xu, F., Zhang, S., Waterhouse, G. I. N., Zhou, T., Du, Y., Sun-Waterhouse, D., & Wu, P. (2022). Yeast fermentation of apple and grape pomaces affects subsequent aqueous pectin extraction: Composition, structure, functional and antioxidant properties of pectins. *Food Hydrocolloid*. 133, 107945.
22. Dranca, F., & Oroian, M. (2019). Ultrasound-assisted extraction of pectin from *Malus domestica* 'Fălticeni' apple pomace. *Processes*. 7 (8), 488.
23. Calvete-Torre, I., Muñoz-Almagro, N., Pacheco, M. T., Antón, M. J., Dapena, E., Ruiz, L., Margolles, A., Villamiel, M., & Moreno, F. J. (2021). Apple pomaces derived from mono-varietal Asturian ciders production are potential source of pectins with appealing functional properties. *Carbohydrate Polymer*, 264. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117980>.
24. Kamal, H., Le, C. F., Salter, A. M., & Ali, A. (2021). Extraction of protein from food waste: an overview of current status and opportunities. *Comparative Review Food Science Food Saft*. 20, 2455-2475.
25. Phaiphon, A. (2022). Ultrasound assisted extraction of pectin from banana peel waste as a potential source for pectin production. *Acta Science Polymer Technology Aliment*, 21, 17-30.
26. Panwar, D., Panesar, P. S., & Chopra, H. K. (2023). Ultrasound-assisted extraction of pectin from Citrus limetta peels: optimization, characterization, and its comparison with commercial pectin. *Food Bioscience*, 51, 102231.
27. Djaoud, K., Muñoz-Almagro, N., Benítez, V., Martín-Cabrejas, M. A., Madani, K., Boulekbache-Makhlouf, L., & Villamiel, M. (2022). New valorization approach of Algerian dates (*Phoenix dactylifera* L.) by ultrasound pectin extraction: physicochemical, techno-functional, antioxidant and antidiabetic properties. *International Journal Biological. Macromolecules*. 212, 337-347.
28. Shishir, M. R. I., Taip, F. S., Aziz, N. A., Talib, R. A., & Hossain Sarker, M. S. (2016). Optimization of spray drying parameters for pink guava powder using RSM. *Food Science Biotechnology*. 25, 461-468.
29. Spinei, M., & Oroian, M. (2022). Characterization of pectin from grape pomace: a comparison of conventional and pulsed ultrasound-assisted extraction techniques. *Foods* 11, <https://doi.org/10.3390/foods11152274>.
30. Muñoz-Almagro, N., Molina-Tijeras, J. A., Montilla, A., Vezza, T., Sánchez-Milla, M., Rico-Rodríguez, F., & Villamiel, M. (2023). Pectin from sunflower by-products obtained by ultrasound: chemical characterization and in vivo evaluation of properties in inflammatory bowel disease. *International Journal Biological Macromolecular*. 246, 125505.
31. Jafarzadeh-Moghaddam, M., Shaddel, R., & Peighambaroust, S. H. (2021). Sugar beet pectin extracted by ultrasound or conventional heating: a

- comparison. *Journal Food Science Technology*. 58, 2567-2578.
32. Nguyen, B. M. N., & Pirak, T. (2019). Physicochemical properties and antioxidant activities of white dragon fruit peel pectin extracted with conventional and ultrasound-assisted extraction. 5. <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1633076>.
33. Chalapud, M. C., & Carrín, M. E. (2023). Ultrasound-assisted extraction of Oilseeds sustainability processes to obtain traditional and non-traditional food ingredients: a review. *Compressive Review Food Science Food Saft*. 22, 2161-2196.
34. Deng, Y., Wang, W., Zhao, S., Yang, X., Xu, W., Guo, M., Xu, E., Ding, T., Ye, X., & Liu, D. (2022). Ultrasound-assisted extraction of lipids as food components: mechanism, solvent, feedstock, quality evaluation and coupled technologies – a review. *Trends Food Science Technology*. 122, 83-96.
35. Mushtaq, A., Roobab, U., Denoya, G. I., Inam-Ur-Raheem, M., Gull'on, B., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Zeng, X. A., Wali, A., & Aadil, R. M. (2020). Advances in green processing of seed oils using ultrasound-assisted extraction: a review. *Journal Food Process Preservation*. 44, e14740,
36. Buvaneshwaran, M., Radhakrishnan, M., & Natarajan, V. (2023). Influence of ultrasound-assisted extraction techniques on the valorization of agro-based industrial organic waste – a review. *Journal Food Process Engineering*. 46, e14012.
37. Chamutpong, S., Chen, C. J., & Chaiprateep, E. O. (2021). Optimization ultrasonic-microwave assisted extraction of phenolic compounds from *Clinacanthus nutans* using response surface methodology. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research (JAPTR)*. 12, 190-195.
38. de Oliveira, C. F., Giordani, D., Lutckemier, R., Gurak, P. D., Cladera-Olivera, F., & Marczak, L. D. F. (2016). Extraction of pectin from passion fruit peel assisted by ultrasound. *LWT–Food Science Technology*. 71, 110-115.

