Archive of SID

جداسازی قندهای شربت خرما به وسیله‌ی کروماتوگرافی تبادل یونی

مرجان جمشیدی مخبر، منوچهر وثوقی، ایران عالم‌زاده*+
تهران، دانشگاه صنعتی شریف، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، صندوق پستی ۱۱۳۶۵-۶۸۹۱

چکیده: *ایران یکی از بزرگ‌ترین تولیدکنندگان و صادرکنندگان خرما در جهان است که حدود ۱۸ درصد خرمای جهان را تامین می‌کند. مقدار زیادی از خرمای تولیدی در کشور از نوع درجه ۳ و درجه ٤ و خرمای ضایعاتی است که موارد مصرف مناسبی ندارد، در حالی که می توان از این منبع سرشار از مواد مغذی در تولید انواع فراورده‌های غذایی از جمله مربا، مارمالاد، نوشیدنی‌ها، شیرینی و... استفاده کرد. در این پژوهش، امکان تولید شربت غنی از فروکتوز با درصدهای مختلف فروکتوز، که امروزه یکی از شیرین کننده‌های مورد توجه در دنیا می‌باشد، از فراورده خرمای موجود در کشور مورد بررسی قرار گرفته است. بدین منظور ابتدا جداسازی مخلوط قندی شامل گلوکز و فروکتوز در یک ستون رزینی تبادل یونی بررسی شده و بهترین غلظت مخلوط قندی برای ستون کروماتوگرافی به دست آمد. ضمن این‌که ۸۷ درصد جداسازی قندها به وسیله‌ی ستون انجام شد. در مرحله بعد پس از بررسی ویژگی‌های شربت خرمای مورد استفاده، نتیجه‌های به دست آمده برای شربت خرما که مخلوطی از گلوکز، فروکتوز و ساکارز است نیز مورد آزمایش قرار گرفته و جداسازی ۳ قند در مدت زمان ۳۵ دقیقه مشاهده شد .*

واژه‌های کلیدی: *شربت قندی، شربت غنی از فروکتوز، کروماتوگرافی ستونی، رزین‌های تبادل یونی، شربت خرما.*

KEY WORDS: *Carbohydrate solution, High froctose syrup, Column chromatography, Ion exchange resin, Date syrup.*

مقدمه

گلوکز که تنها ۷۰ درصد شیرینی ساکارز را دارد، نامحلول است و برای جلوگیری از تبلور باید گرم نگه داشته شود. در صورتی که فروکتوز، ۳۰ درصد شیرین تر از ساکارز است و در دماهای پایین دو برابر محلول‌تر از گلوکز است. در نتیجه تبدیل ۵۰ درصدی گلوکز به فروکتوز می تواند بر مشکلات عنوان شده غلبه کند و شربت پایداری می‌دهد که به شیرینی محلول ساکارز در غلظت یکسان است. امروزه با استفاده از فناوری آنزیم‌ها می‌توان شربت با محتوای ۴۲ درصد فروکتوز تولید کرد و با استفاده از ستون‌های کروماتوگرافی تبادل یونی به شربت‌های با محتوای فروکتوز بالاتر دست یـافت. در واقع فراینـد کروماتوگرافی از چنـد دهـه گذشتـه دهه گذشته در بسیاری از صنایع از جمله صنعت شکر برای مقاصد متفاوتی مانند جداسازی، تصفیه و غنی‌سازی فراورده مورد استفاده قرار گرفته است [۱].

جداسازی به روش کروماتوگرفی، یک عملیات واحد مهم در صنعت شکر و مشتقات آن است که در دو دهه اخیر، پیشرفت‌های قابل ملاحظه ای در کاربرد این فناوری انجام شده است [۲]. در این سیستم‌ها فاز ساکن رزین‌های کاتیونی استایرن دی وینیل بنزن به فرم نمک با گروه‌های عاملی سولفونات هستند که با داشتن یون کلسیم، قابلیت جداسازی گلوکز و فروکتوز را از یکدیگر برای تولید شربت غنی از فروکتوز دارا هستند .این رزین‌ها هم به عنوان

*عهده دار مکاتبات
+E-mail: alemzadeh@sharif.edu

www.SID.ir

Archive of SID

غربال مولکولی عمل کرده و مانع ورود مولکول‌های بزرگ به بستر رزینی می‌شوند و هم جداسازی کربوهیدرات‌ها بر اساس تفاوت پایداری کمپلکس شکر با کلسیم انجام می‌شود [۳ و ۴].

اهمیت میوه خرما

درخت خرما بومی منطقه مدیترانه است و به طور عمده در جنوب غربی آسیا و شمال آفریقا کاشته می شود. این فراورده سرشار از کالری، کربوهیدرات‌ها و ویتامین هاست و می‌تواند در صنایع تبدیلی متفاوت مانند الکل اتیلیک، سیتریک اسید، خمیر مایه و تهیه شربت غنی از فروکتوز مورد استفاده قرار گیرد [۵]. تولید خرما در سال ۲۰۰۲ میلادی حدود ۵/۴ میلیون تن بوده که ۶۵ درصد این مقدار در ناحیه خلیج فارس تولید شده و ایران با تولید ۱۸ درصد از کل خرمای جهان، از بزرگ‌ترین تولیدکنندگان خرما به شمار می‌رود [۶ و ۷]. اما مطابق با آمار وزارت بازرگانی در سال ۲۰۰۰ میلادی، ایران با تولید حدود یک میلیون تن خرما تنها صد هزار تن صادرات داشته و اگر مصرف داخلی خرما در این سال دویست هزار تن فرض شود، مقدار زیادی از این فراورده در کشور به هدر می‌رود، در صورتی که می توان از آن در صنایع غذایی متفاوت استفاده کرد. برای مثال، از آنجایی که خرما محتوی مقدار زیادی گلوکز و فروکتوز است، می‌توان با جداسازی فروکتوز به کمک کروماتوگرافی، شربت با محتوای فروکتوز ۵۵ درصد تولید کرد و با تبدیل آنزیمی گلوکز به فروکتوز به شربت‌های با محتوای فروکتوز بالاتر دست یافت [۸].

مواد و روش‌ها

– رزین آمبرلیت Amberlite CR ۱۳۲۰ Ca به فرم کلسیم از شرکت Rohm and Haas.

– شیره خرما با بریکس ۷۴ درصد از شرکت خرما بن جنوب.

– گلوکز و فروکتوز و سایر معرف‌ها که همگی از شرکت مرک هستند.

برای تشخیص وجود قند در محلول خروجی از ستون کروماتوگرافی تبادل یونی از روش *مولیش* استفاده شد [۹] و نوع و مقدار دقیق قندها در محلول‌هایی که با روش *مولیش* مناسب‌تر تشخیص داده شدند، با روش HPLC تعیین شد. برای تعیین مقدار کلسیم در شربت خرما از روش EDTA استفاده شد و اندازه‌گیری پروتئین با روش *کجلدال* و اندازه‌گیری قندها با استفاده از روش‌های *نلسون ـ سموژی* برای تعیین قند کل و *سیستئین ـ کاربازول* برای اندازه‌گیری فروکتوز انجام گرفت [۱۰]. همچنین مقدار گلوکز، فروکتوز و ساکارز موجود در شربت خرما به صورت مجزا با استفاده از روش HPLC نیز تعیین شد.

جداسازی گلوکز و فروکتوز از محلول سنتزی به روش کروماتوگرافی ستونی

ستون شیشه‌ای به قطر داخلی ۳ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر تهیه شده و انتهای ستون با مقداری پشم شیشه بسته شد تا مانع خروج ذره‌های رزین شود. ابتدا مقداری آب یون‌زدایی شده در ستون ریخته شده سپس رزین آمبرلیت به روش slurry با تهیه دوغاب غلیظی از رزین در آب یون‌زدایی شده در ستون شیشه ای ریخته شد [۱۱]. سپس آب اضافی از پایین ستون خارج شد به طوری که همواره ۱ تا ۲ سانتی متر آب بالای بستر رزینی موجود باشد. ارتفاع بستر رزینی پس از ته نشین شدن بستر ۳۰ سانتی‌متر و حجم بستر ۲۰۰ میلی‌لیتر بوده است .

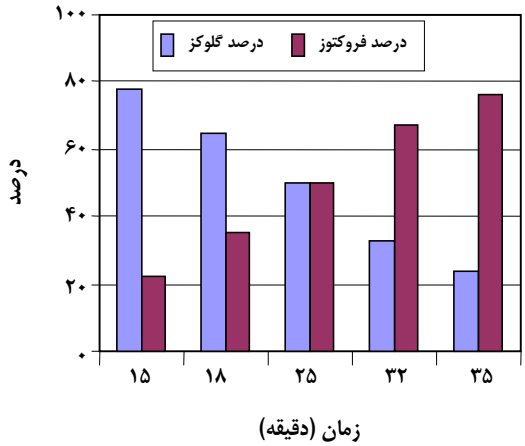
به‌منظور جداسازی گلوکز و فروکتوز در محلول سنتزی و تعیین بهترین غلظت خوراک برای کروماتوگرافی تبادل یونی، ابتدا سه محلول سنتزی گلوکز و فروکتوز (هر یک ۵۰ درصد) به غلظت‌های ۸۰،۴۰ و۹۰ گرم بر لیتر به ستون تزریق شد. باتوجه به ظرفیت رزین حجم نمونه‌ای که باید تزریق شود، ۵ درصد حجم بستر یعنی ۱۰ میلی‌لیتر بوده است [۱۲]. ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از محلول سنتزی به وسیله‌ی پیپت و به طور یکنواخت به ستون تزریق شد و سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب یون زدایی شده به آرامی به بستر تزریق شد و پس از چند دقیقه به وسیله‌ی یک پمپ پری استاتیک آب یون‌زدایی شده با دبی ۵ میلی‌لیتر بر دقیقه به مدت ۷۵ دقیقه از بستر عبور داده شد تا قندها به طور کامل از ستون خارج شوند. از ۵ دقیقه پس از تزریق محلول خوراک به بستر تا ۶۰ دقیقه بعد، شربت خروجی از ستون کروماتوگرافی در ظرف‌های کوچک نمونه‌گیری جمع آوری شدند و ابتدا به وسیله‌ی آزمایش *مولیش* وجود قند در نمونه‌ها تشخیص داده شده، سپس برای تعیین نوع و مقدار قند در نمونه‌های مناسب تر از آنالیز HPLC استفاده شد. در ضمن دمای عملیاتی ۳۵ درجه سانتی‌گراد بوده است.

اندازه گیری ویژگی‌های شربت خرما

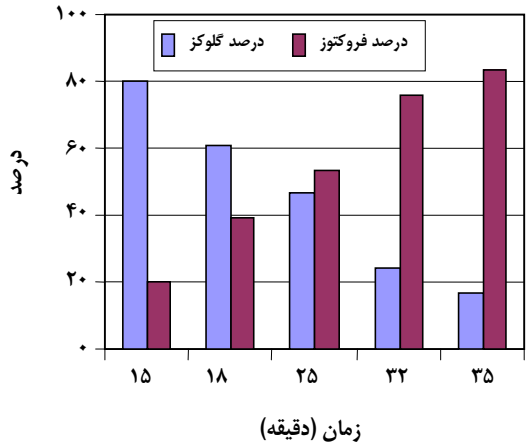
برای تعیین ویژگی‌های شربت خرما آزمون‌هایی برای اندازه‌گیری چگالی، وزن جامدات Brix، کلسیم، پروتین و قندها انجام شد [۱۰].

www.SID.ir

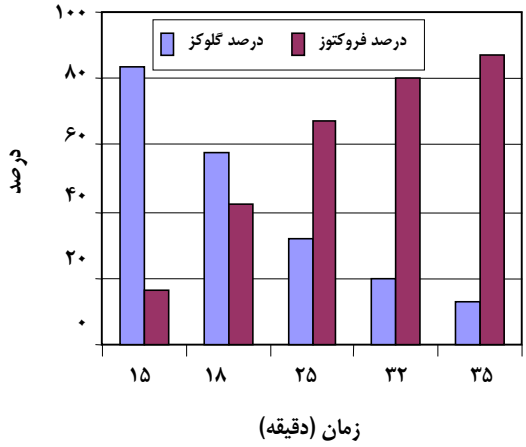
Archive of SID



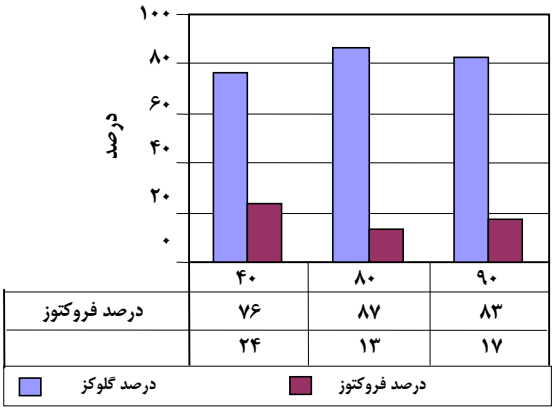
شکل ۱ـ درصد قندهای خروجی از ستون کروماتوگرافی برای شربت سنتزی با غلظت g/lit ٤٠ در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و pH=۷ .



شکل ۳ـ درصد قندهای خروجی از ستون کروماتوگرافی برای شربت سنتزی با غلظت g/lit ۹۰ در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و pH=۷ .



شکل ۲ـ درصد قندهای خروجی از ستون کروماتوگرافی برای شربت سنتزی با غلظت g/lit ۸۰ در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و pH=۷ .



شکل ٤ـ درصد قندهای خروجی در زمان ۳۵ دقیقه (فراورده‌ی غنی از فروکتوز) برای سه غلظت متفاوت خوراک در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و pH=۷ .

جداسازی گلوکز و فروکتوز از شربت خرما به روش کروماتوگرافی ستونی

پس از به دست آوردن بهترین غلظت محلول قندی برای کروماتوگرافی (غلظت بهینه ۸۰ گرم بر لیتر) شربت خرما به عنوان مخلوط طبیعی از ۳ کربوهیدرات با غلظت بهینه و در شرایط مشابه به ستون کروماتوگرافی تزریق شد و با نمونه گیری از محلول خروجی از ستون در زمان‌های متفاوت و تعیین نوع و مقدار قندها به روش *مولیش* و HPLC درصد قندهای جداسازی شده به روش کروماتوگرافی بر حسب زمان به دست آمد.

نتیجه‌ها و بحث

جداسازی مخلوط گلوکز و فروکتوز

شکل های ۱ تا ۳ درصد قندهای موجود در نمونه های خروجی از ستون را بر حسب زمان برای سه مخلوط سنتزی با غلظت‌های ۸۰،۴۰ و۹۰ گرم بر لیتر نشان می‌دهد. به طوری‌که ملاحظه می شود گلوکز بیشتر در زمان ۱۵ دقیقه و فروکتوز پس از ۳۵ دقیقه از ستون خارج شده است. فروکتوز به عنوان شربت خروجی پس از ۳۵ دقیقه تعریف می‌شود. شکل ۴ درصد گلوکز و فروکتوز را در فراورده‌ی غنی از فروکتوز برای هـر سـه خـوراک با

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ـ ویژگی‌های شربت خرما برای ۱۰۰ گرم شربت.

ویژگی	مقدار
چگالی	۱٫۳۴۷ g/ml
پروتئین	۰٫۵ g
کلسیم	۷٫۵ mg
فروکتوز	۳۷ g
گلوکز	۳۵ g
ساکارز	۵ g
Brix	۷۴ درصد

غلظت‌های ۴۰، ۸۰ و ۹۰ گرم بر لیتر نشان می دهد .

با توجه به شکل ۴، فروکتوز خروجی از ستون کروماتوگرافی پس از ۳۵ دقیقه برای خوراک اول با غلظت ۴۰ گرم بر لیتر، ۷۸ درصد و برای خوراک دوم با غلظت ۸۰ گرم بر لیتر، ۸۷ درصد و برای خوراک سوم با غلظت ۹۰ گرم بر لیتر، ۸۳ درصد بوده است. در نتیجه غلظت بهینه خوراک برای ستون ۸۰ گرم بر لیتر می‌باشد که بیشترین جداسازی را داشته است .

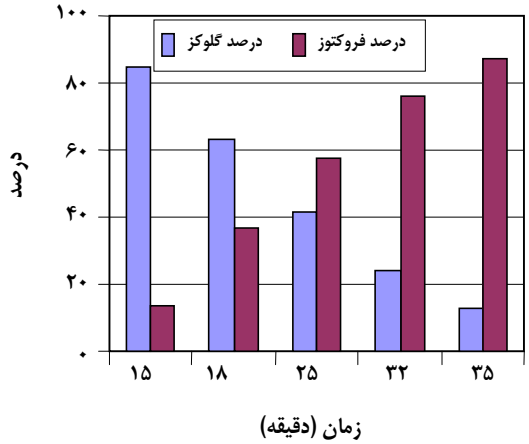
تعیین خواص شربت خرما

نتایج مربوط به تعیین خواص شربت خرما شامل چگالی، وزن جامدات Brix، محتوی کلسیم، پروتئین و قند در جدول ۱ آورده شده است. مقدارهای گزارش شده برای ۱۰۰ گرم شربت است.

جداسازی قندهای شربت خرما

شربت خرما با غلظت بهینه یعنی ۸۰ گرم بر لیتر در شرایط مشابه به ستون تزریق شد و ستون به مدت ۷۵ دقیقه با آب یون‌زدایی شده شستشو شد و پس از نمونه گیری آنالیز شربت خروجی از ستون با روش *مولیش* و همچنین دستگاه HPLC انجام شد. شکل ۵ درصد قندهای خروجی از ستون کروماتوگرافی را از زمان ۱۵ تا ۳۵ دقیقه پس از آغاز شستشوی ستون نشان می‌دهد.

شربت خرما مخلوطی از سه قند ساکارز، گلوکز و فروکتوز است. در جداسازی قندهای شربت خرما به وسیله‌ی کروماتوگرافی تبادل



شکل ۵ـ درصد قندهای خروجی از ستون از کروماتوگرافی برای شربت خرما با غلظت g/lit ۸۰ در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و pH=۷ .

یونی ساکارز در دقایق اولیه از ستون خارج شده و به دنبال آن گلوکز و در نهایت فروکتوز خارج شده است. همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده است، به ۸۷ درصد جداسازی برای فروکتوز و ۸۵ درصد برای گلوکز می توان دست یافت .

نتیجه‌گیری نهایی

در جداسازی قندها به روش کروماتوگرافی تبادل یونی پایداری کمپلکس تشکیل شده بین کربوهیدرات و یون کلسیم رزین باعث تاخیر در خروج کربوهیدارت‌ها می‌شود، در نتیجه ساکارز در دقایق اولیه از ستون خارج می شود و به دنبال آن قسمت بیشتر گلوکز و در نهایت فروکتوزکه به دلیل ایجاد پایدارتر با کلسیم، تاخیر بیشتری در ستون دارد. در نتیجه برای جداسازی مخلوط سنتزی با غلظت بهینه (۸۰ گرم بر لیتر) ۸۵ درصد گلوکز در فراورده‌ی غنی از گلوکز پس از ۱۵ دقیقه و ۸۷ درصد فروکتوز در فراورده‌ی غنی از فروکتوز پس از ۳۵ دقیقه مشاهده می شود .

برای جداسازی قندهای شربت خرما به‌وسیله‌ی کروماتوگرافی تبادل یونی با غلظت بهینه و دبی مناسب برای آب یون‌زدایی شده، مشاهده می‌شود که ساکارز پس از ۹ دقیقه از ستون خارج می‌شود، در حالی که ۸۵ درصد گلوکز در فراورده‌ی غنی از گلوکز پس از ۱۵ دقیقه و ۸۷ درصد فروکتوز در فراورده‌ی غنی از فروکتوز پس از ۳۵ دقیقه از ستون خارج می‌شود. در ضمن هر آزمایش حدود ۷۵ دقیقه طول می‌کشد، تا ستون به طور کامل شسته شده و برای تزریق بعدی آماده شود.

www.SID.ir

Archive of SID

دبی ۵ میلی‌لیتر در دقیقه برای آب یون‌زدایی شده، در واقع کم‌ترین دبی بوده است که جداسازی مناسب انجام شده زیرا برای دبی‌های بالاتر، زمان ماند در ستون کافی نبوده و جداسازی به خوبی انجام نمی‌شود.

به‌منظور افزایش بازده جداسازی به‌روش کروماتوگرافی، می‌توان اثر دما را بر جداسازی بررسی کرد و در صورت استفاده از چند ستون سری می توان حجم خوراک وارد شده به ستون را افزایش داده و از رقیق شدن فراورده جلوگیری کرد.

تاریخ دریافت: ۸۵/۴/۲۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۲/۱۴

مراجع

[1] Toumr, A., Engell, Optimization-Based Control of a Reactive Simulated Moving Bed Process for Glucose Isomerization, *Chemical Engineering Science*, **59**, p. 3777 (2004).

[2] Coelho, MS., Azevedo, DCS., Teixeira, JA., Rodrigues, A., Dextran and Fructose Separation on an SMB Continuous Chromatographic Unit, *Biochemical Engineering Journal*, **12**, 215 (2002).

[3] Pailiat, D., Cotillon, M., Theoleyre, M., Technology of Chromatographic Separation in Glucose Syrup Processes, Applexion SA France, In: 7th Symposium Association AVH. University Reims. France, pp. 62-64 (2000).

[4] www.eurodia.com/html/ic.html, last modified :October (2004).

[5] Azevedo, DCS., Ridrigues, A., SMB Chromatography Applied to the Separation and Purification of Fructose from Cashew Apple Juice, *Brazilian Journal of chemical Engineering*, **17**, 507 (2000).

[6] Botes Andre, Zaid, A., The Economic Importance of Date Production and International Trade, Date Production Support Program, Agriculture Department FAO Corporate Document Repository, www.fao.org/docrep/006/Y4360E/Y4360E00.htm, updated by Pascal Liu (2002).

[7] Al-Bazzaz Salah., Global Date Production at Risk Due to Pests and Diseases, www.Fao.org/newsroom/en/news/2004/48147/index.html, last modified :13 July (2004).

[8] Iranian Date and its Market in the world, Iran Ministry of Commerce, Industries and Mines, www.iccim.org/English/magazine/iran_commerce/no1_2001/22.html, last modified :October (2001).

[9] Schrech James, O., Loffredo William M., Qualitative Testing for Carbohydrates, Modular Laboratory Program in Chemistry, Copyright at 1994 by Chemical Education Resources Inc. Pennsylvania, www.cerlabs.com/experiments/10875404464.pdf.

[10] Maghsoodi, V., Quantitative and Qualitative Experiments of Food, Tehran: Sharif University of Technology, Biochemical and Bioenvironmental Research Center, pp. 10-35 (2000).

[11] Wankat Phillip C., "Large-Scale Adsorption and Chromatography", CRC Press Inc; Vol 2. p.50 (1986).

[12] www.rohmhaas.com/ionexchange/nutrition/product.html, last modified, (2005).

www.SID.ir