

پیش تیمار آنزیمی شربت خام چغندر قند با استفاده از آنزیم پکتیناز به منظور بهبود فرایند تصفیه متداول

ادریس آرژه^۱، میرخلیل پیروزی فرد^{۲*}، سجاد پیرسا^۲

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲. دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۶، تاریخ آخرین بازنگری: ۹۷/۴/۲، تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۴)

چکیده

تصفیه شربت خام یکی از مراحل اصلی فرایند تولید شکر می‌باشد که در آن با حذف مواد غیرقندی نسبت ساکارز به ناخالصی‌ها افزایش یافته و تولید شکر با کیفیت بالا امکان‌پذیر می‌گردد. در پژوهش حاضر کارایی آنزیم پکتیناز جهت حذف ترکیبات پکتیکی از شربت خام و بهبود روش تصفیه متداول مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور تاثیر پیش تیمار آنزیمی قبل از تصفیه با آهک در بازه $20-40 \text{ kg/m}^3$ روی گرانروی، کدورت، رنگ، درجه خلوص، غلظت کلئوئید و پروتئین‌ها بررسی و با روش تصفیه متداول مقایسه گردید. نتایج نشان داد که گرانروی شربت در تیمار ترکیبی آنزیم-آهک در مقایسه با فرایند تصفیه متداول کاهش بیش‌تری پیدا کرد. همچنین حذف ترکیبات کلئوئیدی و پروتئین‌ها نیز با پیش تیمار آنزیمی تسهیل گردید. درجه خلوص در تیمار ترکیبی 8 kg/m^3 با میزان آن در تیمارهای ۱۶ و 20 kg/m^3 آهک-دی‌اکسید کربن به‌طور تقریبی برابر بود و اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از آنزیم پکتیناز به‌صورت پیش تیمار در فرایند تصفیه شربت خام می‌تواند مقدار آهک مصرفی را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهد و موجب صرفه‌جویی در هزینه‌های تولید شکر گردد.

واژه‌های کلیدی: چغندر قند، تصفیه آنزیمی، پکتیناز، شربت خام.

* نویسنده مسئول: kh.pirouzifard@urmia.ac.ir

۱. مقدمه

و بهبود درجه خلوص شربت خام ضروری می‌باشد به شرطی که روش مورد استفاده تأثیر منفی بر کیفیت شربت تصفیه شده نهایی نداشته باشد [۴]. در صنعت آب میوه نیز هنگام تولید آب میوه‌های شفاف حضور ترکیبات پکتیکی در دسر ساز هستند که برای رفع این مشکل از آنزیم‌های پکتیناز (EC 3.2.1.15, EC 3.1.1.11, EC 4.2.2.10) استفاده می‌کنند.

پکتینازها جزء اولین آنزیم‌هایی هستند که در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گرفتند. در حال حاضر این آنزیم‌ها حدود ۲۰٪ از کل آنزیم‌های مورد استفاده در صنعت را به خود اختصاص داده‌اند، که اغلب دارای منشا گیاهی، قارچی، مخمری و باکتری می‌باشند [۵]. پکتینازها با آبکافت ترکیبات پکتیکی موجب ناپایداری کمپلکس‌های پروتئین-پکتین می‌گردند (شکل ۱). این کمپلکس‌ها دارای یک هسته پروتئینی با بار مثبت هستند که با مولکول‌های پکتین با بار منفی احاطه شده‌اند. آبکافت جزئی ملکول‌های پکتین موجب در معرض قرار گرفتن سطوح با بار مثبت و ناپایداری کمپلکس‌ها می‌شود. در ادامه دافعه الکترواستاتیکی بین ذرات کاهش یافته و کمپلکس‌ها به همدیگر می‌پیوندند و تشکیل ذراتی سنگین‌تر را می‌دهند (شکل ۱). همزمان با این اتفاقات، ته‌نشینی صورت می‌گیرد که از قانون استوک پیروی می‌کند [۶]. با حذف پکتین توسط آنزیم‌ها گرانروی نیز به شکل قابل توجهی کاهش می‌یابد که این امر موجب سهولت در انجام فرایندهای بعدی مانند تغلیظ، اواپراسیون و کریستالیزاسیون و کاهش انرژی مصرفی می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر پیش تیمار آنزیمی بر کارایی روش تصفیه متداول به منظور کاهش مصرف آهک در مرحله تصفیه و حذف بخشی از هزینه‌های کارخانه و نیز جلوگیری از آلوده کردن محیط زیست می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. مواد

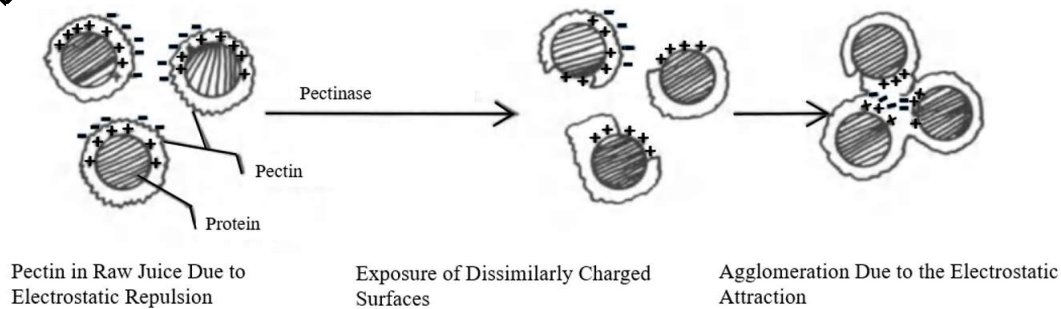
این پژوهش در سطح آزمایشگاهی در کارخانه قند پیرانشهر و نمونه‌گیری شربت خام در انتهای بخش دیفیوزیون کارخانه و قبل از فرایند تصفیه انجام گرفت. دیفیوزر مورد استفاده در کارخانه از نوع برجی (B.M.A) بود. برای تیمار آنزیمی از آنزیم Pectinex XXL محصول شرکت نووزایم ساخت کشور دانمارک استفاده شد که از کارخانه آذرکام ارومیه تهیه گردید.

صنعت قند و شکر یکی از صنایع مهم و استراتژیک کشور می‌باشد که همواره مورد توجه و حمایت دولت و سیاستمداران بوده است. با توجه به کاهش منابع نفتی و صادرات آن در کشورمان، بایستی صادرات غیرنفتی به خصوص محصولات کشاورزی رشد روز افزون داشته باشد. فرایند تولید شکر بسیار پیچیده، انرژی‌بر و دارای شبکه حرارتی منسجمی می‌باشد. از این رو روش‌هایی که بتواند عملکرد فرایند و خط تولید را بهینه کند، موجب بهبود راندمان و کاهش مصرف انرژی در این صنعت می‌گردد. امروزه به غیر از روش شیمیایی متداول تصفیه قند با آهک-دی‌اکسید کربن روش‌های فراوری جدید مانند تکنولوژی غشایی و تصفیه شیمیایی با جاذب‌های مختلف نیز در حال توسعه هستند.

یکی از اهداف اصلی تولیدکنندگان شکر در مراحل تصفیه و رنگبری شربت خام چغندر، حذف هر چه بیش‌تر ناخالصی‌های غیرقندی از شربت و به دست آوردن شربت رقیق، یعنی شربت حاصل از کربناسیون دوم و قبل از ورود به اواپراتور، با درجه خلوص بالاتر است. فرایند تصفیه کلاسیک شربت، رایج‌ترین روش تصفیه در کارخانه‌های قند می‌باشد. در این روش به شربت خام ۱ تا ۳٪ آهک اضافه می‌کنند که در نتیجه، ترکیبات کلوئیدی، نمک‌های غیرمحلول کلسیم، ترکیبات پکتینی و پروتئینی ته‌نشین می‌شوند. در مرحله بعد آهک اضافی در شربت به وسیله گاز کربنیک به کربنات کلسیم تبدیل شده و همزمان با آن نیز ساکاراز از ساکارات کلسیم آزاد می‌شود [۱].

با وجود این‌که کاربرد آهک $(Ca(OH)_2)$ در صنعت قند بسیار متداول است، اما قدرت و توانایی آن برای حذف ترکیبات پکتیکی پایین می‌باشد [۲]. در نتیجه برای حذف پکتین در کارخانه‌های قند، به مقادیر زیادی آهک جهت انجام فرایندهای روزانه نیاز است که این مقادیر بالا نیز به نوبه خود حجم زیادی گل^۱ تولید می‌کند. در اغلب موارد گل تولیدی در اطراف کارخانه‌ها جمع‌آوری می‌گردد که برای محیط زیست بسیار مخرب می‌باشد. از طرف دیگر آهک بخش مهمی از هزینه‌های عملیاتی در فرایند تصفیه شربت خام را به خود اختصاص می‌دهد [۳]، که بایستی در مباحث اقتصادی مورد نظر قرار گیرد. بنابراین، برای کاهش مصرف آهک مورد نیاز طی فرایند تصفیه، حذف ترکیبات پکتیکی

1. Carbonation-lime residue



شکل (۱) مکانسیم آنزیم پکتیناز در ناپایداری کلونیدهای شربت (کمپلکس‌های پکتین-پروتئین)
 Fig. 1 Mechanism of pectinase enzyme in colloidal instability of juices (pectin-protein complexes)

شربت خام در نظر گرفته شد. در ابتدا pH و دمای نمونه‌ها تنظیم و مقدار تعیین شده آنزیم اضافه گردید. سپس به مدت ۶۵ min اجازه داده شد تا واکنش تکمیل گردد. در ادامه نیز رسوبات ته‌نشین شده جداسازی و تصفیه شیمیایی اعمال گردید. تصفیه شیمیایی شربت خام نیز همانند روش تصفیه متداول در چهار مرحله آهک زنی مقدماتی به مدت ۳۰ min در دمای 55°C ، آهک زنی اصلی به مدت ۱۵ min در دمای 85°C ، کربناسیون اول تا رسیدن به pH ۱۱/۲ و کربناسیون دوم تا رسیدن به pH برابر با ۹/۲۵ اجرا شد. برای انجام بهتر واکنش‌ها، تمامی مراحل همراه با همزدن بود. مقدار مجموع آهک مورد استفاده برای آهک‌زنی در مرحله مقدماتی و اصلی از ۴ تا 20 kg/m^3 شربت متغیر بود. مقدار آهک مورد استفاده برای آهک زنی مقدماتی نیز ثابت و برابر با $2/5\text{ kg/m}^3$ شربت بود [۱۰].

۳.۲. اندازه‌گیری‌ها

۱.۳.۲. گرانروی

گرانروی نمونه‌ها با استفاده از ویسکومتر دیجیتالی بروکفیلد مدل LVDV-II + Pro ساخت کشور آمریکا در سرعت ۱۰۰ rpm با اسپیندل شماره ۶۱ اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌ها در دمای اتاق انجام شد و نتایج بر حسب mPas گزارش گردید.

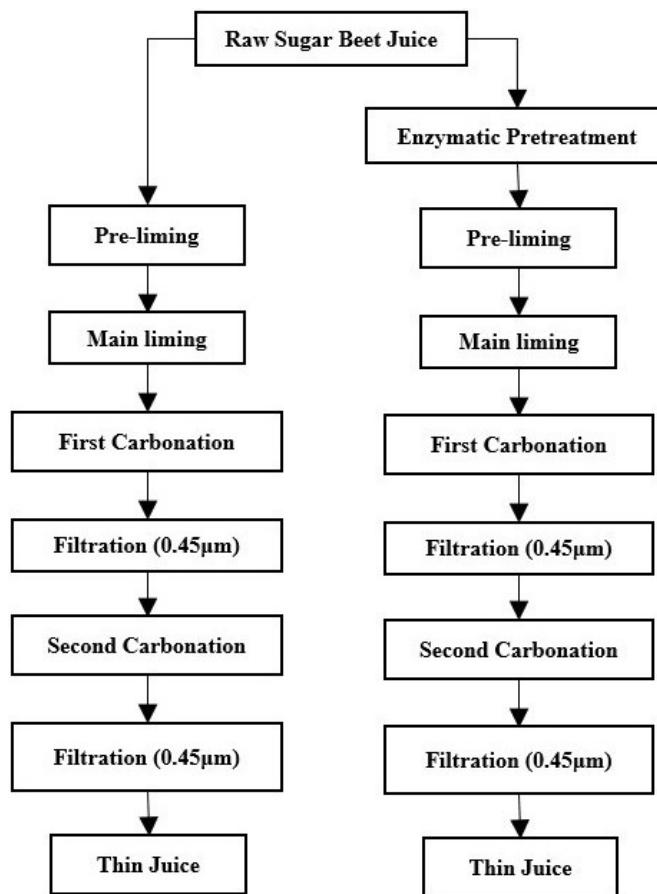
۲.۳.۲. کدورت و رنگ

کدورت نمونه‌ها با استفاده از یک توربیدومتر دیجیتالی محصول شرکت هچ مدل Box 389 ساخت کشور آمریکا تعیین گردید و نتایج بر حسب NTU گزارش گردید. رنگ نمونه‌ها مطابق دستورالعمل ایکومزا و با استفاده از یک

Pectinex XXL (EC 3.2.1.1) یک محصول تجاری است که از اسپرژیلوس نایجر (*Aspergillus niger*) و اسپرژیلو آکواتیکوس (*Aspergillus aculeatus*) تهیه می‌شود و در صنایع غذایی کاربرد گسترده‌ای دارد. فعالیت Pectinex XXL حداقل برابر 1000 PECTU/ml می‌باشد. دیگر مواد مورد استفاده شامل کیت آماده معرف بردفورد (B6916) محصول شرکت سیگما-آلدریج ساخت کشور آمریکا، آلومینیوم سولفات محصول شرکت مرک ساخت کشور آلمان، هیدرواکسید سدیم محصول شرکت مرک ساخت کشور آلمان، سیتریک اسید محصول شرکت مرک ساخت کشور آلمان و هیدروکلریک اسید محصول شرکت مرک ساخت کشور آلمان بود.

۲.۲. روش‌ها

تیمار شربت به دو روش تصفیه ترکیبی شامل تیمار آنزیمی و تیمار آهک-دی اکسید کربن و تصفیه متداول با تیمار آهک-دی اکسید کربن انجام و مورد مقایسه قرار گرفت. فلوچارت تیمار شربت خام چغندر در شکل (۲) نشان داده شده است. تعیین شرایط انجام پیش تیمار آنزیمی نمونه‌های شربت براساس آزمایش‌های اولیه و پژوهش‌های پیشین صورت گرفت [۷، ۸]. برای این منظور pH ۵/۸، دمای 49°C ، زمان ۶۵ min و غلظت $0/12\text{ v/v}$ به‌عنوان شرایط بهینه برای انجام تصفیه آنزیمی تعیین گردید. در pH برابر با ۵/۸ (pH دیفوزر) میزان اینورسیون ساکارز بسیار پایین می‌باشد [۱] و آنزیم پکتیناز به خوبی کار می‌کند [۹]. دما، زمان و غلظت آنزیم نیز در آزمایش‌های اولیه و با استفاده از متدولوژی سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی بهینه‌سازی و تعیین گردید. برای هر کدام از آزمایش‌ها ۲۰۰ ml



شکل (۲) شمای کلی مراحل مختلف تصفیه شربت خام چغندر

Fig.2 Flow diagram for the purification of raw sugar beet juice

حجمی ۲۰۰ ml ریخته و سپس به حجم رساندیم. بعد از صاف‌سازی محتوای بالن، چرخش نوری نمونه‌ها (α) با استفاده از پلاریومتر مدل Saccharomat, Schmidt + Haensch ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد. مقدار ساکارز و درجه خلوص براساس فرمول‌های زیر محاسبه شدند:

$$POL = \frac{2\alpha}{66.4} \times 100 \quad (۲)$$

$$Q = \frac{POL}{\text{Brix}} \times 100 \quad (۳)$$

که POL میزان ساکارز بر حسب $\%$ ، α چرخش نوری نمونه‌ها بر حسب $^{\circ}$ ، Q درجه خلوص بر حسب $\%$ و Brix $^{\circ}$ غلظت مواد جامد محلول بر حسب $\%$ می‌باشد.

۴.۳.۲. غلظت کلئیدها و پروتئین کل

غلظت کلئیدها با استفاده از روش چرنیاویسکایا و همکاران و

طیف سنج مدل UV-2100 ساخت کشور کره جنوبی در طول موج ۴۲۰ nm تعیین گردید [۱۱]. نتایج با استفاده از فرمول زیر محاسبه و بر حسب واحد ایکومزا (IU) گزارش گردید:

$$C \text{ (IU)} = 10^5 \frac{A}{L \times \text{Brix} \times \rho} \quad (۱)$$

که A جذب در طول موج ۴۲۰ nm، L طول مسیر عبور نور بر حسب mm، Brix غلظت مواد جامد محلول در نمونه‌ها و ρ چگالی نمونه‌ها می‌باشد.

۲.۳.۳. درجه خلوص

درجه خلوص و مقدار ساکارز نمونه‌ها مطابق با دستورالعمل‌های ایکومزا و به روش زیر محاسبه شدند: ۵۰ ml از نمونه‌ها را همراه با ۸ ml محلول آلومینیوم سولفات با غلظت ۵ ml و ۲۰۰ g/l محلول هیدرواکسید سدیم دو مولار در یک بالن

۳. نتایج و بحث

۱.۳. گرانروی

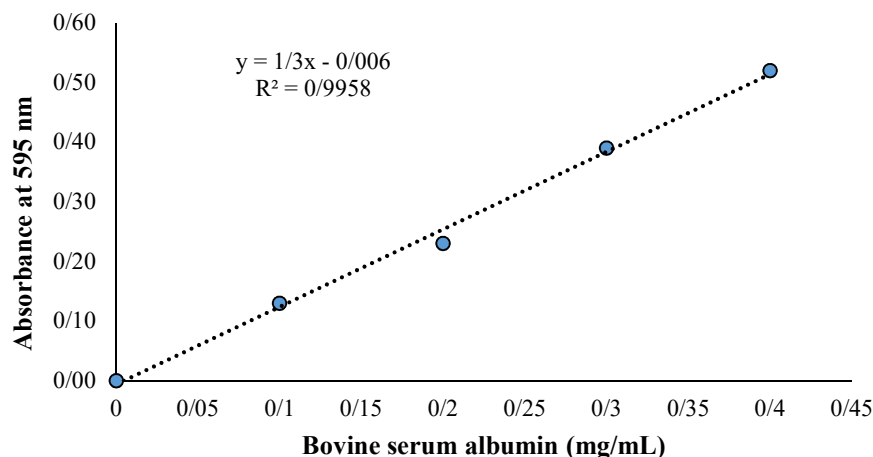
گرانروی معیاری از مقاومت داخلی سیالات به جریان است که در طراحی واحدها و فرایندهای مختلف غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از همین رو، تغییر در گرانروی شربت خام چغندر قند نیز بر مصرف انرژی در کارخانه‌های تولیدکننده شکر تاثیرگذار خواهد بود.

همان‌طور که در شکل (۴) مشاهده می‌شود پیش تیمار آنزیمی پکتیاز موجب کاهش معنی‌داری در گرانروی نمونه‌ها در همه غلظت‌های آهک شد ($p > 0.05$). به طوری که میزان گرانروی در تیمار ترکیبی آهک با غلظت 4 kg/m^3 با تیمار متداول در غلظت‌های 12 kg/m^3 و 16 تقریباً برابر بود. محققان کاهش گرانروی ناشی از به کار بردن آنزیم را به حذف ترکیبات پکتیکی و کاهش ظرفیت نگهداری آب مربوط می‌دانند [۷]. با حذف ترکیبات پکتیکی شربت از تشکیل شبکه‌های پکتینی و به دام افتادن آب جلوگیری می‌گردد و آب آزاد به سیستم وارد می‌شود. همان‌طور که پیش از این اشاره شد کاهش گرانروی شربت تاثیر قابل توجهی بر مصرف انرژی در کارخانجات قند دارد و با کاهش آن در مرحله تصفیه کارایی مراحل بعدی از جمله اوپراسیون، تغلیظ و نقل و انتقالات شربت در کارخانه بهبود می‌یابد.

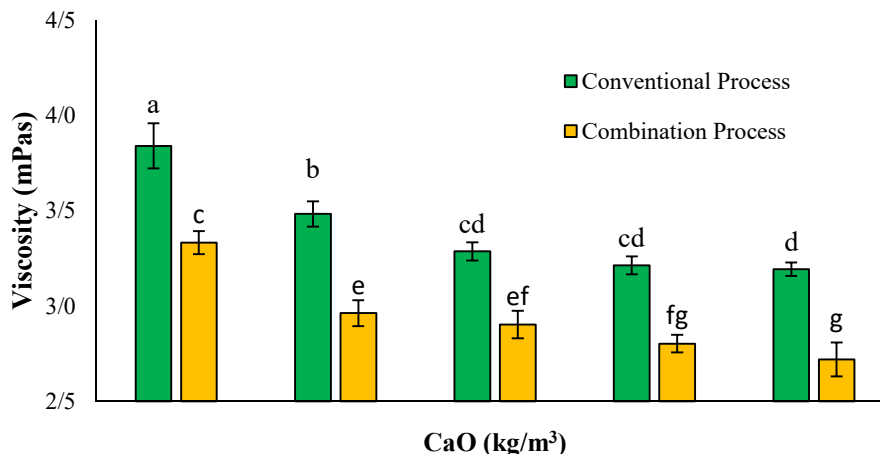
محاسبه فرمولی تعیین گردید. مطابق با این روش ۵ ml از نمونه با ۵۰ ml اتانول ۹۶٪ به مدت ۱۵ min در یک بالن حجمی جوشانده شد. بعد از سرد کردن و صاف کردن نمونه، باقی‌مانده مواد روی فیلتر با استفاده از ۱۰۰ ml اتانول ۹۰٪ شسته و در انتها تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند. سپس غلظت کلئیدها براساس روش وزنی محاسبه و بر حسب g/l گزارش شدند. غلظت پروتئین‌ها براساس روش اتصال رنگی بردفورد تعیین گردید. مقدار ۰/۴ ml معرف برافورد با ۰/۰۵ ml نمونه شربت و ۰/۵۵ ml آب مقطر مخلوط و به مدت ۲۰ min در دمای اتاق خوب هم‌زده شد. سپس جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ nm خوانده شد. منحنی استاندارد نیز با استفاده از محلول سرم آلبومین گاوی در بازه ۴-۱ mg/ml رسم شد (شکل ۳) و نتایج بر حسب mg سرم آلبومین گاوی در L نمونه گزارش گردید.

۲.۴. طرح آماری

در این پژوهش از طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار استفاده گردید. مقایسه میانگین مربعات مختلف با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. برای تجزیه واریانس، مقایسات میانگین و رسم جدول‌ها و شکل‌ها از نرم افزارهای SPSS 25، وورد و اکسل استفاده گردید. نتایج به صورت میانگین سه تکرار \pm انحراف استاندارد بیان گردید.



شکل (۳) منحنی استاندارد رسم شده با پروتئین سرم آلبومین گاوی
Fig. 3 The standard curve constructed using aqueous bovine serum albumin



شکل (۴) ویسکوزیته نمونه‌های تیمار شده با مقادیر مختلف آهک در دو روش متداول (آهک-دی اکسید کربن) و ترکیبی (آنزیم + آهک-دی اکسید کربن) **Fig. 4** Viscosity of thin juice samples processed with different amounts of lime in two methods of conventional (lime-carbon dioxide) and combination process (Enzyme + lime-carbon dioxide)

اتصال‌های کربوکسیلی شکسته شوند [۱۳]. پینلو و همکاران نیز نتایج مشابهی با یافته‌های ما گزارش کردند. آن‌ها نشان دادند که ترکیب آنزیم پکتیناز با مواد جاذب موجب کاهش بیش‌تر کدورت یا افزایش شفافیت در نمونه‌های آب گیلان می‌شود.

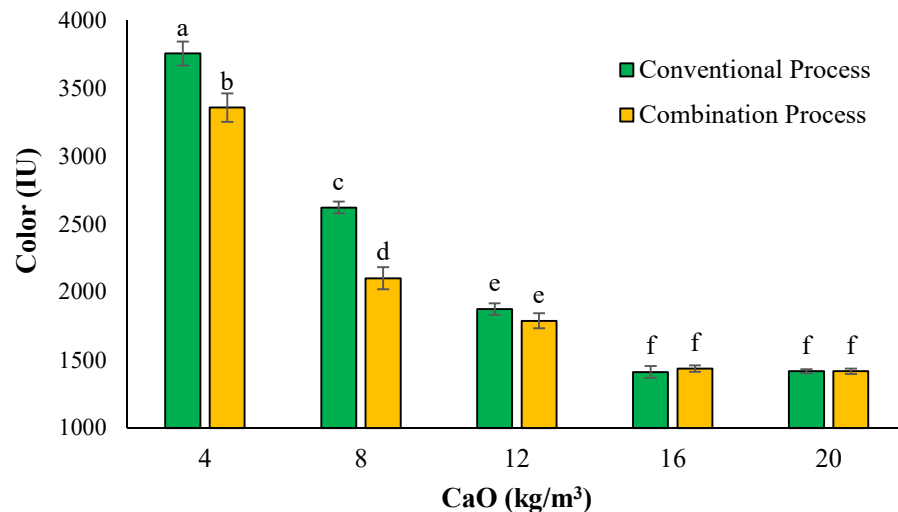
هم‌چنین نتایج نشان داد که استفاده از مقادیر بالای آهک جهت تصفیه تاثیر نامطلوبی بر کیفیت شربت دارد، به‌طوری که در غلظت 20 kg/m^3 کدورت نمونه‌ها به مقدار اندکی افزایش پیدا کرد. نتایج مشابهی نیز توسط لاکسامنسانا و همکاران مبنی بر این که با افزایش زیاد غلظت آهک کدورت شربت نیشکر افزایش پیدا می‌کند، گزارش شده است. آن‌ها استدلال کردند که آهک در ابتدا با خنثی کردن بار ناخالصی‌ها و تشکیل نمک‌های نامحلول آهکی کدورت را کاهش می‌دهد. اما با افزایش زیاد مقدار آن کدورت دوباره پدید می‌آید. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مقدار اضافی آهک می‌تواند خود عاملی برای ایجاد کدورت در شربت باشد.

ملانین و ملانوئیدین رنگدانه‌هایی هستند که به‌طور معمول در شربت خام یافت می‌شوند. ملانین ترکیبی است که در نتیجه واکنش اکسیداسیون آنزیمی ترکیبات فنلی یا واکنش بین اسیدهای فنلی با آمینو اسیدها پدید می‌آید. در حالی که ملانوئیدین‌ها ترکیباتی هستند که در اثر واکنش میلارد بین اسیدهای آمینه و قندهای احیاکننده به‌وجود می‌آیند [۱۶]. این رنگدانه‌ها در فاصله بین خلال کردن ریشه‌ها و حرارت دادن

نتایج هم‌چنین نشان می‌دهد که افزایش مقدار آهک تا غلظت 16 kg/m^3 موجب کاهش قابل توجهی در گرانیروی می‌شود و بعد از آن تقریباً ثابت می‌گردد (شکل ۴). از این نتایج می‌توان استدلال کرد که حذف عوامل ایجاد کننده گرانیروی توسط آهک تا غلظت 16 kg/m^3 تکمیل می‌گردد و مقادیر بیش‌تر آهک تاثیری بر گرانیروی نخواهد داشت.

۲.۳. میزان کدورت و رنگ‌سنجی

در مرحله دیفوزیون، برخی از ترکیبات نامطلوب ریشه از جمله ترکیبات پکتیکی همانند ساکارز وارد شربت می‌شوند و یک حالت کدر ایجاد می‌کنند [۱۲]. بنابراین، شاخص کدورت می‌تواند معیار مناسبی جهت تخمین میزان ترکیبات معلق و کلوئیدها در شربت باشد. شکل (۵-ا) تاثیر غلظت آهک و ترکیب فرایند تصفیه متداول با آنزیم پکتیناز روی کدورت شربت را نشان می‌دهد. مطابق با نتایج حاصله مشخص شد که در ابتدا پیش تیمار آنزیمی و افزایش غلظت آهک تا 12 kg/m^3 موجب کاهش معنی‌داری در مقدار ترکیبات ایجاد کننده کدورت شربت می‌شوند ($p > 0.05$) و بعد از آن تقریباً ثابت می‌گردد. کاهش کدورت بعد از تیمار آنزیمی مربوط به حذف ذرات معلق و کلوئیدهایی می‌باشد که با اضافه کردن آنزیم از حالت پایدار خارج و ته‌نشین می‌شوند (شکل ۱). برای حذف هر چه بیش‌تر ترکیبات پکتیکی توسط آنزیم‌ها لازم است که حدود ۳۰٪ از پیوندهای گلیکوزیدی و ۵٪ از



شکل (۵) (a) کدورت و (b) رنگ نمونه‌های تیمار شده با مقادیر مختلف آهک در دو روش متداول (آهک-دی اکسیدکربن) و ترکیبی (آنزیم + آهک-دی اکسید کربن)

Fig. 5 a) Turbidity and b) Color of thin juice samples processed with different amounts of lime in two methods of conventional (lime-carbon dioxide) and combination process (Enzyme + lime-carbon dioxide)

۳.۳. درجه خلوص

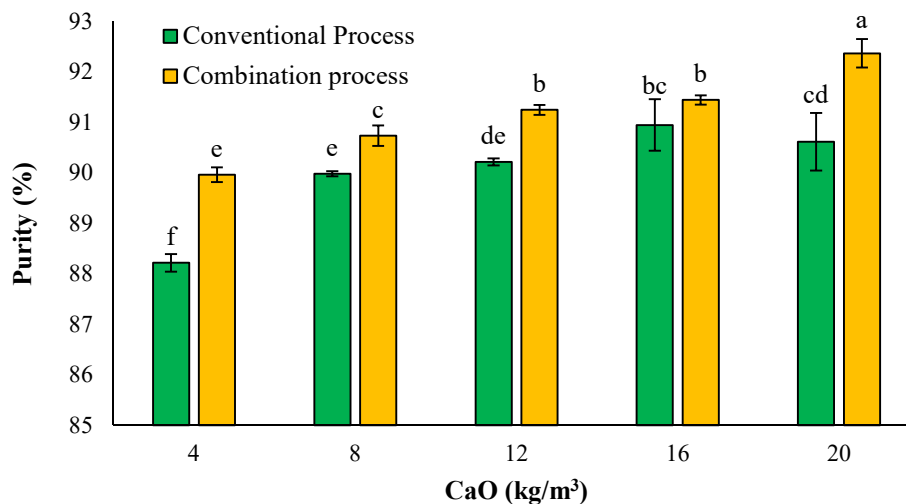
درجه خلوص اصطلاحی است که از آن برای توصیف کیفیت شربت استفاده می‌کنند. هم‌چنین درجه خلوص بیان‌کننده مقدار قندی است که می‌توان از شربت استخراج کرد. شکل (۶) تغییرات درجه خلوص بعد از پیش تیمار آنزیمی و اعمال غلظت‌های مختلف آهک را نشان می‌دهد. طبق نتایج حاصل، پیش تیمار آنزیمی در تمامی سطوح آهک موجب بهبود و افزایش معنی‌دار درجه خلوص شده است. این افزایش ممکن است ناشی از تجزیه و رسوب ترکیبات پکتیکی باشد که بعد از تیمار آنزیمی اتفاق می‌افتد. برخی از محققان نیز کاهش درجه بریکس یا افزایش درجه خلوص در نتیجه فعالیت آنزیم‌های پکتیناز را گزارش کرده‌اند [۱۷].

هم‌چنین می‌توان مشاهده نمود که درجه خلوص در تیمار ترکیبی 8 kg/m^3 با میزان آن در تیمارهای 16 و 20 kg/m^3 آهک-دی اکسید کربن تقریباً برابر بود و اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که استفاده از پیش تیمار آنزیمی شربت خام می‌تواند میزان مصرف آهک را به شکل قابل توجهی کاهش دهد و موجب صرفه جویی در هزینه‌های کارخانه و جلوگیری از تخریب محیط زیست گردد. بررسی تغییرات درجه خلوص با افزایش غلظت آهک در بازه $4-20 \text{ kg/m}^3$ هم روند افزایشی را نشان داد (شکل ۵). که با نتایج

شربت در دیفوزر تشکیل می‌شوند [۱].

بررسی تغییرات رنگ نمونه‌ها هم روند تقریباً مشابهی با تغییرات کدورت را نشان داد (شکل ۵-b). افزایش غلظت آهک و استفاده از پیش تیمار آنزیمی موجب کاهش معنی‌داری در رنگ نمونه‌ها شد. هم‌چنین می‌توان مشاهده کرد که در غلظت‌های پایین آهک تاثیر تیمار آنزیمی به مراتب بیش‌تر از غلظت‌های بالا بود. کاهش در میزان رنگ شربت بعد از تیمار آنزیمی ممکن است ناشی از جذب ترکیبات رنگی روی سطح توده‌های تجمعی (کمپلکس‌های تجمع‌یافته) باشد [۱۲]. طی تیمار آنزیمی، ترکیبات پکتیکی در شربت کم‌کم تجمع پیدا می‌کنند و تشکیل توده‌های بزرگی را می‌دهند. این توده‌ها هنگام ته نشین شدن ترکیبات رنگی را روی سطح جذب و همراه خود از سیستم خارج می‌کنند.

هم‌چنین یافته‌ها نشان داد که روند تغییرات رنگ تا غلظت 16 kg/m^3 به صورت کاهشی و بعد از آن تقریباً ثابت بود (شکل ۵-b). لوگینوا و همکاران و محمد و همکاران نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند. آن‌ها مشاهده نمودند که با افزایش غلظت آهک میزان رنگ نمونه‌های شربت خام چغندر (شربت حاصل از پرس) به شکل قابل توجهی کاهش می‌یابد. با این وجود نتایجی هم مبنی بر افزایش رنگ در غلظت‌های بالای آهک در شربت نیشکر گزارش شده است [۴، ۱۰].



شکل (۶) درجه خلوص نمونه‌های تیمار شده با مقادیر مختلف آهک در دو روش متداول (آهک-دی اکسید کربن) و ترکیبی (آنزیم + آهک-دی اکسید کربن)

Fig. 6 Purity of thin juice samples processed with different amounts of lime in two methods of conventional (lime-carbon dioxide) and combination process (Enzyme + lime-carbon dioxide)

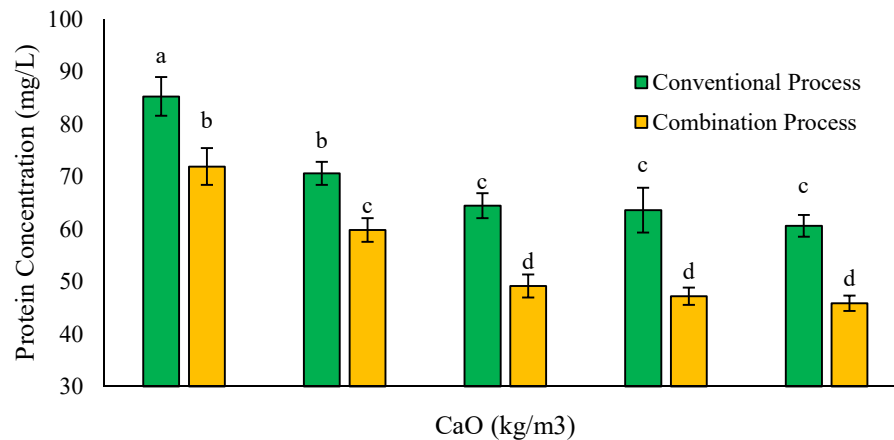
گردید، که احتمالاً ناشی از تشکیل بهتر رسوبات کربنات کلسیم می‌باشد. در مرحله اشباع، تزریق گاز CO₂ و ترکیب آن با شیر آهک (Ca(OH)₂) منجر به تشکیل رسوبات با بار مثبت کربنات کلسیم می‌شود. این رسوبات هنگام ته‌نشین شدن کلوئیدهای با بار منفی (پکتین) را در سطح خود جذب و از شربت خارج می‌کنند. مقایسه تیمار ترکیبی با روش متداول تصفیه هم نشان‌دهنده کارایی بالای آنزیم‌ها در حذف ترکیبات کلوئیدی می‌باشد، به طوری که غلظت کلوئیدها در تیمار ترکیبی ۴ kg/m³ با تیمارهای ۱۲، ۱۶ و ۲۰ kg/m³ روش متداول قابل مقایسه است.

سرعت انتشار پروتئین‌ها در مقایسه با ساکارز بسیار پایین‌تر است. اما کیفیت پایین چغندرها یا انجام فرایند دیفوزیون در دمای بالاتر می‌تواند سرعت انتشار آن‌ها را افزایش دهد. اهمیت حذف پروتئین به این دلیل است که این ترکیبات در غلظت‌های بسیار کم هم در دسر ساز هستند. بررسی نتایج حاصل از تیمارهای اعمال شده نشان داد که فرایند لخته شدن و بهم پیوستن ترکیبات کلوئیدی ناشی از نتیجه فعالیت آنزیم پکتیناز در کاهش مقدار پروتئین‌ها نیز موثر می‌باشد (شکل ۷-b). برهمکنش بارهای ناهمنام مهم‌ترین عامل برای حذف پروتئین‌ها به این روش می‌باشد [۱۸]. نتایج هم‌چنین نشان داد که آهک هم تا حدی توانایی حذف ترکیبات پروتئینی را دارد، اما در

لوگینوا و همکاران و محمد و همکاران مطابقت داشت. آن‌ها هم افزایش قابل توجهی در میزان درجه خلوص شربت متناسب با افزایش غلظت آهک مشاهده نمودند که ناشی از حذف ناخالصی‌های غیر فنلیدی می‌باشد [۴، ۱۰].

۴.۳. غلظت کلوئیدها و پروتئین کل

ترکیبات پکتیکی در شربت به‌عنوان محافظ کلوئیدها عمل می‌کنند. آبکافت جزئی این ترکیبات موجب از بین رفتن پایداری کلوئیدها و به دنبال آن تجمع ذرات تجزیه شده و نهایتاً ته‌نشینی توده‌ها می‌گردد [۱۲]. همان‌طور که در شکل (۷-a) مشاهده می‌شود پیش تیمار آنزیمی پکتیناز موجب کاهش معنی‌داری در محتوای کلوئیدی نمونه‌ها در همه غلظت‌های آهک شده است. ($p > 0.05$). شربت خام چغندر یک سیستم کلوئیدی پایدار است. مهم‌ترین پایدار کننده در این شرایط پکتین می‌باشد که از طریق ایجاد گرانروی به‌عنوان محافظ کلوئیدها و هم‌چنین ممانعت کننده از واکنش بین پروتئین‌ها و ترکیبات با بار مثبت مانند ترکیبات فنلی عمل می‌کند. آنزیم‌ها با حذف ساختار محافظتی ایجاد شده توسط پکتین، سیستم را از حالت پایدار خارج و زمینه اتصال این ترکیبات با یکدیگر و با دیگر کلوئیدها ایجاد می‌کنند (شکل ۱). بررسی تیمار آهک-دی اکسید کربن هم نشان داد که افزایش غلظت آهک موجب حذف بیشتر ترکیبات کلوئیدی



شکل (۷) (a) محتوای کلوئید و (b) پروتئین نمونه‌های تیمار شده با مقادیر مختلف آهک در دو روش متداول (آهک-دی اکسید کربن) و ترکیبی (آنزیم + آهک-دی اکسید کربن)

Fig. 7 a) Colloid and b) Protein content of thin juice samples processed with different amounts of lime in two methods of conventional (lime-carbon dioxide) and combination process (Enzyme + lime-carbon dioxide)

معنی‌داری میزان رنگدانه‌ها، کلوئیدها و پروتئین‌ها را در شربت کاهش دهد. همچنین استفاده از آهک به تنهایی و در ترکیب با آنزیم پکتیناز موجب کاهش قابل توجهی در مقدار کدورت نمونه‌ها شد. گر انرژی و درجه خلوص نمونه‌های شربت بعد از تیمار ترکیبی به ترتیب کاهش و افزایش قابل توجهی را نشان دادند. به طوری که کاربرد آنزیم پکتیناز دستیابی به یک سطح از درجه خلوص را با کاهش تقریباً ۵۰٪ در مصرف آهک امکان‌پذیر کرد. در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که استفاده از پیش تیمار آنزیمی در کارخانه‌های قند برای کاهش مصرف انرژی و بهبود کیفیت نهایی محصول می‌تواند مفید باشد.

مقایسه با تیمار ترکیبی به مراتب توانایی آن پایین‌تر می‌باشد. از داده‌های غلظت کلوئیدها و پروتئین کل می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از آنزیم پکتیناز می‌تواند مقدار آهک مصرفی در فرایند تصفیه شربت را بسیار کاهش دهد.

۴. نتیجه‌گیری

شربت خام چغندر حاوی ناخالصی‌های غیرقندی مختلفی است که بایستی در مرحله تصفیه حذف شوند. در این پژوهش نشان داده شد که استفاده از آنزیم پکتیناز به صورت پیش‌تیمار قبل از فرایند تصفیه متداول با آهک-دی اکسید کربن می‌تواند به طور

منابع

- [5] Ribeiro, D.S., Henrique, S., Oliveira, L.S., Macedo, G.A., Fleuri, L.F. (2010). Enzymes in juice processing :a review, *Int. J. Food Sci. Tech.*, 45, 635-641.
- [6] Birch, G.G., Blakebrough, N., Parker, K.J. (2012). Enzymes and food processing, Springer Science & Business Media, Berlin, Germany, pp 295.
- [7] Rai, P., Majumdar, G., Dasgupta, S., De, S. (2004). Optimizing pectinase usage in pretreatment of mosambi juice for clarification by response surface methodology, *J. Food Eng.*, 64, 397-403.
- [8] Abdullah, A.L., Sulaiman, N., Aroua, M., Noor, M.M.M. (2007). Response surface optimization of conditions for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme, *J. Food Eng.*, 81, 65-71.
- [1] Asadi, M. (2006) Beet-sugar handbook, in: Juice purification, *John Wiley & Son, United States*, pp 213-257.
- [2] Lević, L., Tekić, M., Djurić, M., Kuljanin, T. (2006). CaCl₂, CuSO₄ and AlCl₃ & NaHCO₃ as possible pectin precipitants in sugar juice clarification, *Int. J. Food. Sci. Tech.*, 4, 609-614.
- [3] Van der Poel, P. (1998) Sugar Technology Beet and Cane Sugar Manufacture, Berlin, pp 479-563.
- [4] Loginova, K., Loginov, M., Vorobiev, E., Lebovka, N. (2012). Better lime purification of sugar beet juice obtained by low temperature aqueous extraction assisted by pulsed electric field, *LWT-Food Sci. Technol.*, 46, 371-374.

- [9] Acuña-Argüelles, M., Gutierrez-Rojas, M., Viniestra-González, G., Favela-Torres, E. (1995). Production and properties of three pectinolytic activities produced by *Aspergillus niger* in submerged and solid-state fermentation, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 43, 808-814.
- [10] Almohammed, F., Mhemdi, H., Vorobiev, E. (2017). Purification of juices obtained with innovative pulsed electric field and alkaline pressing of sugar beet tissue, *Sep. Purif. Technol.*, 173, 156-164.
- [11] ICUMSA, Methods Book (2000). International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis, ICUMSA publications, Operations Service, Science. *c/o British Sugar plc.*
- [12] Downing, D.L. (2012). Processed apple products, in: Clarification of Apple Juice, Springer Science & Business Media, *New York*, pp 83-96.
- [13] Kilara, A., Van Buren, J.P. (1989). Clarification of apple juice, in: Kilara, a., Van Buren, J.P., Processed apple products, Springer, *New York*, pp. 83-96.
- [14] 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 Bioprod. Process.*, 88, 259-265.
- [15] Laksameethanasana, P., Somla, N., Janprem, S., Phochuen, N. (2012). Clarification of sugarcane juice for syrup production, *Procedia Eng.*, 32, 141-147.
- [16] Godshall, M., Clarke, M., Dooley, C., Blanco, R. (1991). Progress in beet sugar colorant research, *J. Sugar Beet Res.*, 28, 155-165.
- [17] Cepeda, E., Villaran, M. (1999). Density and viscosity of *Malus floribunda* juice as a function of concentration and temperature, *J. Food Eng.*, 41. 103-107.
- [18] Kashyap, D., Vohra, P., Chopra, S., Tewari, R. (2001). Applications of pectinases in the commercial sector: a review, *Bioresour. Technol.*, 77, 215-227.