

# تأثیر تیمار آنزیمی بر محتوای آنتوسیانین، رنگ و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب انگور سیاه سردشت

سید احمد شهیدی<sup>۱\*</sup>، مهین مؤتمنی<sup>۲</sup>، آزاده قربانی حسن‌سرای<sup>۳</sup>، آرش کوچکی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

<sup>۲</sup> کارشناس ارشد صنایع غذایی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

<sup>۳</sup> استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

<sup>۴</sup> دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۱۵

## چکیده

آب انگور منبع مهمی از فیتوکیماکال‌ها است و جایگاه مهمی در میان آب‌میوه‌های دیگر دارد. آنتوسیانین‌های موجود در آب انگور به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند و عامل ایجاد رنگ در آن هستند. از جمله روش‌های اخیر برای جداسازی این ترکیبات رنگی، استفاده از آنزیم‌ها است. در این پژوهش به بررسی اثر دو آنزیم پکتینکس اولترا کلیبر و پکتینکس یلدمش در دو سطح ۰/۱۵ و ۰/۳ میلی‌لیتر در کیلوگرم بر محتوای آنتوسیانین، رنگ و ویژگی‌های شیمیایی آب انگور سیاه پرداخته شد و تغییرات این پارامترها طی ۲۸ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. بررسی نتایج نشان داد که استفاده از تیمارهای آنزیمی توانست به‌صورت معنی‌داری ( $P < 0/05$ )، محتوای آنتوسیانین‌ها را نسبت به شاهد افزایش دهد و موجب بهبود رنگ شود، اما تأثیر معنی‌داری ( $P > 0/05$ ) بر اسیدیته و pH نداشت. بررسی فاکتورهای مورد مطالعه بعد از ۲۸ روز نشان داد که محتوای آنتوسیانین‌ها، رنگ و ویژگی‌های شیمیایی آب‌میوه شاهد و آب‌میوه‌های تیمار شده نسبت به زمان صفر تفاوت معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) نداشتند.

**واژه‌های کلیدی:** آنتوسیانین، آنزیم‌های صنعتی، انبارمانی، رنگ، کیفیت

## ۱- مقدمه

آب میوه‌ها از نظر مصرف کنندگان فرآورده‌هایی سالم هستند، به همین دلیل در سال‌های اخیر تبدیل به فرآورده‌هایی بسیار محبوب شده‌اند و تجارت آن‌ها رو به افزایش است. تولید آب میوه‌ها بر مبنای نگهداری فرآورده، تنوع بخشی و ایجاد بازارهای مصرف بیشتر برای میوه مورد توجه صنعت غذا قرار دارد. انگور نیز یکی از بزرگ‌ترین محصولات میوه‌ای تولیدی در جهان است. با توجه به اطلاعات فائو<sup>۱</sup> در سال ۲۰۱۰، تولید انگور در سراسر جهان ۶۸۳۱۱۴۶۶ تن بوده که از این مقدار ۲۲۵۵۶۷۰ تن اختصاص به ایران داشته است (۶). یکی از مهم‌ترین راه‌های مصرف این میوه در جهان از طریق نوشیدن آب آن است چراکه آب انگور یکی از مقبول‌ترین آب میوه‌ها است (۱۱).

ترکیب شیمیایی، یکی از مهم‌ترین ملاک‌های کیفیت برای آب میوه‌ها است (۳۵). ترکیب شیمیایی انگور تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله بلوغ، واریته، سال و محلی است که رشد در آن انجام گرفته است (۱۶). ترکیب آب انگور بسیار شبیه به انگور است، به جز فیبرها و روغن‌ها که عمدتاً در دانه انگور وجود دارند و در حین فرآیند تولید آب میوه حذف می‌شوند. قندها، اسیدها، الکل‌ها و آلدئیدها مهم‌ترین ترکیبات طعم زا در انگور هستند. گلوکز و فروکتوز مهم‌ترین قندهای موجود در آب میوه هستند. هارتمن و تولمن گزارش کردند که در برخی از نمونه‌های مورد آزمایش بیش از یک سوم قند کل ساکارز است اما نتایج وجود قند دیگری به جز این سه مورد را گزارش نکرده‌اند (۱۰ و ۲۴). آب انگور منبع مهمی از فیتوکیمیکال‌ها به شمار می‌رود (۴). خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و مهارکنندگی فیتوکیمیکال‌ها روی پلاکت‌ها در مطالعات آزمایشگاهی و در پژوهش بر روی حیوانات ثابت شده است (۲۶). آب انگور حاوی حجم زیادی آب (۸۱-۸۶ درصد) است و وجود حالت اسیدی قوی در آن به علت وجود اسیدهای تارتاریک، مالیک و سیتریک گزارش شده است. این اسیدها عامل ایجاد pH پایین و طعم ترش و شیرین در این محصول هستند (۱۲)، اسیدیته بالای ۰/۸۵ درصد، طعم بیش از حد ترشی را ایجاد می‌کند (۳۶). ساستری و تیسچر کلروفیل، کاروتنوئید و آنتوسیانین را از آب انگور جداسازی کردند (۳۲).

رنگ به عنوان یکی از عوامل کیفیت به شدت بر پذیرش آب میوه توسط مصرف کننده تأثیر می‌گذارد (۵). تغییر رنگ طی آماده‌سازی غذا، راهنمای مفیدی برای کنترل کیفیت است و به عنوان معیاری مناسب در ارزیابی کیفیت در بسیاری از فرآیندها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۴). آنتوسیانین‌های موجود در آب انگور مسئول رنگ آن هستند (۱۸ و ۳۱). آن‌ها مسئول رنگ‌های قرمز، آبی و بنفش در بسیاری از میوه‌ها و فرآورده‌های غذایی مشتق شده از آن‌ها هستند (۷). رنگ آب انگور اغلب وابسته به رنگ پوست آن است که به طور عمده با توجه به ترکیب و محتوای آنتوسیانین‌ها متفاوت است (۱۳). محتوای آنتوسیانین‌ها توسط عوامل زیست محیطی و نیز عوامل زراعی تحت تأثیر قرار می‌گیرند. آنتوسیانین‌ها ناپایدار هستند و ثبات آن‌ها تا حد زیادی تحت تأثیر شرایط فرآوری، از جمله pH، دما، نور، اکسیژن، آنزیم، اسید اسکوربیک، فلاونوئیدها، پروتئین و یون‌های فلزی قرار می‌گیرد (۷، ۸ و ۲۷).

طی سال‌ها، روش‌های متعددی برای جداسازی ترکیبات رنگی بیشتر از میوه و ورود آن به آب میوه مورد استفاده قرار گرفته است. یکی از رویکردهای اخیر استفاده از آنزیم‌های صنعتی است که به عنوان پیش تیمار مورد استفاده قرار می‌گیرند. شایع‌ترین استفاده از آنزیم‌ها، در شکستن لایه‌هایی مانند نشاسته، سلولز و غیره است. آنزیم عمل خاصی را در یک بستر خاص کاتالیز می‌کند و بر اساس خواص کاتالستی خود واکنش‌های مشخصی را تسریع می‌کند (۲۸). بررسی منابع نشان می‌دهد که استفاده از تیمارهای آنزیمی به صورت معنی داری رنگ و محتوای آنتوسیانین‌ها را در آب میوه‌ها افزایش داده است. خانداره و همکاران این افزایش را در هویج سیاه گزارش کردند (۱۴). لی و رولستاد تفاله زغال‌اخته را تحت تیمار آنزیمی قرار دادند و مشاهده کردند که با اعمال تیمار آنزیمی محتوای آنتوسیانین‌ها به صورت معنی داری افزایش یافته است (۲۰). وانگ و همکاران به نتایج مشابهی در مورد آب شاه‌توت دست یافتند (۳۷).

در این مطالعه به بررسی اثر تیمارهای آنزیمی بر محتوای آنتوسیانین‌ها، رنگ و ویژگی‌های شیمیایی آب انگور سیاه پرداخته شده است و تغییرات این پارامترها طی ۲۸ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفته است.

<sup>۱</sup> FAO

## ۲- مواد و روش‌ها

## ۲-۱- آماده‌سازی نمونه‌ها

در این پژوهش از انگور سیاه سردشت (واریته ای از Vitis vinifera) استفاده شده است. این واریته در قسمت‌های وسیعی از کوه‌های اطراف سردشت در جنوب آذربایجان غربی رشد می‌کنند. میوه‌های کاملاً رسیده به صورت کاملاً تصادفی از باغی در سردشت جمع‌آوری شد و به محل آزمایشگاه انتقال یافتند. جبه‌های انگور تازه از خوشه جدا شدند و پس از جداسازی ضایعات، شستشو و خشک شدند. جبه‌ها به ۵ قسمت ۴۰۰ گرمی تقسیم شدند و به صورت مش درآمدند. یک قسمت به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و هیچ تیماری دریافت نکرد (سطح ۰ آنزیم). قسمت‌های دیگر تحت تأثیر دو مقدار ۰/۱۵ و ۰/۳ میلی‌لیتر در کیلوگرم) از دو نوع آنزیم پکتیناز (پکتینکس اولترا کلیبر<sup>۱</sup> و پکتینکس یلدمش<sup>۲</sup>، نووزیمز<sup>۳</sup>، دانمارک) قرار گرفتند و برای اثربخشی آنزیم‌ها، به مدت ۱ ساعت در دمای بهینه فعالیت آنزیم‌ها (۵۵ درجه سانتی‌گراد) گرمخانه‌گذاری شدند. آب میوه به وسیله آب میوه‌گیری خانگی بعد از عبور از پالایه به دست آمد. بریکس تمام نمونه‌ها توسط آب مقطر روی ۱۲/۰۰ تنظیم شد. آب میوه‌ها داخل ظروف شیشه‌ای تیره ریخته شدند و بعد از درب بندی در حمام آب گرم در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شده و سپس در حمام یخ به سرعت سرد شدند. بخشی از نمونه‌ها برای انجام آزمایش در زمان صفر مورد استفاده قرار گرفتند و بقیه برای آزمایش در روز ۲۸ در یخچال با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

## ۲-۲- اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین‌های کل

محتوای آنتوسیانین‌های نموریک کل با استفاده از روش pH افتراقی<sup>۴</sup> (روش اسپکتروفوتومتری)، بر اساس روش توضیح داده شده در AOAC اندازه‌گیری شد (۱۷). جذب در ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای آنتوسیانین نموریک کل (TA) (mg/L) بر اساس سیانیدین-۳- گلوکوزید بر اساس فرمول (۱) محاسبه شد (۱۷).

$$TA = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times L} \quad (1)$$

که در آن A توسط فرمول (۲) محاسبه می‌شود:

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{520} - A_{700})_{pH4.5} \quad (2)$$

و  $MW=449/2(g/mol)$ ،  $\epsilon=26900(L/mol.cm)$  به ترتیب برابر با وزن مولکولی و جذب مولی سیانیدین-۳- گلوکوزید هستند. DF فاکتور رقت و L نیز طول سل اسپکتروفوتومتر (سانتی‌متر) هستند.

## ۲-۳- اندازه‌گیری رنگ

پارامترهای \*a، \*b و \*L با هانترب (Colour Flex, model U.S.A, 45/0) اندازه‌گیری شد.

## ۲-۴- اندازه‌گیری اسیدیته کل و pH

اسیدیته کل به روش پتانسیومتری و با استفاده از pH متر و تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال (مرک<sup>۵</sup>، آلمان) تا رسیدن به pH=۸/۱ اندازه‌گیری شد و برحسب اسید تارتاریک (۱۰۰ گرم نمونه /گرم) بیان شد. اندازه‌گیری pH با استفاده از pH متر (istek, Korea) برای نمونه‌های تیمار شده و نمونه شاهد انجام شد (۱۶).

## ۲-۵- آنالیز آماری

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار مینی تب نسخه ۱۶ بر پایه طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل مورد آزمون آماری قرار گرفتند. تیمارها شامل آنزیم در دو سطح (Pectinex Ultra Clear و Pectinex YildMASH)، مقدار آنزیم در ۳ سطح (۰، ۰/۱۵ و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر) و زمان نگهداری در دو سطح (روز ۱ و ۱۴) بودند. تمام آزمون‌ها با سه تکرار انجام گرفت. جهت مقایسه میانگین‌ها و بررسی اثرات ساده و متقابل فاکتورها از آزمون توکی در سطح معنی‌دار ۹۵ درصد استفاده شد (۲۳). جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار آماری اکسل نسخه ۲۰۰۷ استفاده گردید.

<sup>1</sup> Pectinex UltraClear

<sup>2</sup> Pectinex YildMASH

<sup>3</sup> Novozymes

<sup>4</sup> pH differential

<sup>5</sup> Merck

<sup>6</sup> Minitab ver. 16

<sup>7</sup> Excel 2007

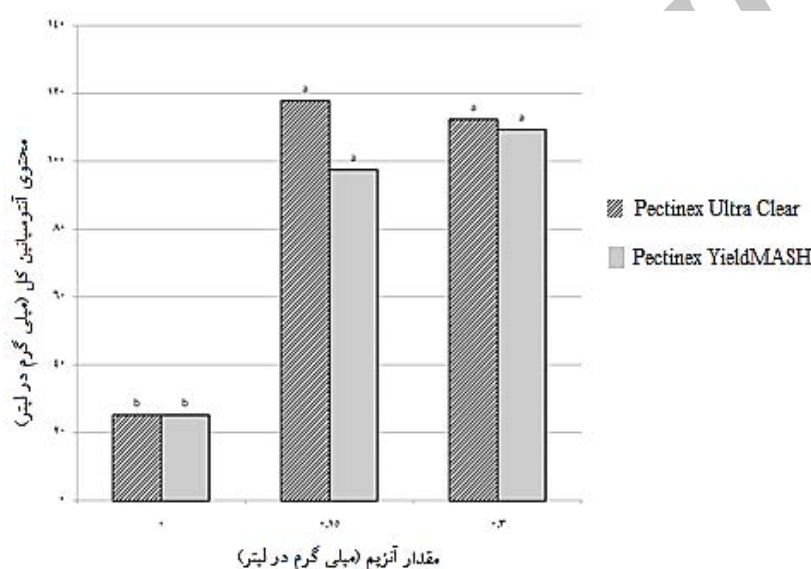
## ۳- نتایج و بحث

## ۳-۱- آنتوسیانین های کل

نتایج حاصل از آزمایش ها نشان داد که سطح آنزیم مورد استفاده تأثیر معنی داری بر محتوای آنتوسیانین کل داشته است ( $P < 0/05$ ). استفاده از آنزیم موجب افزایش استخراج آنتوسیانین به آب میوه می شود. بررسی اثر متقابل تیمار نوع آنزیم و مقدار آنزیم نشان داد تفاوت معنی داری بین محتوای آنتوسیانین کل در آب میوه شاهد و نمونه های تیمار شده وجود دارد ( $P < 0/05$ ). بیشترین محتوای آنتوسیانین کل در استفاده از آنزیم Pectinex Ultra Clear در سطح ۰/۱۵ میلی گرم در لیتر مشاهده شد هرچند که تفاوت معنی داری با سطح ۰/۳ میلی گرم در لیتر همین

آنزیم و سطوح ۰/۱۵ و ۰/۳ میلی گرم در لیتر آنزیم Pectinex YieldMASH نداشت اما با تیمارهای ۰ میلی گرم در لیتر هر دو آنزیم تفاوت معنی داری وجود داشت (شکل ۱). اثر متقابل زمان نگهداری، نوع و مقدار آنزیم بر محتوای آنتوسیانین کل در آب انگور سیاه نیز معنی دار بود ( $P < 0/05$ ). از آنجا که زمان نگهداری اثر معنی داری بر محتوای آنتوسیانین کل ندارد اختلاف عمده به دلیل استخراج اولیه محتوای آنتوسیانین کل است که در نمونه های تیمار شده با مقدار آنزیم صفر میلی گرم در لیتر کمتر بوده و همین اختلاف طی نگهداری نیز باقی می ماند (شکل ۲).

ترکیب دیواره سلولی در انواع مختلف میوه ها به طور قابل توجهی



شکل ۱- اثر متقابل نوع و مقدار آنزیم بر محتوای آنتوسیانین کل در آب انگور سیاه.

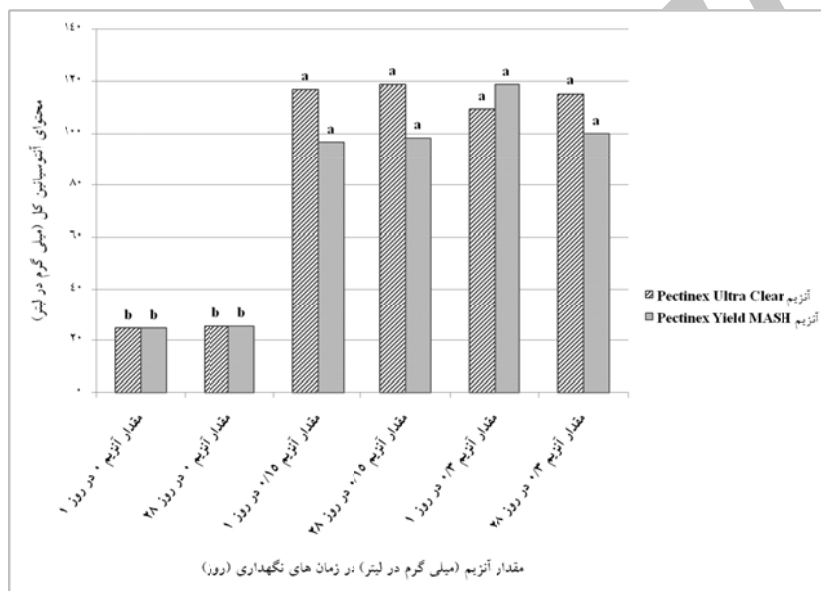
مختلف، مانند پلی گالاکترونز و پکتین لیاز هستند که احتمالاً قادرند کمپلکس پیچیده ای با دیواره سلولی به وجود آورند که بدین ترتیب شکل مولکول آنزیم تغییر کرده و منجر به شکستن دیواره سلولی می شود که این امر در نهایت موجب افزایش آزادسازی آنتوسیانین ها می شود (۵، ۳۴، ۳۶ و ۳۷).

در استفاده از مقدارهای بالاتر آنزیم Pectinex Ultra Clear مشاهده می شود که در مقدارهای بالاتر آنزیم کاهش می دهد. تأثیر منفی افزایش مقدار آنزیم ممکن است به دلیل عمل کاتالیزوری آنزیم در تخریب گلوکوزیدهای آنتوسیانین ها، به دلیل فعالیت جانبی بتا-گلوکوزیداز آنزیم باشد. همان طور که می دانیم آنزیم های تجاری

متفاوت است، اما به طور عمده از پکتین، همی سلولز، سلولز، لیگنین و سایر اجزاء تشکیل شده است (۲۲). پکتین در بسیاری از بافت های گیاهی به عنوان یک ماده سیمانی در لایه میانی عمل می کند. با توجه به اینکه آنتوسیانین ها تقریباً به طور انحصاری در پوست در داخل سلول و یا متصل به دیواره سلولی وجود دارند (۱۹ و ۳۷)، به کارگیری عاملی که باعث نرم شدن و هیدرولیز پکتین شود می تواند موجب کاهش چسبندگی بین سلولی شود (۱۶) و به این ترتیب سست شدن پیوند آنتوسیانین های متصل به دیواره سلولی می تواند موجب آزادسازی بیشتر آنها شود و آورد (۱۹). پکتینازهای تجاری معمولاً مخلوطی از آنزیم های

مختلف در ارتباط است (۳۰). تفاوت در نوع آنتوسیانین‌ها توضیح می‌دهد که چرا رنگ بعضی از انگورها پایدارتر است و برای استفاده در فرآورده‌ها نسبت به بقیه مناسب‌تر هستند. پایداری آنتوسیانین‌ها بستگی به ساختار و تعداد قندهای باند شده با یون فلاویلیوم دارد. آنتوسیانین‌های دارای قندهای دی گلوکوزید، بیشتر از آنتوسیانین‌هایی که مونوگلوکوزید دارند در معرض قهوه‌ای شدن هستند (۲ و ۳۶). ربرو-گایون (۱۹۵۹) و همچنین ناگل و همکاران (۱۹۷۹)، گزارش کردند که گونه *V. vinifera* شامل آنتوسیانیدین‌های مونوگلوکوزیدی آسیل شده و آسیل نشده است، بنابراین نسبت به تخریب مقاوم‌تر است (۲۵ و ۳۰).

چند جزئی هستند و دارای رنج وسیعی از فعالیت‌ها شامل پلی گالاکتروناز، پکتین استراز و میزان کمی فعالیت گلوکوزیداز، همی سلولاز و فعالیت سلولاز می‌باشد. حضور فعالیت پلی فنل اکسیداز و یا فعالیت جانبی بتا-گلوکوزیداز منجر به ناپایداری آگلیکون‌های آنتوسیانین‌ها شده و موجب کاهش محتوای آنتوسیانین‌ها می‌شود. گلیکوزیدها می‌توانند با عمل هیدرولیز منجر به ناپایداری آنتوسیانین‌ها و قندها شوند و به این ترتیب با شکستن آنتوسیانین‌ها منجر به تشکیل مشتقات بی‌رنگ شوند (۹). نگهداری طی ۲۸ روز تغییر معنی‌داری ( $P > 0.05$ ) در میزان آنتوسیانین‌های آب انگور سیاه ایجاد نکرده است (شکل ۲). این موضوع با نوع و مقدار آنتوسیانین‌های موجود در انگورهای



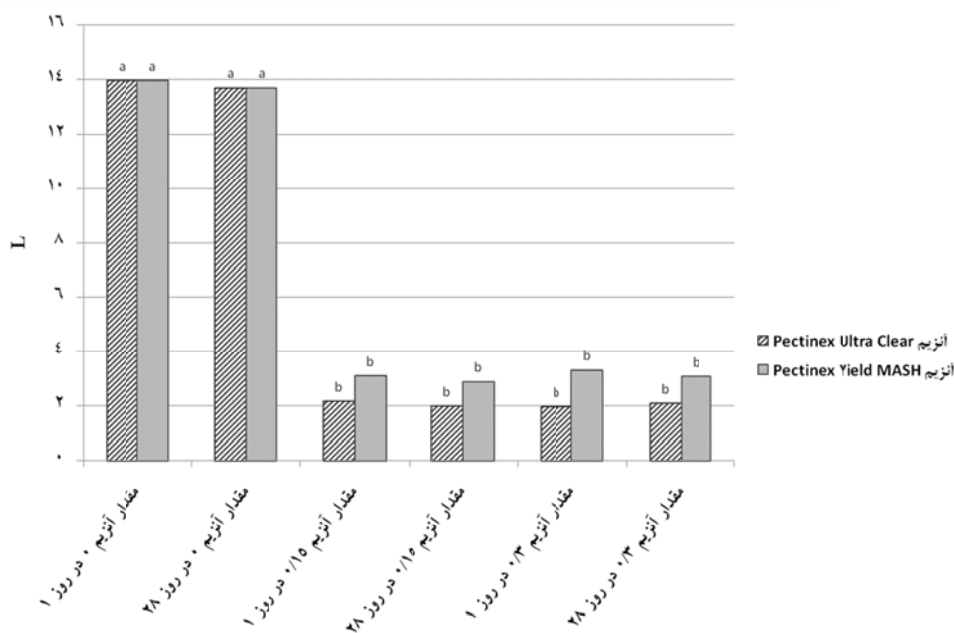
شکل ۲- اثر متقابل تیمار آنزیمی (برحسب میلی‌لیتر در کیلوگرم) و ۲۸ روز نگهداری بر محتوای آنتوسیانین‌های آب انگورهای تیمار شده.

مربوط به شاهد است که نشان می‌دهد، انتخاب سطوح توانسته به صورت معنی‌داری میزان  $L^*$  را کاهش دهد (شکل ۳). بررسی نتایج نشان می‌دهد که اثر متقابل نوع و مقدار آنزیم بر  $L^*$ ، اثر متقابل مقدار آنزیم و زمان نگهداری بر  $L^*$  و اثر متقابل نوع، مقدار آنزیم و زمان نگهداری بر  $L^*$  (شکل ۳) در آب انگور سیاه معنی‌دار بوده است ( $P < 0.05$ ).

### ۳-۲- اندازه‌گیری رنگ

$L^* - 1 - 2 - 3$

بررسی نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها نشان می‌دهد که بین  $L^*$  آب‌میوه حاصل از سطوح ۰/۱۵ و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر آنزیم تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ( $P > 0.05$ )، اما بین  $L^*$  آب‌میوه شاهد و سطوح ۰/۱۵ و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر آنزیم، اختلاف معنی‌دار است و تفاوت فاحشی را نشان می‌دهد ( $P < 0.05$ ). کمترین میزان  $L^*$  مربوط به استفاده از آنزیم و بیشترین مقدار



مقدار آنزیم (میلی گرم در لیتر) در زمان های نگهداری (روز)

شکل ۳- اثر متقابل نوع، مقدار آنزیم و زمان نگهداری بر  $L^*$  در تصاویر رقمی آب انگور سیاه.

محتوای بالاتر آنتوسیانین ها را سبب شده است که کاملاً با کاهش میزان  $L^*$  مرتبط است. شاهد با دارا بودن کمترین محتوای آنتوسیانین، بیشترین مقدار  $L^*$  را دارا است.

### ۳-۲-۲-۳ $a^*$

مقدار  $a^*$  در آب میوه حاصل از آنزیم Pectinex Ultra Clear به صورت معنی داری ( $P < 0.05$ ) کمتر از مقدار  $a^*$  در آب میوه حاصل از تیمار با Pectinex YieldMASH بود. خانداره و همکاران (۲۰۱۱)، بیان کردند که با افزایش محتوای آنتوسیانین آب میوه، مقدار  $a^*$  نیز افزایش می یابد (۱۴). مقایسه مقدار  $a^*$  و مقدار آنتوسیانین این نظریه را به صورت کامل تأیید نمی کند و انحرافی را در تیمار با آنزیم Pectinex Ultra Clear نشان می دهد. باینکه آب میوه حاصل از تیمار با آنزیم Pectinex Ultra Clear از نظر محتوای آنتوسیانین تفاوت معنی داری با محتوای آنتوسیانینی تیمار با Pectinex YieldMASH ندارد، اما از نظر مقدار  $a^*$  اختلاف معنی داری را نشان می دهد. این می تواند ناشی از این امر باشد که عامل دیگری غیر از مقدار آنتوسیانین بر مقدار  $a^*$  تأثیر گذار است. مک دوگال (۲۰۰۲)، بیان کرد که تعامل رنگ دانه ها و ساختار مواد غذایی رنگ و شفافیت/ماتی را تحت تأثیر قرار می دهد و ممکن است تغییرات کوچک در پراکندگی سیستم بتواند تغییرات بیشتری را در رنگ

$L^*$  نشان دهنده روشنایی محصول است و کاهش روشنایی در آب میوه به افزایش شدت رنگ محصول نسبت داده می شود که در نتیجه افزایش محتوای آنتوسیانین ها در اثر استفاده از فرآیند کمک آنزیمی رخ داده است (۱۴). تعامل رنگ دانه ها و ساختار مواد غذایی، رنگ و ماتی/شفافیت را تحت تأثیر قرار می دهد، برای مثال تغییرات کوچک در پراکندگی سیستم ممکن است تغییرات بزرگ تری را نسبت به آنچه از تغییر غلظت رنگ دانه ها مورد انتظار است در رنگ ظاهری ایجاد کند. با توجه به اینکه بازتاب نور از مواد مات و شفاف بستگی به نسبت جذب به پراکنش نور از پیگمانها دارد. شاخص انکسار و خواص پراکندگی نور از خصوصیات مواد تأثیر می پذیرد (۲۱). پکتینازها قادرند تخریب پلی ساکارید های ایجادکننده کدورت را کاتالیز کنند (۳۷). استفاده از آنزیم نسبت به استخراج غیر آنزیمی به صورت مؤثرتری پلی ساکارید ها را از آب میوه خارج سازد، بدین ترتیب  $L^*$  ارتباط بیشتری با محتوای آنتوسیانین ها خواهد داشت (۱۵).

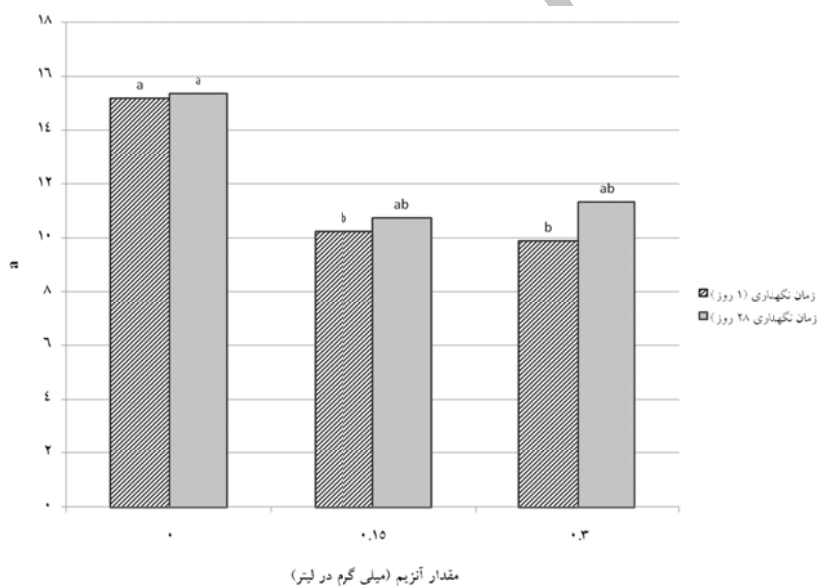
$L^*$  مشاهده می شود که بیان کننده کاهش روشنایی در آب میوه است و به طور عمده به رنگ شدید محصول نسبت داده می شود که در نتیجه افزایش محتوای آنتوسیانین ها در اثر فرآیند کمک آنزیمی است (۱۴). بررسی نتایج این پژوهش نیز همین نظر را تأیید می کند و مشاهده می شود که استفاده از سطح بالاتر،

می‌رفت طبق گزارش‌های خانداده و همکاران (۲۰۱۱) با افزایش میزان فاکتور  $a^*$  در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد مواجه شویم، اما چنین حالتی مشاهده نشد (۱۴). به نظر می‌رسد انحراف مشاهده‌شده ناشی از پکتین و دیگر عوامل کدورت زای محلول در آب میوه شاهد باشد. تعامل رنگ‌دانه‌ها و ساختار مواد غذایی، رنگ، کدورت و شفافیت آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به‌عنوان مثال می‌توان گفت که تغییرات کوچک در پراکنندگی سامانه‌های غذایی ممکن است تغییرات بزرگ‌تری را نسبت به آنچه از تغییر غلظت رنگ‌دانه‌ها مورد انتظار است، در رنگ ظاهری ایجاد کند. با توجه به اینکه بازتاب نور از مواد کدر و شفاف بستگی به نسبت جذب به پراکنش نور از پیگمان‌ها دارد، شاخص انکسار و خواص پراکنندگی نور از ویژگی‌های مواد تأثیر می‌پذیرد (۲۱).

ظاهری ماده غذایی نسبت به آنچه باید با تغییر غلظت رنگ‌دانه‌ها ایجاد شود نشان دهد (۲۱). آنزیم Pectinex Ultra Clear به‌صورت معناداری درخشندگی کمتری نسبت به دیگر تیمارها دارد که به‌احتمال زیاد ناشی از عملکرد ضعیف‌تر این آنزیم در پکتین زدایی از آب میوه است.

بررسی نتایج نشان می‌دهد که اثر متقابل نوع و مقدار آنزیم بر  $a^*$  و اثر متقابل مقدار آنزیم و زمان نگهداری بر  $a^*$  (شکل ۴) در آب انگور سیاه معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). مشاهده می‌شود که روند تغییر مقادیر  $a^*$  شبیه روند تغییرات  $L^*$  است. می‌توان بیان کرد که مقدار  $a^*$  علاوه بر مقدار آنتوسیانین‌های موجود در آب میوه از دیگر مواد محلول در آب میوه نیز به‌صورت مؤثری تأثیر می‌پذیرد (۳۳).

فاکتور  $a^*$  نشان‌دهنده قرمزی نمونه است و با توجه به اینکه استفاده از تیمار آنزیمی باعث افزایش محتوای آنتوسیانین آب میوه و به طبع آن افزایش شدت رنگ آن شده است، انتظار

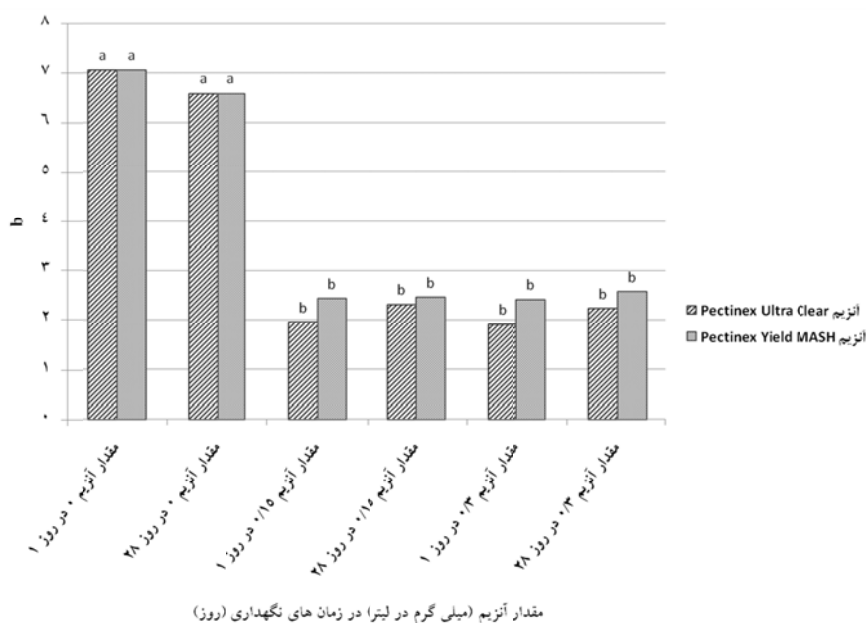


شکل ۴- اثر متقابل مقدار آنزیم و زمان نگهداری بر  $a^*$  در تصاویر رقمی آب انگور سیاه.

در شاهد، سطح ۰/۱۵ میلی گرم در لیتر و سطح ۰/۳ میلی گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری وجود داشت و بیشترین مقدار مربوط به شاهد و کمترین مقدار مربوط به سطح ۰/۳ میلی گرم در لیتر بود ( $P < 0.05$ ). اثر متقابل نوع، مقدار آنزیم و زمان نگهداری بر  $b^*$  (شکل ۵) در آب انگور سیاه نیز معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). اعمال سطح بالاتر باعث کاهش زردی آب میوه شده است. افزوده شدن

### ۳-۲-۳- $b^*$

با بررسی اثر تیمار آنزیمی بر  $b^*$  مشخص شد که میزان  $b^*$  در آب میوه‌های حاصل از تیمار با آنزیم‌های Pectinex Ultra Clear و Pectinex YieldMASH تفاوت معنی‌داری باهم ندارند ( $P > 0.05$ ). بررسی نتایج حاصل از اثر سطح حرارت و آنزیم بر  $b^*$  نشان می‌دهد که انتخاب سطوح توانسته اختلاف معنی‌داری در میزان  $b^*$  ایجاد کند ( $P < 0.05$ ). در بین مقدار  $b^*$



شکل ۵- اثر متقابل نوع، مقدار آنزیم و زمان نگهداری بر  $b^*$  در تصاویر رقمی آب انگور سیاه.

بررسی اثر سطوح به صورت مستقل نشان می دهد که هر چند pH نسبت به شاهد به صورت معناداری ( $P < 0.05$ ) افزایش یافته است، ولی این افزایش ناچیز هیچ اثر بارزی بر رنگ آنتوسیانین ها ندارد. اثر متقابل نوع، مقدار آنزیم و زمان نگهداری بر اسیدیته آب انگور سیاه (شکل ۶) معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). بررسی نتایج نشان داد که در طی ۲۸ روز نگهداری، تغییر معنی داری ( $P > 0.05$ ) در میزان اسیدیته نمونه شاهد و نمونه های تیمار شده ایجاد نشده است. لوپس و همکاران (۱۹۴۹)، عنوان کردند که اسیدهای ارگانیک می توانند با قندها وارد واکنش شوند و تولید پیگمان های قهوه ای نمایند (۲۰)، به نظر می رسد که اسیدهای آلی در این زمینه نقش کاتالیزوری ایفا می کنند (۲۹). با توجه به عدم ایجاد تغییر معنادار در جذب نور واکنش قهوه ای شدن باعث افزایش جذب نور می شود (۳)، می توان گفت که اسیدهای آلی موجود در انگور قرمز در این زمینه نقش مهمی نداشته اند و خود نیز دچار تخریب نشده اند. بررسی نتایج حاصل از اندازه گیری pH، تفاوت معنی داری ( $P < 0.05$ ) را طی زمان های مختلف نگهداری نشان می دهد. توجه به داده ها نشان می دهد که در روز ۱۴، افزایش معنی داری در pH اتفاق افتاده و در روز ۲۸، pH دوباره کاهش یافته است. این افزایش در pH احتمالاً با کوپیگمنتاسیون آنتوسیانین ها که در روز ۱۴ اتفاق افتاده است مرتبط است و با از بین رفتن این پیوند ناپایدار در روز ۲۸، pH مجدداً کاهش یافته است (جدول ۳).

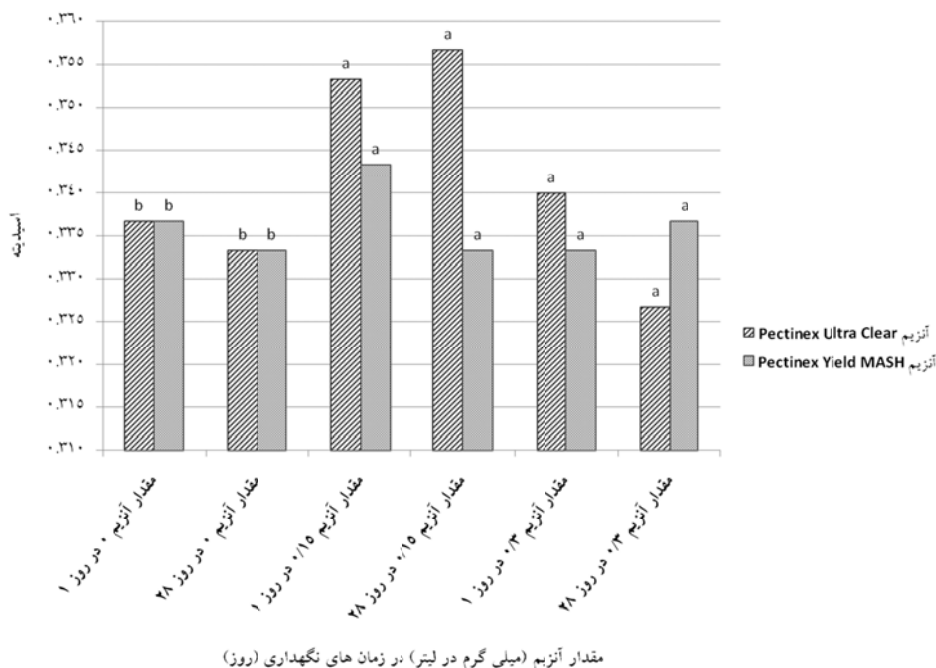
گروه هیدروکسیل به یون فلاویوم رنگ آبی را تقویت می کند (۲)، بنابراین می توان گفت که استفاده از آنزیم ها، باعث جایگزینی بیشتر گروه هیدروکسیل در ساختار آنتوسیانین می شود. این نتایج، با یافته های خانداره و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد (۱۴).

بررسی نتایج نشان داد که در طی دوره نگهداری ۲۸ روزه هیچ تغییر معنی داری ( $P > 0.05$ ) در پارامترهای رنگ ( $L^*$ ،  $a^*$ ،  $b^*$ ) ایجاد نشده است. پایداری رنگ ممکن است با وارپته انگور، دمای نگهداری محصول، نگهداری در بطری های تیره رنگ (محافظت در برابر نور)، پایداری اسیدیته و تغییر ناچیز در pH محصول در طی مدت نگهداری در ارتباط باشد (۳ و ۳۱).

### ۳-۳- اسیدیته کل و pH

تغییر pH می تواند باعث ناپایداری آنتوسیانین ها و در نتیجه باعث تغییر رنگ آن ها شود. افزایش معنی داری ( $P < 0.05$ ) که در میزان pH نمونه ها بعد از تیمار آنزیمی به چشم می خورد، احتمالاً به این دلیل است که آنزیم ها باعث تجزیه ترکیبات پکتیکی موجود در دیواره سلولی شده و آزادسازی ترکیبات فنلی متصل به آن ها را تسهیل می کنند. این ترکیبات دارای بار منفی بوده و می توانند با ترکیبات دارای بار مثبت وارد واکنش شوند و تشکیل کمپلکس دهند، بنابراین میزان یون های  $H_3O^+$  در محیط کاهش می یابد و به این ترتیب pH به صورت جزئی افزایش می یابد (۱).





شکل ۶- اثر متقابل نوع، مقدار آنزیم و زمان نگهداری بر اسیدیته در تصاویر رقمی آب انگور سیاه.

- 3) Buglione, M. and Lozano, J. 2002. Nonenzymatic browning and chemical changes during grape juice storage. *Journal of Food Science & Technology*. 6: 1538-1543.
- 4) Dani, C., Oliboni, L. S., Vanderlinde, R., Bonatto, D., Salvador, M. and Henriques, J. A. P. 2007. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically- or conventionally-produced grapes. *Journal of Food Chemistry*. 45: 2574-2580.
- 5) Eiro, M. J. and Heinonen, M. 2002. Anthocyanin Color Behavior and Stability during Storage: Effect of Intermolecular Copigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 7461-7466.
- 6) Fao Stat, 2012. Agriculture data. Retrieved June 10, 2012 from the World Wide. Available at: <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>.
- 7) Francis, F. J. and Markakis, P. C. 1989. Food colorants: Anthocyanins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28: 273-314.
- 8) Jackman, R. L., Yada, R. Y., Tung, M. A. and Speers, R. A. 1987. Anthocyanins as food colorants – a review. *Journal of Food Biochemistry*. 11: 201-247.
- 9) Jiang, J., Paterson, A. and Piggott, R. 1990. Short communication: Effects of

#### ۴- نتیجه گیری

نتایج نشان داد تیمارهای آنزیمی توانستند به صورت مؤثری رنگ آب انگور را نسبت به شاهد بهبود دهند، درحالی که اثر مؤثری بر ویژگی‌های شیمیایی آن نداشتند. همچنین مشخص شد که آب میوه حاصل از انگور سیاه سردشت مقاومت خوبی در برابر تخریب رنگ ناشی از اثر گذشت زمان دارد، بنابراین می‌توان از این واریته به صورت گسترده‌ای در تولیدات صنعتی استفاده کرد.

#### ۵- سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت ا... آملی و تأمین امکانات جهت انجام طرح پژوهشی خاتمه یافته که نتایج آن در مقاله حاضر آمده است، سپاسگزاری می‌شود.

#### ۶- منابع

- ۱) بدبدک، ص. ۱۳۸۸. تأثیر تیمارهای مختلف شفاف‌سازی با روش کلاسیک بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی آب انار. *مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، جلد اول، ۱۶-۱
- 2) Adriana, M. 2007. Anthocyanins in Foods. Food Colorants. CRC Press.

- polyphenolics from blueberry processing waste. *Journal of Food Science*. 69: 564–573.
- 20) Lewis, V. M., Esselen, W. B. and Fellers, C. R. 1949. Nonenzymatic browning of foodstuffs. Nitrogen- free carboxylic acids in the browning reaction. *Journal of International Engineering Chemistry*. 41: 2591-2599.
  - 21) MacDougall, D. B. 2002. Colour measurement of food. *Colour in food*. CRC Press.
  - 22) McCann, M. C. and Roberts, K. 1991. The cytoskeletal basis of plant growth and form. In: *Architecture of the Primary Cell Wall* (edited by C.W. Lloyd). Pp. 109–129. London: Academic Press.
  - 23) Montgomery, C. D. 2001. Design and analysis of experiments, fifth edition. Wiley, New York.
  - 24) Montgomery, M., Reyes, F., Cornwell, C. and Beavers, D. 1982. Sugars and acid analysis and effect of heating on color stability of northwest Concord grape juice. *Journal of Food Science*, 47, 1883-1885.
  - 25) Nagel, C. W. and Wulf, L. W., 1979. Changes in the anthocyanins, flavonoids and hydroxycinnamic acid esters during fermentation, and aging of Merlot and Cabernet Sauvignon, *American Journal of Enol. Viticult.*, 30: 111-6.
  - 26) Park, Y. K., Park, E., Kim, J. S. and Kang, M.H. 2003. Daily grape juice consumption reduces oxidative DNA damage and plasma free radical levels in healthy Koreans. *Mutat. Res*. 529: 77–86.
  - 27) Rein, M. J. and Heinonen, M. 2004. Stability and enhancement of berry juice color. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. 52: 3106–3114.
  - 28) Purohit, S. S. and Mathur, S. K. 1999. *Biotechnology-Fundamentals and Applications*, Agro Botanica, Annis Offset Printers, New Delhi, India.
  - 29) Reynolds, T. H. 1965. Chemistry of nonenzymatic browning II. *Advances in Food Research*. 14: 167-176.
  - 30) Ribereau-Gayon, P. 1959. *Recherches sur les Anthocyanes des Vegetaux, Appliocation au Genre Vitis*, LibrairieGenerale Enseignement, Paris, p. 114.
  - 31) Rhodes, P. L., Mitchell, J. W., Wilson, M. W. and Melton, L. D. 2006. Antilisterial activity of grape juice and grape extracts derived from *Vitis vinifera* variety Ribier. pectolytic enzyme treatments on anthocyanins in raspberry juice. *Journal of Food Science and Technology*. 25: 596-600.
  - 10) Hartmann, B. G. and Tolman, L. M. 1918. Concord grape juice: manufacture and chemical composition, U.S. Dept. Agr. Bull., 656.
  - 11) Garde-Cerdan, T., Arias-Gil, M., Marselles-Fontanet, A. R., Ancin-Azpilicueta, C. and Martin-Belloso, O. 2007. Effects of thermal and non-thermal processing treatments on fatty acids and free amino acids of grape juice. *Journal of Food Control*. 18: 473–479.
  - 12) Girard, B. and Mazza, G. 1998. *Productos Funcionales derivados de las uvas y de los cítricos*. Cap 5. In: Mazza, G., Acibia, S.A. (Eds.), *Alimentos Funcionales: aspectos bioquímicos de procesado*. Zaragoza, Espana, pp. 141–182.
  - 13) Kennedy, J. A., Hayasaka, Y., Vidal, S., Waters, E. J. and Jones, G. P. 2001. Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. 49: 5348–5355.
  - 14) Khandare, V., Walia, S., Singh, M. and Kaur, Ch. 2011. Black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus*) juice: Processing effects on antioxidant composition and color. *Journal Food & Bioproducts Processing*. 89: 482-486.
  - 15) King, R. C., Sims, C. A., Moore, L. F. and Bates, R. P. 1988. Effects of maturity, skin contact and carbonation on the quality of sterile filtered white Muscadine grape juice. *Journal of Food Science*. 53: 1474–1485.
  - 16) Kunzek, H., Kabbert, R. and Gloyna, D. 1999. Aspects of material science in food processing: changes in plant cell walls of fruits and vegetables– a review. *Journal of Springer-Verlag*. 208: 233–250.
  - 17) Lee, J., Durst, R. W. and Wrolstad, R. E. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC international*, 88, 1269-1278.
  - 18) Lee, Y., Cesario, T., Wang, Y., Shanbrom, E. and Thrupp, L. 2003. Antibacterial activity of vegetables and juices. *Journal of Nutrition*. 19: 994–996.
  - 19) Lee, J. and Wrolstad, R. E. 2006. Extraction of anthocyanins and

- International Journal of Food Microbiology. 107: 281–286.
- 32) Sastry, L. V. L. and Tischer, R. G. 1952. Behavior of the anthocyanin pigments in Concord grapes during heat processing and storage, Journal of Food Technology. 6: 82.
- 33) Skrede, G. 1985. Color quality of blackcurrant syrups during storage evaluated by Hunter L', a', b' values. Journal of Food Science. 50: 514-525.
- 34) Sowbhagya, H. B. and Chitra, V. N. 2010. Enzyme-assisted extraction of flavorings and colorants from plant materials. Crit. Rev. Journal of Food Nutrition. 50: 146–161.
- 35) Soyer, Y., Koca, N. and Karadeniz, F. 2003. Organic acid profile of Turkish white grapes and grape juices. Journal of Food Composition and Analysis. 16: 629-636.
- 36) Striegler, R. K. and Justin, M. 2004. Grape Juice. Processing Fruits. CRC Press.
- 37) Wang, W., Xu, S. and Jin, M., 2009. Effects of different maceration enzymes on yield, clarity and anthocyanin and other polyphenol content in blackberry juice. International Journal of Food Science & Technology. 44: 2342–2349.

Archive