

## بهینه سازی فرآیند شفاف سازی آب میوه دو وارسته بومی توت سفید

امیر حسین الهامی راد\*

استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران

تاریخ دریافت: 1390/5/5 تاریخ پذیرش: 1390/11/6

### چکیده

در این پژوهش از دو وارسته بومی منطقه سبزوار به نام های بخارایی (بی دانه) و میخچه (دانه دار) جهت مقایسه خصوصیات فیزیکوشیمیایی و بهینه سازی فرآیند شفاف سازی آب میوه، استفاده گردید. دو وارسته توت مورد نظر، از دو درخت تقریباً هم سن انتخاب شدند که در مجاورت یکدیگر در داخل یک باغ قرار داشتند. بنابراین یکسان بودن شرایط آب و هوایی، آبیاری، خاک و کوددهی تا حد امکان مورد توجه قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد وارسته توت بخارایی دارای درصد رطوبت، قند، pH و بریکس بالاتری است اما مواد معدنی و اسیدیته کمتری نسبت به وارسته میخچه دارد ضمن اینکه از لحاظ طعم مطلوب تر می باشد. مقایسه اثر مستقل برخی ترکیبات شفاف کننده شامل سیلیکاژل، بنتونیت، اسید تانیک، پکتیناز و a-آمیلاز نشان داد که استفاده از اسید تانیک در شفاف سازی آب توت اثر قابل توجهی در حذف عوامل کدورت زا و تیرگی ناشی از ملانین های حاصل از قهوه ای شدن آنزیمی دارد هر چند که استفاده از این روش موجب افزایش اسیدیته آب توت می شود. بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق، روش ترکیبی آنزیم- کمک شفاف کننده، همراه با اصلاح pH آب توت می تواند به عنوان یک روش موثر در شفاف سازی آب توت سفید، استفاده گردد.

**واژه های کلیدی:** توت سفید، خصوصیات فیزیکوشیمیایی، آب توت، شفاف سازی

## 1- مقدمه

توت از خانواده Moraceae و جنس Morus است که شامل 24 گونه، یک زیر گونه و حداقل 100 واریته شناخته شده می باشد. توت سفید بومی شرق آسیاست و در مناطق وسیعی از شمال هند، پاکستان و ایران گسترده شده است. در اغلب کشورهای توت پرورش می یابد بویژه در هند و چین از برگ آن برای تغذیه کرم ابریشم استفاده می شود. لذا در این کشورها بر روی افزایش میزان برگ دهی آنها تمرکز شده است اما در بیشتر کشورهای اروپایی شامل ترکیه و یونان، توت ها بیشتر به منظور تولید میوه پرورش داده می شوند (1، 5، 8، 10).

توت سفید جزو میوه های نرم طبقه بندی می شود. این میوه ها نسبت به کپک و مخمر حساس بوده و در هنگام برداشت نیز نسبت به ضرب دیدگی حساسیت زیادی دارند و نمی توان آنها را به طور مناسبی انبار کرد. میوه های نرم، فصل برداشت بسیار کوتاهی داشته و نگهداری آنها در دوره ی پس از برداشت، معمولاً به صورت انجماد عمیق می باشد (2). یکی از مهم ترین مشکلات در رابطه با توت سفید، قهوه ای شدن محصول است که به خصوص در اثر ضرب دیدگی رخ می دهد و موجب بد رنگ شدن محصول و تغییر طعم آن می گردد. این واکنش در طی خشک کردن محصول نیز مشاهده می شود. نگهداری توت در دمای یخچال و سرد کردن سریع آن بلافاصله پس از جمع آوری تا حد زیادی سرعت قهوه ای شدن را کاهش می دهد (14).

برداشت و فراوری توت سفید در ایران حتی سایر نقاط جهان به طریق سنتی انجام می شود. میوه های توت سفید اغلب به روش پهن کردن یک پارچه روی زمین و تکاندن شاخه های درخت برداشت می شوند. این میوه ها حاوی مقادیر زیادی رطوبت در موقع برداشت هستند. توت های شسته نشده را می توان چند روز در یخچال در داخل ظرف نگهداری کرد. به دلیل کوتاه بودن فصل برداشت و حساسیت به انبار کردن، غالباً خشک کردن به عنوان روش نگهداری استفاده می شود. علاوه بر این از توت در تولید آب میوه، کنسرت، مارمالاد، شراب و فرآورده های به نام شیربه یا Pekmez استفاده می شود. در ایران میوه توت سفید به صورت خام و تازه و یا به صورت خشک به عنوان آجیل و یا همراه با چای استفاده می شود. همچنین تولید سرکه و شیربه نیز در برخی مناطق رواج دارد (3).

در ایران 3 گونه آن به نام توت سفید<sup>1</sup>، توت سیاه<sup>2</sup> و توت سرخ<sup>3</sup> با واریته های متعدد دیده می شوند. انواع توت های سفید ایران گروه بندی و نام گذاری نشده اند. همه آنها را به نام "توت" می خوانند. بنا بر گزارش سالنامه آمار کشاورزی ایران، تولید توت سفید در ایران سالانه حدود 26270 تن می باشد که البته در مقایسه با کشورهای نظیر ترکیه در سطح بسیار پایین تری قرار دارد. استان خراسان رضوی (مشهد) با سطح زیر کشت 10 هکتار به صورت غیر بارور و 196 هکتار به صورت بارور و نیز میزان تولید 529/2 تن و 270000 kg/ha عملکرد سطح بارور در سال 1391، مرکز کشت و پرورش توت سفید بوده است و بیشترین میزان تولید توت در بین سایر شهرستان های خراسان، به مشهد اختصاص یافته است. تولید توت در ترکیه در سال 2000، 68000 تن و در سال 2005، 78000 تن گزارش شده است که 95 درصد از نوع توت سفید، 3 درصد از نوع توت سرخ و 2 درصد از نوع توت سیاه هستند (9).

ترکیبات فنلی موجود در توت سفید دارای طیف وسیعی از فعالیتهای بیوشیمیایی نظیر آنتی اکسیدانی، آنتی موتاژنی و خواص ضد سرطانی و قابلیت اصلاح بیان ژن می باشد (15، 17، 19). میوه رسیده توت حاوی مقادیر زیادی رسوراترول<sup>4</sup> می باشد. این ترکیب نوعی فیتوالکسین با ساختار پلی فنلی است که علاوه بر توت در پوست و دانه انگور (بویژه انگور قرمز)، آب انگور قرمز، بادام زمینی و میوه های نرم جنس "مورد"<sup>5</sup> شامل: قره قاط<sup>6</sup>، Bilberry، Cranberry، و برخی انواع کاج نظیر کاج اسکاتلندی و کاج سفید شرقی به فراوانی وجود دارد. در گیاهان دارای خاصیت ضد قارچی است و اثرات ضد سرطانی، ضد ویروسی، ضد التهابی، ضد پیری، حفاظت سیستم عصبی و افزایش دهندگی طول عمر در گونه های جانوری نظیر موش به اثبات رسیده است (3).

غیر از آب مرکبات، اغلب نوشیدنی هایی که بر پایه میوه به روش صنعتی تولید می شوند، نیاز به شفاف سازی دارند. شفاف سازی با هدف جلوگیری از تشکیل کدورت و رسوب مواد معلق انجام می شود. کدورت آبی موجود در آب میوه ها پس از

<sup>1</sup> Morus alba

<sup>2</sup> Morus nigra

<sup>3</sup> Morus rubra

<sup>4</sup> Resveratrol

<sup>5</sup> Vaccinium

<sup>6</sup> Blue berry

سبزواری، قرار داشتند. بنابراین یکسان بودن شرایط آب و هوایی، آبیاری، خاک و کوددهی تا حد امکان مورد توجه قرار گرفت.

جهت مقایسه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی دو واریته توت سفید، نمونه‌ها تحت آزمایشات مربوط قرار گرفتند. درصد مواد جامد محلول (TSS) به روش رفراکتومتری و با استفاده از رفراکتومتر رومیزی Abbe در دمای  $25^{\circ}C$  تعیین گردید (7). درصد کل قندهای احیا کننده به روش لین-آینون اندازه گیری شد (AOAC, 925.36). جهت اندازه گیری pH از pH متر مدل Suntext sp-701 در دمای  $25^{\circ}C$  استفاده گردید. اسیدیته به روش تیتراسیون با استفاده از سود 0/1 نرمال تعیین و بر حسب اسیداستیک (g/100g) گزارش گردید (AOAC, 942.15).

درصد رطوبت به روش آون گذاری در دمای  $70^{\circ}C$  اندازه گیری شد (7). درصد خاکستر به روش کوره الکتریکی تعیین گردید (AOAC, 940.26). مقدار سدیم (AOAC, 966.16) و پتاسیم (AOAC, 965.30) نمونه‌ها با استفاده از دستگاه Flame Photometer مدل Sherwood 410 اندازه گیری شد.

## 2-1- آماده سازی نمونه‌ها جهت تولید کنسانتره

پس از چیدن میوه‌ها، اضافات برگ و سایر مواد جانبی نظیر چوب، شاخه و ... حذف گردید و بلافاصله عمل آبیگری توسط دستگاه آب میوه گیری انجام شد. آب میوه استخراج شده توسط پارچه از جنس چیت (ململ) صاف شده و در داخل بطری شیشه‌ای دربندی شد. آب توت حساسیت زیادی نسبت به قهوه‌ای شدن آنزیمی دارد و به سرعت تیره می‌شود. لذا جهت به حداقل رساندن واکنش‌های قهوه‌ای شدن، بطری‌ها در داخل مخزن آب جوش به مدت 30S قرار گرفتند تا آنزیم بری انجام شود. نمونه‌های بلانچ شده به سرعت تا دمای  $32^{\circ}C$  سرد شده و سپس در دمای یخچال ( $4^{\circ}C$ ) تا آغاز مرحله بعدی نگهداری شدند.

## 2-2- شفاف سازی

جهت مقایسه اثر مواد شفاف کننده (پکتیناز، a-آمیلاز، بنتونیت، سیلیکاژل و اسید تانیک ساخت شرکت Merck) بر شفاف سازی آب توت، مقدار 50ml آب توت (واریته بخارایی) در ارلن 250 میلی لیتری برداشت شد. سپس 5ml محلول آبی 0/5

فرآیند استخراج، ناشی از ذرات پکتین حاصل از دیواره سلول های گیاهی است اما سایر مواد حاصل از تخریب دیواره سلولی و مواد سلولی نیز ممکن است در ایجاد کدورت سهم باشند. گسترش کدورت در طی نگهداری در سرما، معمولاً مربوط به واکنش بین پروتئین های فعال و پلی فنل هاست که موجب تشکیل ساختارهای نامحلول چند مولکولی می شوند (20 و 21).

شفاف سازی آب میوه به روش پکتین زدایی آنزیمی که به ترتیب شامل افزودن پکتیناز، ژلاتین، سیلیکاسل و یا بنتونیت جهت تخریب پکتین و رسوب ترکیبات معلق و در ادامه، فیلتراسیون و یا سانتریفوژ کردن می باشد در مقیاس صنعتی در تولید آب سیب، گلابی، گیلاس و انگور استفاده می شود. فرآیند شفاف سازی توسط ژلاتین-سیلیکاسل و یا بنتونیت بر مبنای تشکیل اتصالات غیر اختصاصی بین پلی فنل های عامل کدورت و پروتئین ها عمل می کند که منجر به تشکیل فلوک های کلونیدی می شود. این مرحله از فرآیند به کندی انجام می شود زیرا رسوب فلوک ها ممکن است حدود 6 تا 18 ساعت به طول بیانجامد. مشکل دیگر این تیمارها این است که نیازمند استفاده از سیستم های فیلتراسیون تحت خلاء و نیز کاربرد خاک دیاتومه به عنوان کمک صافی و یا کسپل گور برای شفاف کردن و بازیافت آب میوه از رسوبات روی قاب صافی ها می باشند. هر دو ماده کمک صافی مذکور، از لحاظ ایمنی مضر هستند (20 و 21).

در این پژوهش به منظور بهینه سازی فرآیند شفاف سازی آب توت سفید، اثر مستقل برخی از ترکیبات متداول در شفاف سازی شامل سیلیکاژل، بنتونیت و اسید تانیک در مقایسه با دو آنزیم پکتیناز و a-آمیلاز به منظور بهینه سازی فرآیند، مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به بافت نرم میوه توت سفید و حساسیت شدید آن نسبت به قهوه ای شدن آنزیمی، مساله شفاف سازی و حذف ترکیبات کلونیدی از اهمیت خاصی در تولید کنسانتره و آب میوه برخوردار است.

## 2-مواد و روش ها

در این پژوهش از دو واریته بومی منطقه به نام های بخارایی (بی دانه) و میخچه (دانه دار) استفاده گردید. دو واریته توت مورد نظر، از دو درخت تقریباً هم سن انتخاب شدند که در مجاورت یکدیگر در داخل یک باغ در منطقه داورزن شهرستان

شفاف شده، در دمای  $60^{\circ}\text{C}$  تحت شرایط خلاء تا  $Bx=60$  تغلیظ گردیدند.

## 2-5- ارزیابی حسی

جهت ارزیابی حسی کنسانتره بدست آمده از دو وارسته توت سفید و مقایسه صفات مربوط به طعم و مزه، از آزمون ترجیح دوتایی<sup>1</sup> و آزمون لذت بخشی به روش مقیاس 5 درجه ای (تست هدونیک 5 نقطه ای) استفاده شد. در آزمون هدونیک 5 نقطه ای علاوه بر مقایسه صفات مربوط به طعم و مزه در دو نمونه کنسانتره، میزان علاقه یا عدم علاقه مصرف کننده نیز مشخص می شود در حالی که در آزمون ترجیح دوتایی؛ درجه ترجیح نمونه برتر و یا میزان اختلاف بین دو نمونه مشخص نمی شود. جهت این منظور نمونه‌ها در اختیار یک گروه پانلیست 20 نفره قرار گرفتند. در نهایت، مقایسه میانگین امتیازات مربوط به طعم و مزه در تست هدونیک 5 نقطه ای به روش تجزیه و تحلیل واریانس انجام گردید.

## 2-6- آنالیز آماری

بررسی تاثیر روشهای مختلف شفاف سازی در تولید کنسانتره، در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین ها توسط آزمون LSD محافظت شده انجام شد.

## 3- نتایج و بحث

### 3-1- مقایسه خصوصیات فیزیکی شیمیایی دو وارسته توت سفید

در جدول 1 خصوصیات فیزیکی شیمیایی دو وارسته توت مورد بررسی، نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود درصد مواد جامد محلول (درجه بریکس) در وارسته بخارایی به طور قابل توجهی بالاتر از وارسته میخچه است. به طوری که متوسط درجه بریکس در وارسته بخارایی 27 و در وارسته میخچه 18/5 تعیین شده است.

درجه بریکس شاخصی از میزان قند نمونه‌هاست. متوسط درصد کل قندهای احیا کننده در وارسته بخارایی 20/5 درصد اما در وارسته میخچه 18 درصد تعیین گردید.

درصد (وزنی - حجمی) آنزیم پکتیناز (Navo Pectinex) و a- آمیلاز (from Bacillus subtilis-130u/mg-Merck) به طور جداگانه اضافه گردید. در نمونه شاهد فقط 5ml آب مقطر اضافه شد.

به طور مشابه در تیمارهای بعدی به ازای هر 50ml آب توت مقدار 1 گرم مواد کمک شفاف کننده شامل سیلیکاژل، بنتونیت و اسید تانیک به طور جداگانه اضافه شد. سپس نمونه‌های تیمار شده با پکتیناز در دمای  $50^{\circ}\text{C}$  و نمونه‌های تیمار شده با a- آمیلاز، سیلیکاژل، بنتونیت و اسید تانیک در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  به مدت 120 دقیقه انکوبه شدند. پس از طی شدن مرحله انکوباسیون، به مقدار لازم از نمونه‌های تیمار شده برداشت گردید و پس از صاف کردن توسط کاغذ صافی، میزان عبور نور (Transmittance) یا Optical Density در طول موج 540nm به روش اسپکتروفوتومتری (17) (با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Shimadzu UV-120-02)، مقدار مواد جامد محلول به روش رفراکتومتری و اسیدیته قابل تیتراژ بر حسب اسید استیک به روش تیتراسیون توسط سود 0/1N جهت ارزیابی تاثیر روشهای مختلف شفاف سازی بر ترکیب آب توت اندازه گیری شد.

### 2-3- بهینه سازی فرآیند شفاف سازی

بر اساس نتایج حاصل از شفاف سازی آب توت به 5 روش پکتیناز، a- آمیلاز، بنتونیت، سیلیکاژل و اسید تانیک، روش بهینه که ترکیبی از روش‌های آنزیمی و مواد کمک شفاف کننده است طراحی شده و مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بدست آمده از بهینه سازی فرآیند شفاف سازی آب میوه حاصل از وارسته بخارایی، جهت کدورت زدایی از آب میوه وارسته میخچه نیز بکار گرفته شد.

### 2-4- تهیه کنسانتره

در این مرحله شفاف ترین آب توت به دست آمده از روش‌های مختلف شفاف سازی انتخاب و جهت تولید کنسانتره از آب توت شفاف حاصل از دو وارسته میخچه و بخارایی، استفاده گردید. جهت تغلیظ نمونه‌ها از Rotary Evaporator مدل Heidolph Laborta 4001 استفاده شد. نمونه های آب میوه

<sup>1</sup> Paired Preference Test

جدول 1- مقایسه خصوصیات فیزیکی شیمیایی دو وارسته توت سفید (براساس وزن تر)

وارسته میخچه	وارسته بخارایی	ویژگی فیزیکی / شیمیایی
18/5±0/75	27±4	درصد مواد جامد محلول
18±1/10	20/5±0/92	درصد قندهای احیا
5/6±0/04	6/4±0/02	pH
0/72±0/14	0/24±0/08	اسیدیته g/100g
69/5±1/87	72±2/25	درصد رطوبت
30/5±2/22	28±1/94	درصد ماده خشک کل
1/24±0/08	1/15±0/11	درصد خاکستر
100/28±6/85	72/95±5/35	سدیم mg/100g
1672±9/2	1666±11/5	پتاسیم mg/100g

در این پژوهش شفاف سازی آب توت سفید به دو طریق آنزیمی (آنزیمهای پکتیناز و a-آمیلاز) و غیر آنزیمی (سیلیکاژل، اسید تانیک و بنتونیت) انجام شد. حساسیت زیاد آب توت سفید نسبت به قهوه‌ای شدن آنزیمی، موجب تیره شدن رنگ آب میوه می شود. لذا استفاده از یک روش آنزیم بری موثر جهت کند کردن گسترش تیرگی ناشی از قهوه‌ای شدن آنزیمی دارای اهمیت است که باید بلافاصله پس از استخراج آب میوه انجام گیرد.

### 3-3- بررسی اثر بنتونیت در شفاف سازی آب توت

همان طور که در جدول 2 نشان داده شده است میزان درصد عبور نور در طول موج 540nm قبل از تیمار با بنتونیت، 33/7 درصد می باشد که نشان دهنده کدورت بالای آب توت است. بررسی تغییرات درصد عبور نور در طی زمان انکوباسیون نشان دهنده آن است که میزان کدورت به کندی تغییر یافته و پس از 120 دقیقه به 35/4 درصد رسیده است ( $p \geq 0.01$ ) در طی این مدت هیچ تغییری در کدورت نمونه شاهد مشاهده نشده است. رنگ آب میوه شفاف شده به این روش پس از صاف شدن زرد مایل به سبز می باشد.

بررسی تغییر درصد اسیدیته قابل تیتراژ (بر حسب اسید استیک) نشان می دهد که بنتونیت در طی مدت 120 دقیقه انکوباسیون در دمای  $25^{\circ}C$ ، تاثیری بر اسیدیته آب توت نداشته است. به طوری که مقدار اسیدیته در حدود 0/18 g/100g ثابت بوده و تغییر نکرده است.

درصد رطوبت وارسته‌ها نیز تفاوت قابل توجهی را نشان می دهد. به طوری که متوسط درصد رطوبت در وارسته بخارایی 72 اما در وارسته میخچه 69/5 تعیین گردید. علی رغم این که ماده خشک کل در وارسته میخچه بالاتر است اما همانطور که مشاهده می شود درصد قند و درجه بریکس در وارسته بخارایی بیشتر می باشد. علت این امر احتمالاً به دلیل وجود دانه های ریز به تعداد زیاد در وارسته میخچه است که در نتیجه میزان بافت های سلولزی، مواد معدنی و مواد جامد غیر قندی را افزایش می دهد. به عنوان مثال متوسط میزان سدیم در وارسته میخچه 100/28 mg/100g و در وارسته بخارایی 72/95 mg/100g تعیین شد. مقدار پتاسیم نیز در وارسته میخچه نسبت به بخارایی بالاتر می باشد.

مقایسه pH و اسیدیته دو وارسته توت سفید نیز نشان دهنده تفاوت قابل توجهی می باشد ( $p \leq 0.01$ ). به طوری که اسیدیته وارسته میخچه (بر حسب اسید استیک) حدوداً 3 برابر وارسته بخارایی می باشد. بر همین اساس متوسط pH وارسته میخچه 5/6 و متوسط pH وارسته بخارایی 6/4 تعیین گردید.

### 3-2- شفاف سازی آب توت

شفاف سازی یکی از مهمترین مراحل در فراوری آب میوه است که غالباً از طریق میکروفیلتراسیون، تیمار آنزیمی و یا توسط مواد کمک شفاف کننده متداول نظیر ژلاتین، بنتونیت، سیلیکاژل، پلی وینیل پیرولیدون و یا ترکیبی از این مواد انجام می شود.

مقدار بهینه بنتونیت برای آب میوه بین 20-50 گرم در هکتولتر بوده که البته در مورد آب میوه‌های کم اسید (3/5) ( $pH$ ) این مقدار افزایش می‌یابد. از آنجا که مواد معلق در آب میوه‌ها به کمک بنتونیت به کندی رسوب می‌کنند از ترکیب بنتونیت و ژلاتین به نسبت 10 به 1 استفاده می‌شود (12).

### 3-4- بررسی اثر سیلیکاژل در شفاف‌سازی آب توت

همان طور که در جدول 2 نشان داده شده است میزان درصد عبور نور قبل تیمار با سیلیکاژل 33/7 درصد می‌باشد. پس از تیمار با سیلیکاژل درصد عبور نور به کندی افزایش یافته و پس از 120 دقیقه به 42/2 درصد رسیده است ( $p \leq 0.01$ ). در طی این زمان هیچ تغییری در کدورت نمونه شاهد مشاهده نشده است. رنگ آب توت شفاف شده به این روش پس از صاف کردن، زرد مایل به سبز می‌باشد. بر این اساس شفافیت آب میوه در حدود 25 درصد میزان اولیه افزایش یافته است که این تغییر در سطح اطمینان 99 درصد معنی‌دار است.

آزمایشات انجام شده بیانگر این مطلب است که درصد کل اسیدهای آلی در آب توت تحت تاثیر تیمار با سیلیکاژل قرار نمی‌گیرد به طوری که میزان اسیدیته بر حسب اسیداستیک قبل از تیمار با سیلیکاژل 0/18 g/100g است که پس از 120 دقیقه انکوباسیون در  $25^{\circ}C$  در حضور سیلیکاژل تغییری در این میزان مشاهده نمی‌شود. همچنین درصد کل مواد جامد محلول، قبل و پس از تیمار با سیلیکاژل تغییری نشان نمی‌دهد و به طور متوسط حدود 28/5 درصد می‌باشد. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که سیلیکاژل به تنهایی تاثیر اندکی در حذف عوامل کدورت‌زا در آب توت دارد و به کندی موجب کاهش کدورت می‌شود. اما تاثیری بر غلظت اسیدهای آلی و قند آب میوه ندارد.

ذرات سیلیکاژل از لحاظ شیمیایی شامل مولکولهای  $SiO_2$  می‌باشند که اندازه‌ای حدود 5-10 میکرون داشته و سطح آنها توسط یون‌های هیدروکسیل احاطه گردیده است. سیلیکاژل با ایجاد بار منفی در آب میوه و تشکیل فلوک با ترکیبات دارای بار مثبت (مانند پروتئین)، سبب شفاف شدن آب میوه می‌شود. از سوی دیگر، به دلیل دارا بودن جذب سطحی، مواد فنی منومر و یا پلیمری را نیز جذب می‌نماید. اندازه ناچیز ذرات سیلیکاژل در محلول مانع از آن می‌شود که بتوان آن‌ها را به طور مناسب با استفاده از صافی‌ها جداسازی کرد (11 و 12). از این رو در بیشتر

همچنین درصد کل مواد جامد محلول یا درجه بریکس که به عنوان معیار قند موجود در آب میوه است، قبل و پس از تیمار با بنتونیت تغییری نشان نمی‌دهد و به طور متوسط حدود 28/5 درصد می‌باشد.

بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که بنتونیت به تنهایی تاثیر قابل توجهی در حذف عوامل کدورت‌زا در آب توت ندارد. در هر صورت در کنار کاهش اندک در میزان کدورت آب میوه، غلظت اسیدهای آلی و قند آب میوه تحت تاثیر تیمار با بنتونیت قرار نمی‌گیرد.

تاثیر بنتونیت در شفاف‌سازی آب سایر میوه‌ها نظیر انگور، لیمو، سیب و آب پرتقال توسط محققین دیگری نظیر Chatterjee و همکاران (2004) مورد مقایسه قرار گرفته است. بر اساس گزارش این محققین میزان جذب نور در طول موج nm 540 (در دامنه 0-2)، به عنوان معیار کدورت آب میوه، پس از تیمار با بنتونیت 1 gr/50ml (به مدت 90 دقیقه در دمای  $25^{\circ}C$ ) در آب سیب از 1/5 به 1/2، در آب انگور از 1/3 به 0/85، در آب لیمو از 0/54 به 0/37 و در آب پرتقال از 0/65 به 0/57 کاهش یافته است (16).

بنتونیت نوعی خاک رس از گروه مونتموریلونیت با فرمول  $Al_2O_3 \cdot 4SiO_2 \cdot nH_2O$  می‌باشد و به صورت سدیم بنتونیت، کلسیم بنتونیت و هیدروژن بنتونیت (بنتونیت اسیدی) یافت می‌شود. بنتونیت دارای ویژگی جذب سطحی بوده و قابلیت تورم و انبساط پذیری بالایی دارد. اولین تاثیر بنتونیت در شفاف‌سازی آب میوه جداسازی پروتئین به روش جذب سطحی است که پروتئین آب میوه را کاملاً جدا می‌کند اما مقدار اسیدهای آمینه را 10 درصد کاهش می‌دهد (4). بنتونیت مقدار مواد پلی فنل را به روش جذب سطحی 43-13 درصد کاهش می‌دهد که بستگی به نوع بنتونیت دارد. بنتونیت تاثیر قابل توجهی در کاهش یون‌های فلزی سنگین، باقی‌مانده سموم دفع آفات و آمین‌های بیوژنیک دارد (4). در مجموع مقدار بار منفی در بنتونیت بیش از بار مثبت است و از این طریق مولکولهای پروتئین را جذب می‌کند (11).

قدرت تاثیر بنتونیت تابع دما، pH و نوع بنتونیت مصرفی است. به طوری که در دمای  $35^{\circ}C$  بهترین نتیجه حاصل می‌شود اما به طور کلی در محدوده دمایی  $20-50^{\circ}C$  مورد استفاده قرار می‌گیرد. به موازات افزایش غلظت بار منفی در بنتونیت، قدرت شفاف‌کنندگی آن زیاد می‌شود. (11).

آب توت دارد و به سرعت موجب افزایش شفافیت می شود در عین حال بر روی اسیدیته آب توت تاثیر گذاشته و موجب افزایش اسیدیته می شود.

### 3-6- بررسی تاثیر آنزیم پکتیناز بر شفاف سازی آب توت

مواد پکتیکی مجموعه ای از ترکیبات پلیمری هستند که مهترین آن ها پکتین می باشد که محلول در آب است. مقدار پکتین موجود در میوه ها با توجه به نوع واریته و درجه رسیدگی متغیر بوده و غالبا با افزایش درجه رسیدگی، مقدار پکتین کل کاهش می یابد. سایر مواد پکتیکی موجود در آب میوه ها عبارتند از: اسید پکتیک که پلیمر اسید گالاکتورونیک بوده و در آب نامحلول است. پکتات، نمک سدیم یا کلسیم اسید پکتیک است. سدیم پکتات در آب محلول اما کلسیم پکتات در آب نامحلول است. پکتینات نمک پکتین است. پروتوپکتین، کمپلکسی از پکتین و سلولز است که در آن زنجیره های پکتین از طریق گروه های کربوکسیل توسط یونهای کلسیم یا منیزیم به یکدیگر متصل شده اند و در آب غیر محلول است. پکتین ممکن است به صورت مشتقات استیله و ... نیز در آب میوه ها وجود داشته باشد.

حلالیت مواد پکتیکی در آب با افزایش طول زنجیر، کاهش pH محلول و نیز در حضور یونهای فلزی کاهش و با بالا رفتن درجه متیلاسیون افزایش می یابد. مواد پکتیکی به علت اندازه ذراتشان (2-100 mm) و وجود بارهای الکتریکی هم نام، ایجاد محلولهای کلوئیدی می کنند که موجب کدورت محلول می شود. یونیزاسیون گروه های کربوکسیل مواد پکتیکی در آب موجب استقرار بار الکتریکی منفی در سطح آنها می شود. بارهای الکتریکی هم نام یکدیگر را دفع کرده و در این حالت سیستم کلوئیدی پایدار تشکیل می شود. حفاظت کلوئیدی پروتئین ها توسط پکتین نیز موجب ایجاد کدورت پایدار در آب میوه می شود. پروتئین ها نیز از لحاظ اندازه ذرات به گونه ای هستند که مانند پکتین به صورت کلوئیدی در آب حل می شوند. رفتار یونی پروتئین ها بستگی به pH محیط دارد. پروتئین ها در محیط اسیدی دارای بار مثبت و در محیط قلیایی دارای بار منفی و در محدوده خاصی از pH به نام نقطه ایزوالکتریک، به صورت یون های دو قطبی یا خنثی بوده، بار مثبت و منفی یکسان دارند. در نقطه ایزوالکتریک حلالیت پروتئین ها به حداقل رسیده و میزان رسوب

موارد جهت بهسازی تصفیه آب میوه ها از ترکیب سیلیکاژل و ژلاتین استفاده می شود. بر این اساس در آب میوه ها به ازای یک گرم ژلاتین، 2-5 گرم محلول سیلیکاژل با غلظت 30 درصد استفاده می شود تا شفافیت مطلوب حاصل شود. با استفاده از 20 گرم ژلاتین و 40 میلی لیتر محلول 15 درصد سیلیکاژل به ازای هر هکتولتر آب میوه، می توان شفافیت مطلوب در آب سیب را بدست آورد. در هنگام استفاده از سیلیکاژل جهت شفاف سازی، سه عامل اندازه ذرات، pH و درجه حرارت حائز اهمیت است (9). استفاده از ژلاتین همراه با سیلیکاژل خشک نیز گزارش شده است برخی محققین بر این عقیده اند که نسبت سیلیکاژل به ژلاتین باید 6 به 1 انتخاب شود (11 و 12).

### 3-5- بررسی اثر اسید تانیک در شفاف سازی آب توت

هما نظر که در جدول 2 نشان داده شده است درصد عبور نور قبل از تیمار با اسید تانیک 33/7 درصد می باشد. پس از تیمار با اسید تانیک درصد عبور نور به شدت افزایش یافت و پس از 120 دقیقه انکوباسیون در دمای 25°C به حدود 80 درصد رسید. در طی این مدت هیچ تغییری در میزان کدورت نمونه شاهد مشاهده نشد. رنگ آب توت شفاف شده به این روش، پس از صاف کردن، زرد طلایی می باشد.

تاثیر اسید تانیک در حذف عوامل کدورت زا و شفاف سازی آب توت در سطح اطمینان 99 درصد معنی دار است به طوری که درصد عبور نور پس از شفاف سازی حدود 2/4 برابر افزایش یافته است که بسیار قابل توجه می باشد.

بررسی تغییرات اسیدیته نشان دهنده تغییر قابل توجه در مقدار اسیدیته پس از تیمار با اسید تانیک است به طوری که درصد کل اسیدهای آلی بر حسب اسیداستیک از 0/18 g/100g قبل از شفاف سازی به 0/36 g/100g پس از تیمار با اسید تانیک افزایش یافت که این تغییر در سطح اطمینان 99 درصد معنی دار است. بر این اساس مشاهده می شود که میزان اسیدیته در آب توت پس از تیمار با اسید تانیک دو برابر افزایش یافته است.

همان طور که در جدول 2 نشان داده شده است در اثر تیمار آب توت با اسید تانیک، تغییری در درصد مواد جامد محلول کل مشاهده نشد و به طور متوسط حدود 28/5 درصد تعیین گردید. با توجه به نتایج بدست آمده می توان چنین استنباط کرد که اسید تانیک به تنهایی تاثیر قابل توجهی در حذف عوامل کدورت زا در

طی این مدت هیچ تغییری در درصد عبور نور نمونه شاهد مشاهده نشد.

عدم تاثیر آنزیم پکتیناز در شفاف‌سازی آب توت را می‌توان به pH بالای آب توت نسبت داد. در وارپته بخارایی (مشهدی)، pH آب میوه 6/4 می‌باشد و اسیدیته بر حسب اسیداستیک 0/18 g/100g تعیین گردید.

همان طور که قبلا نیز اشاره شد، pH مناسب جهت فعالیت بهینه آنزیم پکتیناز که از منابع قارچی تهیه شده‌اند 3/5-4 و دمای بهینه 45-50°C است. علاوه بر این، در آب میوه‌هایی که pH غیر اسیدی دارند، تحت تاثیر آنزیم‌های پکتولیتیک، حفاظت کلونیدی ناشی از پکتین بر روی ذرات پروتئین از بین رفته و ذرات پروتئین آزاد می‌شوند. اما با توجه به بالا بودن pH آب میوه (pH بالاتر از 4/7)، هسته پروتئینی آزاد شده به جای بار مثبت حاوی بار منفی است و بنابراین دافعه الکترواستاتیکی ناشی از بارهای الکتریکی همنام میان ذرات پروتئین و ذرات پکتیکی حاوی بار منفی از ایجاد فلوک و رسوب ذرات کلونیدی جلوگیری کرده و علیرغم تجزیه پکتین و کاهش ویسکوزیته محلول، از شفاف شدن آب میوه جلوگیری می‌شود (11).

بررسی اسیدیته آب توت قبل از تیمار آنزیمی و پس از آن نشان دهنده این است که تغییری در غلظت اسیدهای آلی رخ نداده است به طوری که میزان اسیدیته قبل و پس از تیمار آنزیمی 0/18 g/100g بر حسب اسید استیک تعیین گردید. از لحاظ تثوریک متیل‌زدایی از زنجیره پکتین توسط آنزیم پکتین متیل استراز منجر به آزاد شدن متانول در آب میوه و ایجاد گروه‌های کربوکسیل در سطح مولکول پکتین می‌شود که می‌تواند بر اسیدیته محیط اثر بگذارد.

مقایسه درصد کل مواد جامد محلول در آب توت قبل از تیمار آنزیمی و پس از آن نشان دهنده این است که تغییری در میزان مواد جامد محلول رخ نداده است به طوری که بریکس آب میوه قبل و پس از تیمار آنزیمی 28/5 درصد تعیین گردید.

تجزیه پکتین موجود در آب میوه‌ها توسط آنزیم پکتیناز در درجه حرارت‌ها و زمان‌های مختلف و مقادیر آنزیم متفاوت توسط محققین بررسی شده است. حسن زاده و همکاران (1378) شفاف‌سازی آب میوه برخی انواع میوه‌های توت مانند<sup>1</sup> شامل آب آلبالو و توت فرنگی را با استفاده از آنزیم پکتیناز به غلظت

به حداکثر می‌رسد. در این زمان حلالیت کلونیدی پروتئین‌ها که ناشی از دافعه میان بارهای الکتریکی همنام است از بین رفته و پروتئین دناتوره شده و منعقد می‌گردد و در نتیجه رسوب می‌کند. هر چند مقدار پروتئین آب میوه‌ها ناچیز است اما وجود آن در آب میوه به خصوص در دماهای پایین موجب کدورت می‌شود (11 و 12).

حفاظت کلونیدی پروتئین‌ها توسط پکتین از آنجا ناشی می‌شود که در pH طبیعی آب میوه (غالباً اسیدی)، ذرات پروتئینی دارای بار الکتریکی مثبت هستند. در آب میوه پلیمرهای پکتینی با درجه متوکسیل کم و حاوی بار منفی اطراف هسته پروتئینی با بار مثبت را احاطه کرده و ایجاد ذرات کلونیدی معلق می‌نمایند که به واسطه داشتن بار منفی همنام یکدیگر را در محلول دفع می‌کنند. از طرفی وجود پکتین آزاد از نوع High Methoxyl در آب میوه موجب افزایش ویسکوزیته می‌شود که به ایجاد حالت کلونیدی ذرات کدورت‌زا نظیر نشاسته، پکتین، پروتئین، پلی‌فنل‌ها، آرابان و ... کمک می‌کند.

افزودن آنزیم پکتین متیل استراز (PME) سبب دمتوکسیله شدن پکتین آزاد محلول در آب میوه می‌شود. در مرحله بعد، آنزیم پلی‌گالاکتوروناز (PG) که بر روی پلیمرهای کاملاً متوکسیله پکتین بی‌اثر است، وارد عمل شده و موجب تجزیه و دپلمیریزاسیون پکتین می‌شود. به این ترتیب کمپلکس آنزیمی PME/PG به پوشش پکتینی ذرات کلونیدی حمله کرده و هسته پروتئینی را آزاد می‌کند. به این ترتیب پکتین و پروتئین به طور مجزا به صورت ذرات باردار با بار منفی و مثبت در آب میوه پراکنده می‌شوند. جاذبه الکترواستاتیک میان بارهای الکتریکی غیرهمنام موجب ایجاد ذرات جدیدی می‌شود که این مجموعه می‌تواند تا بیش از یک میکرون رشد نماید. بنابراین ایجاد ذرات درشت و سنگین همراه با کاهش ویسکوزیته ناشی از تجزیه پکتین آزاد محلول، موجب رسوب ذرات کلونیدی و شفاف‌سازی آب میوه می‌شود (11).

همان طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود درصد عبور نور قبل از تیمار با پکتیناز 33/7 درصد می‌باشد. پس از 120 دقیقه انکوباسیون در دمای 50°C، درصد عبور نور به 34/5 درصد افزایش یافته است که البته این تغییر در سطح اطمینان 95 درصد معنی‌دار نمی‌باشد (p≥0.01) بنابراین می‌توان گفت استفاده از آنزیم پکتیناز تاثیری بر شفاف‌سازی آب توت نداشته است. در

<sup>1</sup> Berry Fruits



نشاسته مدتی به حال خود واگذاشته شود، تحت تاثیر پدیده رتروگراداسیون<sup>1</sup> نشاسته محلول (Sol) ممکن است به حالت نامحلول تبدیل شود. در این حالت زنجیره‌های نشاسته از طریق اتصالات هیدروژنی به یکدیگر متصل شده و مولکولهای آب از لابه‌لای آنها دفع می‌شوند. نزدیک شدن مولکولهای نشاسته به یکدیگر و به هم پیوستن آنها منجر به ایجاد ساختارهای کریستالی نامحلول می‌شود که نسبت به آنزیمهای آمیلاز مقاوم بوده و به راحتی توسط فیلتراسیون از آب میوه جدا نمی‌شوند و ممکن است موجب کدورت ثانویه در آب میوه شود. هر چه مقدار آمیلوز نشاسته بیشتر باشد، احتمال پدیده رتروگراداسیون بیشتر است (11 و 12).

مقدار نشاسته در میوه‌ها متفاوت بوده و بستگی به واریته و درجه رسیدگی میوه دارد. با افزایش میزان رسیدگی میوه‌ها مقدار نشاسته کاهش یافته و مقدار قندهای احیا کننده افزایش می‌یابد. مقدار نشاسته‌ای که به آب میوه نفوذ می‌کند به نوع میوه، میزان رسیدگی، مدت زمان انبار کردن و روش پرس کردن بستگی دارد (11 و 12). در به کار گیری آنزیم‌های تجزیه کننده نشاسته، علاوه بر در نظر گرفتن pH و دمای بهینه فعالیت آنزیم که به منبع آن بستگی دارد، باید به این نکته توجه داشت که این آنزیم‌ها تنها زمانی موثر هستند که نشاسته و دکسترین‌های مربوطه ژلاتینه شده باشند، بنابراین نباید این آنزیم‌ها را پیش از مرحله گرم کردن آب میوه بکار برد (9 و 13). آنزیم  $a$ -آمیلاز اتصالات  $a(1 \rightarrow 4)$  را مورد حمله قرار داده و بر روی اتصالات  $a(1 \rightarrow 6)$  بی‌تاثیر است. آنزیم  $a$ -آمیلاز، آمیلوز را به 87 درصد مالتوز و 13 درصد گلوکز و آمیلوپکتین را به 73 درصد مالتوز و 19 درصد گلوکز تجزیه می‌کند. تشکیل ایزومالتوز ناشی از عدم تاثیر  $a$ -آمیلاز بر اتصالات  $a(1 \rightarrow 6)$  موجود در آمیلوپکتین است. pH بهینه برای فعالیت آنزیم  $a$ -آمیلاز تهیه شده از کپک 4/5-5/5 و دمای بهینه حدود  $50^\circ C$  است ولی به دلیل حساسیت آنزیم به حرارت در محیط اسیدی، از دمای  $30-40^\circ C$  استفاده می‌شود (11 و 12).

در این پژوهش جهت بررسی اثر آنزیم  $a$ -آمیلاز بر شفاف سازی آب توت از آنزیم تهیه شده از Bacillus استفاده شد که دمای بهینه آن  $25^\circ C$  می‌باشد.

همان طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود، درصد عبور نور قبل از تیمار با  $a$ -آمیلاز 33/7 درصد می‌باشد، پس از 120 دقیقه

0/2، 0/15، 0/1 و 0/05 g/Kg در دمای  $50^\circ C$  و مدت زمان 0/5-2/5 ساعت مورد بررسی قرار دادند. این محققین در ادامه، جهت تکمیل شفاف سازی از ژلاتین و بنتونیت همراه با دکانتاسیون و سانتریفوژ استفاده کردند (6). بر اساس نتایج بدست آمده در مورد آب توت فرنگی، استفاده از 0/15 g/kg پکتیناز مطلوب تر بوده به طوری که درصد عبور نور در طول موج nm 610، معادل 52 تعیین گردید. این در حالی است که در مورد نمونه‌های حاوی 0/2 و 0/05 g/kg آنزیم، فعالیت بسیار کم و یا حتی موجب افزایش کدورت شده است. آزمایشات انجام شده بر روی آب آلبالو نشان داد که برای شفاف سازی کامل این آب میوه مقدار 0/2 g/kg آنزیم پکتیناز در دمای  $50^\circ C$  و مدت 2 ساعت نیاز می‌باشد (6). استفاده از آنزیم‌های پکتولیتیک در آب سیب نیز مورد آزمایش قرار گرفته است. Neubeck (1975)، زمان لازم جهت شفاف سازی آب سیب (pH=3/5) را در حضور 0/025 درصد آنزیم پکتیناز و 0/005 درصد ژلاتین در دامنه دمایی  $10-50^\circ C$  مورد بررسی قرار داد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد در دامنه دمایی  $10-30^\circ C$ ، زمان لازم برای تشکیل فلوک به ازای هر  $10^\circ C$  کاهش دما، حدود 2 برابر افزایش می‌یابد، اما اگر دما بیش از  $30^\circ C$  باشد، زمان لازم برای تشکیل فلوک به ازای کاهش هر  $2^\circ C$  دما، 1/5 برابر افزایش می‌یابد (12).

### 7-3- بررسی تاثیر آنزیم $a$ -آمیلاز بر شفاف سازی آب توت

نشاسته پلیمری از واحدهای گلوکز است که بر اساس نحوه اتصالات میان مولکولهای گلوکز از دو بخش آمیلوز و آمیلوپکتین تشکیل شده است. در آمیلوز اتصالات از نوع  $a(1 \rightarrow 4)$  هستند اما در آمیلوپکتین که ساختار منشعب دارد، علاوه بر اتصالات  $a(1 \rightarrow 4)$ ، در محل شاخه‌ها، اتصالات  $a(1 \rightarrow 6)$  نیز وجود دارد. وقتی نشاسته در داخل آب حرارت داده می‌شود در دمای معینی که به آن نقطه آغازین ژلاتینه شدن می‌گویند شروع به جذب آب کرده و متورم می‌شود. این نقطه در دامنه دمایی حدود  $55-75^\circ C$  قرار دارد. در دمای مشخصی درجه تورم به حداکثر رسیده و نشاسته ژلاتینه می‌شود. در این زمان مولکولهای نشاسته به صورت ذرات کلئیدی در داخل آب پخش شده و ایجاد سیستم کلئیدی sol می‌کنند. اگر Sol

<sup>1</sup> Retrogradation

1- آب میوه توت بلافاصله پس از استخراج تحت دمای  $90^{\circ}\text{C}$  به مدت 30S آنزیم بری شد تا از گسترش واکنش‌های قهوه‌ای شدن آنزیمی جلوگیری شود.

2- تنظیم pH آب توت توسط اسید سیتریک در محدوده 4-4/7 که در این صورت جهت فعالیت آنزیم پکتیناز و a-آمیلاز مناسب می‌باشد. علاوه بر این در pHهای کمتر از 4/7، آنزیم پکتیناز در رفع کدورت ناشی از حفاظت کلوئیدی پکتین بر روی پروتئین‌ها موثر می‌باشد. کاهش pH از طریق تاثیر بر سرعت واکنش‌های قهوه‌ای شدن میلارد و قهوه‌ای شدن آنزیمی، گسترش تیرگی ناشی از رنگدانه‌های ملانویئیدین و ملانین را نیز محدود می‌نماید.

3- قبل از تیمار آب توت توسط آنزیم‌های شفاف کننده و مواد کمک شفاف کننده، آب توت تا حدود  $70^{\circ}\text{C}$  حرارت داده شد و سپس تا دمای  $50^{\circ}\text{C}$  سرد گردید. این فرآیند منجر به ژلاتینه شدن نشاسته شده و کارایی آنزیم a-آمیلاز را در تجزیه نشاسته افزایش می‌دهد.

4- افزودن 5ml محلول 0/5 درصد (وزنی-حجمی) پکتیناز و 5ml محلول 0/5 درصد (وزنی-حجمی) a-آمیلاز به 50ml آب توت تیمار شده به ترتیب بندهای 1 تا 4 و انکوباسیون در دمای  $50^{\circ}\text{C}$  به مدت 120 دقیقه.

5- افزودن 0/5 گرم اسید تانیک، 0/5 گرم بنتونیت و 0/5 گرم سیلیکاژل و انکوباسیون در دمای  $50^{\circ}\text{C}$  به مدت 120 دقیقه.

6- ارزیابی درصد عبور نور در طول موج 540nm، تعیین اسیدیته و درجه بریکس در زمان صفر، پس از تیمار آنزیمی و پس از تیمار با مواد کمک شفاف کننده و مقایسه با شاهد.

نتایج حاصل از این آزمایش در جدول 3 نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود درصد عبور نور پس از شفاف سازی به روش ترکیبی حدود 2/5 برابر افزایش یافته و به 92 درصد رسیده است. ضمن این که درصد مواد جامد محلول تغییری نکرده است. افزایش در مقدار اسیدیته نیز احتمالاً ناشی از نقش اسید تانیک می‌باشد.

انکوباسیون در دمای  $25^{\circ}\text{C}$ ، درصد عبور نور به 39 درصد افزایش یافته است که البته این تغییر در سطح اطمینان 99 درصد معنی دار نمی‌باشد ( $p \geq 0.01$ ). در طی این مدت هیچ تغییری در درصد عبور نور نمونه شاهد مشاهده نشد. تاثیر ناچیز آنزیم a-آمیلاز را در شفاف سازی آب توت می‌توان به موارد زیر مرتبط دانست. اول اینکه pH آب توت حدود 6/4 می‌باشد و با pH بهینه فعالیت آنزیم a-آمیلاز تفاوت قابل توجهی دارد که منجر به کاهش فعالیت آنزیم خواهد شد. ثانیاً عدم ژلاتینه شدن نشاسته قبل از تیمار آنزیمی، تاثیر آنزیم را در تجزیه نشاسته به طور قابل توجهی کاهش می‌دهد. لذا نیاز است قبل از تیمار آنزیمی توسط a-آمیلاز، دمای آب میوه تا نقطه ژلاتینه شدن نشاسته افزایش داده شود و سپس تا دمای آنزیم زنی کاهش یابد. بررسی اسیدیته آب توت قبل از تیمار آنزیمی و پس از آن نشان دهنده آن است که تغییری در غلظت اسیدهای آلی رخ نداده است به طوری که میزان اسیدیته قبل و پس از تیمار توسط آنزیم a-آمیلاز،  $0/18 \text{ g}/100\text{g}$  بر حسب اسید استیک تعیین گردید.

مقایسه درصد کل مواد جامد محلول در آب میوه (بر حسب درجه بریکس) قبل از تیمار آنزیمی و پس از آن نشان دهنده این است که تغییری در بریکس آب میوه رخ نداده است به طوری که بریکس آب میوه قبل و پس از تیمار آنزیمی 28/5 درصد تعیین گردید. با توجه به مکانیسم تاثیر a-آمیلاز بر نشاسته که منجر به تبدیل نشاسته به دکستروز و نهایتاً مالتوز و گلوکز می‌شود این انتظار وجود دارد که بریکس آب میوه تغییر نموده و افزایش محسوسی نشان دهد. بر این اساس می‌توان عدم تغییر بریکس را با عدم تغییر قابل توجه در شفافیت آب میوه در طی تیمار آنزیمی توسط a-آمیلاز مرتبط دانست و چنین نتیجه گیری کرد که میزان هیدرولیز جزئی نشاسته تحت شرایط آزمایش، تاثیر قابل توجهی بر افزایش شفافیت و رفع کدورت آب توت نداشته است.

### 3-8- روش بهینه شفاف سازی آب توت

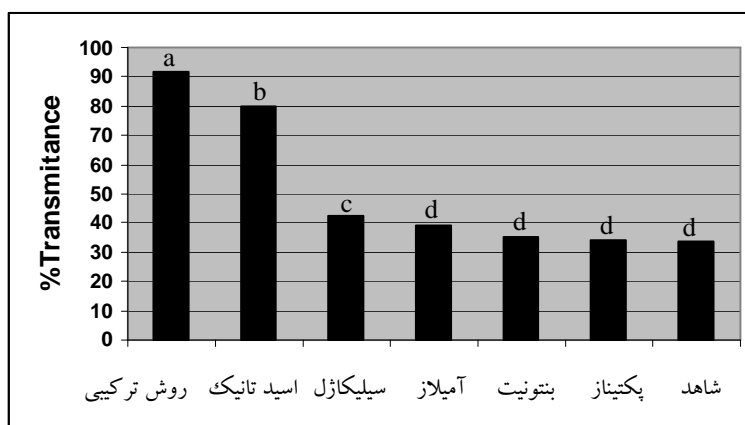
پس از ارزیابی نتایج حاصل از شفاف سازی آب توت به 5 روش پکتیناز، a-آمیلاز، بنتونیت، سیلیکاژل و اسید تانیک، روش بهینه به شرح ذیل طراحی شده و مورد آزمایش قرار گرفت:

جدول 2- تاثیر شفاف سازی بر درصد عبور نور، ماده جامد محلول کل و اسیدیته در آب توت سفید (وارسته بخارایی)

نمونه	%Acidity		%TSS		%Transmittance	
	0	120 دقیقه	0	120 دقیقه	0	120 دقیقه
بنتونیت	0/18±0/05	0/18±0/05	28/5±0/2	28/5±0/2	35/4±1/45	33/7±0/45
سیلیکاژل	0/18±0/05	0/18±0/05	28/5±0/2	28/5±0/2	42/2±0/2	33/7±0/45
اسید تانیک	0/36±0/02	0/18±0/05	28/5±0/2	28/5±0/2	80±1/2	33/7±0/45
پکتیناز	0/18±0/05	0/18±0/05	28/5±0/2	28/5±0/2	34/5±0/2	33/7±0/45
α- آمیلاز	0/18±0/05	0/18±0/05	28/5±0/2	28/5±0/2	39±0/5	33/7±0/45
شاهد	0/18±0/05	0/18±0/05	28/5±0/2	28/5±0/2	33/7±0/55	33/7±0/45

جدول 3- تاثیر شفاف سازی به روش ترکیبی بر درصد عبور نور، ماده جامد محلول کل و اسیدیته

نمونه	%Acidity		%TSS		%Transmittance	
	0	120 دقیقه	0	120 دقیقه	0	120 دقیقه
روش ترکیبی	0/18±0/05	0/3±0/02	28±0/5	28±0/5	92±1	38±0/5
شاهد	0/18±0/005	0/18±0/05	28±0/5	28±0/5	38±0/5	38±0/5



شکل 1- مقایسه میانگین تغییرات درصد عبور نور در 6 تیمار مورد استفاده جهت شفاف سازی آب توت

تولید و فرمولاسیون آب میوه، شربت و یا نوشابه، توسط افزودنی ها و طعم دهنده های مناسب می تواند در بهبود سطح علاقه و میزان پذیرش مصرف کننده موثر باشد.

#### 4- نتیجه گیری

با توجه به وفور درختان توت سفید در ایران و اقلیم آب و هوایی مناسب جهت پرورش توتستان های میوه ده و نیز علاقه ایرانیان به مصرف آن و عدم وجود روش های مناسب تبدیل و نگهداری میوه توت سفید، ضرورت مطالعه بر روی بهینه سازی روش های فراوری توت احساس می شود. مطالعه بر روی فراورده های دیگری نظیر توت خشک، بسته بندی توت خشک، تولید شربت و نوشابه نیز می تواند در ادامه این پژوهش برنامه ریزی گردد. آنچه در این میان اهمیت بیشتری دارد شناسایی و نام گذاری واریته های مختلف توت سفید، به ویژه واریته های میوه ده در ایران به روشی کاملاً علمی است که تا کنون مورد توجه قرار نگرفته است. نرمی و حساسیت بیش از حد میوه توت سفید نسبت به کپک و مخمر، بالا بودن رطوبت، پایداری کم، عدم امکان نگهداری طولانی مدت و دوره میوه دهی کوتاه مدت آن از دیگر دلایلی هستند که بر بهینه سازی روش های تبدیل و فراوری این محصول با ارزش تاکید دارند.

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش می توان گفت که توت سفید می تواند به عنوان یک ماده اولیه مناسب در تولید کنسانتره مورد استفاده قرار گیرد. بررسی روش های کنترل قهوه ای شدن آنزیمی و مهار آنزیم های پلی فنل اکسیداز در بهبود ویژگی های ظاهری و عطر و طعم کنسانتره حاصل و یا فراورده های دیگری نظیر آب میوه، شربت و نوشابه موثر خواهد بود که نیاز به مطالعه بیشتری دارد.

#### 5- منابع

- 1- اعتباری، ا. 1366. کلیات کاشت، داشت و برداشت توت، انتشارات وزارت کشاورزی، سازمان ترویج کشاورزی.
- 2- الهامی راد، ا. ح. (مترجم). 1381. فراوری میوه ها، تغذیه، فراورده ها و مدیریت کیفی، نشر جهانکده، به سفارش معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد سبزوار.
- 3- الهامی راد، ا. ح. 1386. طرح پژوهشی "بررسی عوامل موثر بر تولید سرکه و کنسانتره از دو واریته بومی توت سفید (میخچه

در هر صورت مقایسه میانگین تغییرات درصد عبور نور در 6 تیمار مورد استفاده جهت شفاف سازی آب توت نشان می دهد که روش ترکیبی و تیمار اسید تانیک در مقایسه با سایر روش ها بطور قابل توجهی شفافیت آب توت را افزایش می دهند. اختلاف میان تیمارها در سطح اطمینان 0/01 کاملاً معنی دار است (شکل 1).

#### 3-9- ارزیابی حسی کنسانتره آب توت

نتایج حاصل از ارزیابی حسی کنسانتره توت سفید حاصل از دو واریته توت سفید به روش آزمون ترجیح دوتایی<sup>1</sup> نشان داد که از مجموع 20 نفر ارزیاب شرکت کننده در آزمون 15 نفر نمونه کنسانتره حاصل از واریته بخارایی را از لحاظ طعم و مزه ترجیح دادند. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آزمون دو جمله ای دو دامنه ای<sup>2</sup> نشان داد که با توجه به نتایج آزمون (n=20, x=15)، با مراجعه به جدول مربوط میزان احتمال P=0.041 خواهد شد. بنابراین چون P<0.05 است می توان نتیجه گیری کرد که میان دو نمونه کنسانتره اختلاف معنی داری در سطح اطمینان 95 درصد وجود دارد.

نتایج حاصل از ارزیابی حسی کنسانتره توت سفید حاصل از دو واریته مختلف، توسط تست هدونیک<sup>3</sup> 5 نقطه ای<sup>3</sup> نشان داد که مجموع رتبه های بدست آمده از کنسانتره حاصل از واریته بخارایی کمتر از واریته میخچه است که این اختلاف در سطح اطمینان 95 درصد معنی دار می باشد. این نتایج نشان می دهد که ذائقه مصرف کننده تمایل بالاتری نسبت به کنسانتره حاصل از واریته بخارایی دارد.

در واریته بخارایی، 35 درصد ارزیابان سطح "دوست داشتن متوسط" را به عنوان بالاترین سطح پذیرش انتخاب نموده اند. 5 درصد سطح "دوست داشتن زیاد"، 25 درصد سطح "دوست داشتن کم"، 25 درصد گزینه "بی تفاوت" و 10 درصد نیز اظهار بی علاقهگی نموده اند. در واریته میخچه 30 درصد افراد گزینه "دوست داشتن کم"، 5 درصد گزینه "دوست داشتن زیاد"، 10 درصد گزینه "دوست داشتن متوسط"، 30 درصد گزینه "بی تفاوت" و 25 درصد گزینه "بی علاقهگی" را انتخاب نموده اند. بدون شک اصلاح ویژگی های طعم کنسانتره توت سفید در

<sup>1</sup> Paired Preference Test

<sup>2</sup> Two Tailed Binomial Test

<sup>3</sup> 5-Point Hedonic Scale

19- Imran, M., Khan H., Shah M., Khan R. and Khan F. 2010. Chemical composition and antioxidant activity of certain *Morus* species, *J. Zhejiang Univ Sci B*. 11(12): 973–980.  
 20-Pinelo, M. Zeuner, B. Meyer A. S. 2010. Juice clarification by protease and pectinase treatments indicates new roles of pectin and protein in cherry juice turbidity, *Food and Bioproducts Processing* 88: 259–265.  
 21- Singh, S., Gupta, R. 2004. Apple juice clarification using fungal pectinolytic enzyme and gelatin, *Indian Journal of Biotechnology* Vol.03(4): 573-576.

و بخارائی) در منطقه سبزوار"، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، حوزه معاونت پژوهشی.  
 4- پیروزی فرد، م. 1378. شفاف سازی آب میوه، انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه.  
 5- حسن آبادی، ا. 1382. راهنمای پرورش کرم ابریشم و کاشت درخت توت، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.  
 6- حسین زاده، ا. و آذر، م. 1378، پکتین زدایی و شفاف سازی آب آلبالو و توت فرنگی به منظور فرمولاسیون نوشابه گازدار، مجموعه مقالات نهمین کنگره ملی صنایع غذایی.  
 7- حسینی، ز. 1373، روش های متداول در تجزیه مواد غذایی، انتشارات دانشگاه شیراز.  
 8- رسول زادگان، ی. (مترجم) 1375. میوه کاری در مناطق معتدله. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، 759 صفحه  
 9- سازمان جهاد کشاورزی خراسان رضوی، اداره آمار و اطلاعات کشاورزی سال 1391  
 10- شهرستانی، ن. 1377. میوه های دانه ریز، رشت: انتشارات دانشگاه گیلان. 150 صفحه .  
 11- شهیدی، ف. و حسینی نژاد، م. 1382. آنزیمها در صنایع غذایی، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.  
 12- فلاحی، م. 1379. صنایع تبدیلی سیب (تکنولوژی آب سیب)، انتشارات بارثاوا.  
 13- Horwitz, W. (Editor) 2002. AOAC 17th Edition.  
 14- Arslan, O., Erzengin, M., Sinan, S. and Ozensoy, O. 2004. Purification of mulberry (*Morus alba* L.) polyphenol oxidase by affinity chromatography and investigation of its kinetic and electrophoretic properties, *Food chemistry* 88(3): 479-484.  
 15- Bae, S.H. and Suh, H. J. 2007. Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea, *Food Science and Technology*, 40(6) : 955 – 962.  
 16- Chatterjee, S., Chatterjee, S., Chatterjee, B.P. and Guha, A.K. 2004. Clarification of fruit juice with chitosan, *Process Biochemistry*, 39, 2229-2232.  
 17- Ercisli, S. and Orhan, E. 2007. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits, *Food Chemistry* 103 (4) : 1380-1384.  
 18- Gerasopoulos and Stavroulakis, 1997 D. Gerasopoulos and G. Stavroulakis, Quality characteristics of four mulberry (*Morus* spp.) cultivars in the area of Chania Greece, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 73 (1997), pp. 261–264.