



ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و روند تولید سرکه

از دو وارسته ی توت سفید در منطقه ی سبزوار

امیرحسین الهامی راد^{۱*}، سیدحسین استیری^۲

^۱ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار (مسوول مکاتبات)

پست الکترونیک: ahelhamirad@yahoo.com

^۲ عضو هیأت علمی گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۰/۱۸ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۱/۱

چکیده

در این پژوهش از دو وارسته ی توت سفید ، در منطقه ی سبزوار بانامهای بخارایی(بی‌دانه) و میخچه(دانه‌دار) جهت مقایسه ی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و بررسی روند تخمیر سرکه استفاده گردید. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد وارسته ی توت بخارایی دارای درصد رطوبت ، قند های احیا ، pH و بریکس بالاتری است اما میزان سدیم و پتاسیم و اسیدیتته ی کم تری نسبت به وارسته ی میخچه دارد. با توجه به این که وارسته ی بخارایی حاوی درصد قند بیش تری می‌باشد ، تولید الکل در آن بالاتر بوده و به حدود ۱۳/۳ درصد می‌رسد در حالی که حداکثر الکل تولید شده در وارسته ی میخچه ۱۰ درصد تعیین گردید. با وجود این ، روند تخمیر استیکی در وارسته ی بخارایی کند تر از وارسته ی میخچه می‌باشد. به طوری که در روز چهل و پنجم (پایان دوره ی تخمیر) ، اسیدیتته محلول تخمیر شده ی وارسته ی بخارایی ۳/۷ درصد و در وارسته ی میخچه ۴/۱۶ درصد تعیین گردید .

واژه‌های کلیدی : توت سفید ، خصوصیات فیزیکوشیمیایی ، تخمیر استیکی ، سرکه

۱- مقدمه

توت از خانواده ی Moraceae و جنس Morus است که شامل ۲۴ گونه ، یک زیر گونه و حداقل ۱۰۰ وارسته ی شناخته شده می‌باشد (۱۳). در ایران ۳ گونه ی آن به نام های توت سفید (Morus alba) ، توت سیاه (Morus nigra) و توت سرخ (Morus rubra) با وارسته های متعدد وجود دارد. توت سفید ، بومی شرق آسیاست و در مناطق وسیعی از شمال هند ، پاکستان و ایران گسترده شده‌است. در اغلب کشورهایی که توت پرورش می‌یابد بویژه در هند و چین از برگ آن برای تغذیه کرم ابریشم استفاده می‌شود. لذا در این کشورها بر روی افزایش میزان برگ‌دهی آن ها تمرکز شده است اما در بیش تر کشورهای اروپایی مانند ترکیه و یونان ، توت‌ها بیش تر به منظور تولید میوه پرورش داده می‌شوند (۱۳و۱). برداشت و فراوری توت سفید در ایران حتی سایر نقاط جهان به طریق سنتی انجام می‌شود. بنا بر گزارش سالنامه ی آمار کشاورزی ایران ، تولید توت سفید در ایران سالانه حدود ۲۶۲۷۰ تن می‌باشد که البته در مقایسه



با کشورهای نظیر ترکیه در سطح پایین‌تری قرار دارد. تولید توت در ترکیه در سال ۲۰۰۰، ۶۸۰۰۰ تن و در سال ۲۰۰۵، ۷۸۰۰۰ تن گزارش شده است که ۹۵ درصد از نوع توت سفید، ۳ درصد از نوع توت سرخ و ۲ درصد از نوع توت سیاه هستند (۱۴، ۱۶، ۱۸).

توت سفید جزو میوه‌های نرم طبقه بندی می‌شود. این میوه‌ها نسبت به کپک و مخمر حساس بوده، در هنگام برداشت نیز نسبت به ضرب‌دیدگی حساسیت زیادی دارند و نمی‌توان آن‌ها را به طور مناسبی انبار کرد. میوه‌های نرم، فصل برداشت بسیار کوتاهی داشته و نگه‌داری آن‌ها در دوره‌ی پس از برداشت، معمولاً به صورت انجماد عمیق می‌باشد (۲). یکی از مهم‌ترین مشکلات در رابطه با توت سفید، قهوه‌ای شدن محصول است که به خصوص در اثر ضرب‌دیدگی رخ می‌دهد و موجب بد رنگ شدن محصول و تغییر طعم آن می‌گردد. این واکنش در طی خشک کردن محصول نیز مشاهده می‌شود. نگه‌داری توت در دمای یخچال و سرد کردن سریع آن بلافاصله پس از جمع‌آوری تا حد زیادی سرعت قهوه‌ای شدن را کاهش می‌دهد (۱۰ و ۲). در ایران میوه توت سفید به صورت خام و تازه و یا به صورت خشک به عنوان آجیل و یا همراه با چای استفاده می‌شود. همچنین برای تولید سرکه و شیره نیز در برخی مناطق مورد استفاده است (۴ و ۱).

توت سفید اغلب به روش پهن کردن یک پارچه روی زمین و تکاندن شاخه‌های درخت برداشت می‌شود. این توت‌ها حاوی مقادیر زیادی رطوبت در موقع برداشت هستند. توت‌های شسته نشده را می‌توان 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 می‌شود (۱۱، ۱۲، ۱۶). متأسفانه، در ایران توت خشک به صورت بازارپسند بسته‌بندی و عرضه نمی‌شود (۱). در ترکیه تولید شیره یا Pekmez از توت سفید رواج زیادی دارد (۱۸).

تاکنون گزارشی در رابطه با تولید صنعتی کمپوت، مربا، شربت یا دیگر فراورده‌ها از توت سفید ارائه نشده است، اما برخی وارسته‌های شاه توت جهت تولید مربا، ژله، شربت، بستنی میوه‌ای و حتی کمپوت مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲).

۲- مواد و روش‌ها

در این پژوهش از دو وارسته ی بومی منطقه بانام های بخارایی (بی‌دانه) و میخچه (دانه‌دار) استفاده گردید. دو وارسته ی توت مورد نظر، از دو درخت تقریباً هم‌سن 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.

جهت مقایسه ی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی دو وارسته ی توت سفید، نمونه‌ها تحت آزمایش های مربوطه قرار گرفتند. درجه ی بریکس یا درصد مواد جامد محلول (TSS) به روش رفاکتومتری و با استفاده از رفاکتومتر رومیزی



Abbe در دمای 25°C تعیین گردید (۵۳). درصد کل قندهای احیا کننده به روش لین - آینون اندازه گیری شد (۵۳). جهت اندازه گیری pH از pH متر مدل Suntex sp-701 در دمای 25°C استفاده گردید. اسیدیته به روش تیتراسیون با استفاده از سود ۰/۱ نرمال تعیین و برحسب اسیداستیک $\left(\frac{\text{g}}{100\text{g}}\right)$ گزارش گردید (۵). درصد رطوبت به روش آون گذاری در دمای 70°C اندازه گیری شد (۵۳). درصد خاکستر به روش کوره الکتریکی تعیین گردید (۵۳). مقدار سدیم نمونه ها با استفاده از دستگاه Flame Photometer مدل Sherwood 410 اندازه گیری شد (۱۵).

جهت تولید سرکه، ابتدا میوه های توت در داخل یک دستگاه مخلوط کن کاملاً خرد و هموزن گردیدند. مخمر مورد استفاده از نوع مخمر نانوائی (ساکارومایسس سرویسیه) محصول شرکت خمیرمایه ی رضوی بود که به صورت خشک و فعال تهیه گردید. جهت فعال سازی مخمر، ۲ درصد وزنی مخمر (نسبت به وزن میوه) با ۲ درصد وزنی شکر و مقداری آب ولرم مخلوط شده و سپس روی بن ماری 60°C قرار داده شد. کف کردن و بالا آمدن مخمر در داخل ظرف نشانه فعال شدن آن می باشد. در مرحله بعد تلقیح خمیر میوه توسط مخمر فعال شده به نسبت ۲ درصد وزنی انجام گردید و سپس در داخل ظروف پلاستیکی درب دار به گنجایش ۲ لیتر پر شدند.

اولین مرحله تخمیر به صورت در باز در دمای آزمایشگاه (25°C) به مدت ۲۴ ساعت جهت سپری شدن فاز تخمیر کفی انجام گردید. پس از آن دربندی به طور کامل انجام شد تا فاز تخمیر الکلی آغاز گردد. پس از پایان تخمیر الکلی و به حداکثر رسیدن میزان الکل، (۱۱-۱۳٪) مرحله تخمیر استیکی شروع می شود. جهت این منظور مقداری سرکه پاستوریزه نشده به ظروف تخمیر اضافه شد. در این مرحله، عمل هوادهی توسط کمپرسور هوا به ظروف تخمیر آغاز شد. هوادهی تا زمانی ادامه یافت که مقدار الکل نمونه ها به کم تر از ۰/۵ درصد رسید. تخمیر استیکی زمانی پایان می یابد که میزان اسیدیته بر حسب اسیداستیک به حداکثر مقدار خود برسد. سرکه به محصولی گفته می شود که حداقل حاوی ۴ درصد اسیداستیک باشد (۷).

آزمایش های مورد نظر جهت ارزیابی تغییرات شیمیایی در طی فرآیند تخمیر، در روزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۴۰، ۴۵ انجام شدند. آزمایش های مورد بررسی در طی زمان تخمیر عبارت بودند از: اسیدیته بر حسب اسید استیک، pH، درصد مواد جامد محلول (درجه بریکس)، درصد قند احیاء درصد الکل که در سه تکرار بر روی نمونه ها انجام شدند.

جهت اندازه گیری درصد الکل از دستگاه الکل سنج استفاده شد. بدین منظور وزن معینی (۱۰۰ گرم) از نمونه تخمیر شده را با ۱۰۰ میلی لیتر مقطر مخلوط نموده و با استفاده از دستگاه تقطیر نمونه را تقطیر می کنیم تا زمانی که حجم مایع تقطیر



شده به ۱۰۰ میلی‌لیتر برسد. میزان شناوری دستگاه الکلسنج در محلول الکلی که بر مبنای وزن مخصوص محلول عمل می‌کند، نشان دهنده ی درصد الکلی محلول تقطیر شده می‌باشد (۷۶).

جهت بررسی نحوه ی تغییرات شیمیایی تخمیر در طی زمان ، آزمایش های مورد نیاز بر روی دو وارسته ی توت سفید در سه تکرار و در طول ۴۵ روز با فاصله زمانی ۵ روزه طرح ریزی شدند. بنابراین در مجموع ۲۶ تیمار آزمایشی مورد ارزیابی قرار گرفت.

جهت مقایسه ی میانگین‌ها در مرحله بررسی تغییرات فیزیکوشیمیایی دو وارسته ی توت در دوره ی تخمیر، از آزمون Student t استفاده گردید. بررسی تاثیر روش‌های مختلف شفاف سازی در تولید کنسانتره ، در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه ی میانگین‌ها توسط آزمون LSD محافظت شده انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقایسه ی خصوصیات فیزیکوشیمیایی دو وارسته ی توت سفید

در جدول ۱ خصوصیات فیزیکوشیمیایی دو وارسته ی توت مورد بررسی ، نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود درصد مواد جامد محلول (درجه بریکس) در وارسته ی بخارایی به طور قابل توجهی بالاتر از وارسته ی میخچه است. به طوری که متوسط درجه بریکس در وارسته ی بخارایی ۲۷ و در وارسته ی میخچه ۱۸/۵ تعیین شده است. درجه ی بریکس ، شاخصی از میزان قند نمونه‌هاست که به عنوان اصلی‌ترین عامل در فرآیند تخمیر جهت تولید اسید استیک مطرح می‌باشد. متوسط درصد کل قندهای احیا کننده در وارسته ی بخارایی ۲۰/۵ درصد اما در وارسته ی میخچه ۱۸ درصد تعیین گردید. در صد رطوبت وارسته‌ها نیز تفاوت قابل توجهی را نشان می‌دهد. به طوری که متوسط درصد رطوبت در وارسته ی بخارایی ۷۲ اما در وارسته ی میخچه ۶۹/۵ تعیین گردید. علی‌رغم این که ماده ی خشک کل در وارسته ی میخچه بالاتر است اما همان طور که مشاهده می‌شود درصد قند و درجه بریکس در وارسته ی بخارایی بیش تر می‌باشد. علت این امر احتمالاً به دلیل وجود دانه های ریزبه تعداد زیاد در وارسته ی میخچه است که در نتیجه میزان بافت‌های سلولزی ، مواد معدنی و مواد جامد غیر قندی را افزایش می‌دهد. به عنوان مثال میزان سدیم در وارسته ی میخچه ۱۰۰/۲۸ و در وارسته ی بخارایی 72/95 mg/100g تعیین شد. مقدار پتاسیم نیز در وارسته ی میخچه نسبت به بخارایی بالاتر می‌باشد.



مقایسه ی pH و اسیدیته ی دو وارسته ی توت سفید نیز نشان دهنده ی تفاوت قابل توجهی می باشد. به طوری که اسیدیته وارسته ی میخچه (بر حسب اسیداستیک) حدوداً ۳ برابر وارسته ی بخارایی می باشد. بر همین اساس متوسط pH وارسته ی میخچه ۵/۶ و متوسط pH وارسته ی بخارایی ۶/۴ تعیین گردید.

جدول ۱: مقایسه ی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی دو وارسته ی توت سفید (براساس وزن تر)

وارسته میخچه	وارسته بخارایی	خصوصیت فیزیکی / شیمیایی
۱۸/۵	۲۷	درصد مواد جامد محلول
۱۸	۲۰/۵	درصد قندهای احیا
۵/۶	۶/۴	pH
۰/۷۲	۰/۲۴	اسیدیته (g/100g)
۶۹/۵	۷۲	درصد رطوبت
۳۰/۵	۲۸	درصد ماده ی خشک کل
۱/۲۴	۱/۱۵	درصد خاکستر
۱۰۰/۲۸	۷۲/۹۵	سدیم (mg/100g)
۱۶۷۲	۱۶۶۶	پتاسیم (mg/100g)

۳-۲- تخمیر الکلی

بررسی تغییرات درصد الکل نشان دهنده ی آن است که در وارسته های میخچه میزان الکل تولید شده در روز پنجم و در وارسته های بخارایی در روز سوم به حداکثر می رسد و پس از آن کاهش می یابد. در این مدت مقدار اسیدیته در هر دو وارسته ثابت است و تغییری نمی کند. در وارسته ی بخارایی حداکثر الکل تولید شده ۱۳/۳ درصد و در وارسته ی میخچه ، ۱۰ درصد تعیین گردید. اگر درجه ی بریکس را به عنوان شاخصی از میزان قند نمونه ها در نظر بگیریم ، مشاهده می شود که وارسته ی میخچه دارای متوسط بریکس ۱۸/۵ و وارسته های بخارایی دارای متوسط بریکس ۲۷ هستند. مقایسه ی میزان قندهای احیا کننده در دو وارسته ی مذکور نیز موید این مطلب است . به طوری که در وارسته ی میخچه درصد کل قندهای احیا کننده ۱۸ درصد در وارسته های بخارایی ۲۰/۵ درصد تعیین گردید. بنابراین ، با توجه به این که سوبسترای لازم جهت تولید الکل در وارسته های بخارایی در سطح بالاتری می باشد ، منطقی است که راندمان تولید الکل نیز در آن ها بالاتر باشد.

بر این اساس می توان چنین نتیجه گیری کرد که وارسته های بخارایی به دلیل این که حاوی قند بالاتری هستند ، راندمان تولید اتانول در آن ها بالاتر می باشد. ضمن این که به نظر می رسد سرعت تخمیر الکلی در این وارسته ها بالاتر بوده و در



زمان کم تر، اتانول بیش تری تولید می شود. دلیل منطقی در این رابطه می تواند درصد بالاتر رطوبت و قند در واریته ی بخارایی باشد که موجب رشد سریع تر مخمرها و افزایش سرعت تخمیر می شود.

۳-۳- تخمیر استیکی

تخمیر استیکی در واریته ی میخچه از روز پنجم و در واریته ی بخارایی از روز سوم آغاز می شود. در این زمان اتانول تولید شده به حداکثر مقدار خود می رسد و با آغاز هوادهی و تلقیح نمونه با باکتری های اسید استیک ، اکسیداسیون اتانول به اسید استیک آغاز می شود. pH و اسیدیتته ، معیارهای مناسبی جهت ارزیابی سرعت تخمیر استیکی محسوب می شوند. ارزیابی اسیدیتته ، pH نمونه ها نشان دهنده ی آن است که در واریته ی میخچه هر دو فاکتور در طی پنج روز اولیه ی تخمیر (تخمیر الکلی) ثابت هستند و تغییری نمی کنند ، اما بریکس به شدت کاهش می یابد. از روز پنجم به بعد اسیدیتته ، افزایش یافته و pH ، کاهش می یابد که نشان دهنده ی تولید اسید استیک و تبدیل الکل به اسید می باشد. چنین الگویی در ارتباط با واریته ی بخارایی نیز مشاهده می شود. با این تفاوت که در واریته های بخارایی تخمیر استیکی از روز سوم آغاز می شود.

مقایسه روند تولید الکل در مقایسه با اسید استیک نشان می دهد که سرعت تولید الکل در مرحله ی بی هوازی تخمیر به طور قابل توجهی بالاتر از تولید اسید است. به عنوان مثال در واریته ی میخچه ، مقدار الکل در ۵ روز اول تخمیر از صفر به ۱۰ درصد می رسد و در این مدت بریکس ، به عنوان شاخصی از موادی قندی از ۱۸/۵ به ۱۱ کاهش می یابد. این در حالی است که در مرحله تخمیر استیکی که از روز پنجم آغاز می شود درصد اسیدیتته بر حسب اسید استیک از ۰/۷۲ به ۴/۱۶ در روز ۴۵ می رسد. در روز ۴۵ مقدار اسید استیک به حداکثر خود رسیده و مقدار الکل به کم تر از ۰/۵ درصد کاهش می یابد. بنابراین ، مشاهده می شود که میزان اسیدیتته در تخمیر استیکی در طی حدود ۴۰ روز ۵/۷ برابر افزایش یافته و به حداکثر می رسد. اما مقدار الکل در فاز تخمیر الکلی در مدت ۵ روز ، به ۱۰ برابر افزایش یافته و به حداکثر می رسد. می توان چنین نتیجه گیری که در شرایط آزمایش ، اکسیداسیون اتانول به اسید استیک در مقایسه با تبدیل قندها به اتانول با سرعت بسیار کندتری صورت می گیرد.

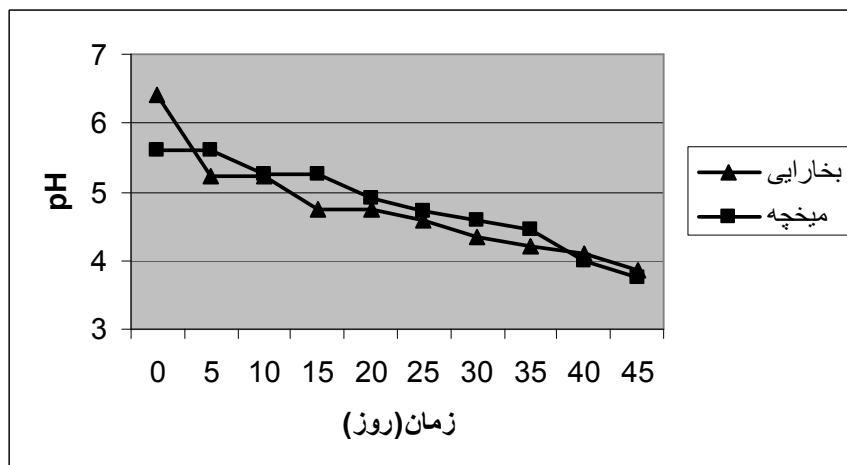
عواملی نظیر دما ، شدت هوادهی و سوش های میکروبی مورد استفاده در تلقیح نمونه ها می توانند در سرعت تخمیر تاثیر بسزایی داشته باشند و موجب تسریع در فاز استیکی تخمیر شوند.

به طور کلی حد نهایی تخمیر استیکی در ارتباط با سرکه هایی که جهت تولید آن ها از میوه ها استفاده می شود ، زمانی است که درصد الکل به کم تر از ۰/۵ درصد (۰/۳ - ۰/۱) و مقدار اسیدیتته بر حسب اسید استیک حداقل به ۴ درصد

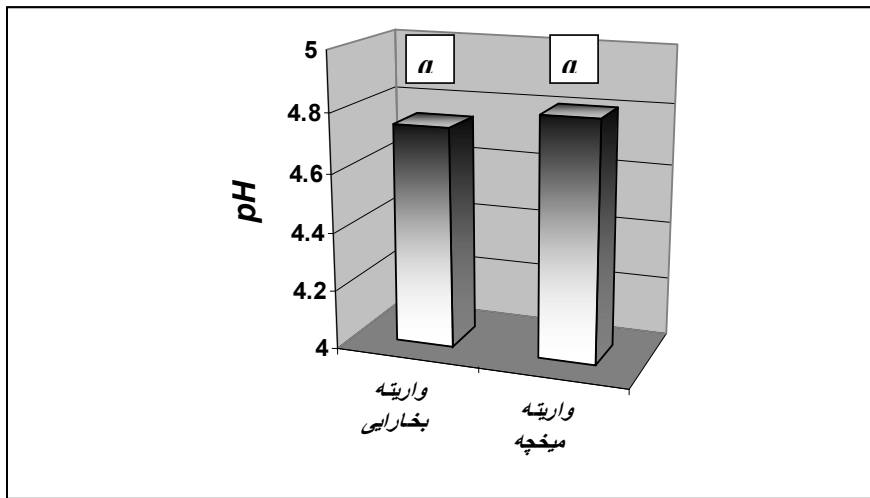
برسد. از آن جا که وجود اتانول همراه با اسیداستیک جهت فعالیت باکتری‌های اسید استیک ضروری است ، لذا زمانی که مقدار الکل به کم تر از ۰/۲ درصد می‌رسد، سرعت مرگ باکتری ها افزایش می‌یابد (۹۰۸).

۳-۴- بررسی روند تغییرات pH

در وارپته ی بخارایی ، pH اولیه نمونه‌ها ۶/۴ می‌باشد که نسبت به وارپته ی میخچه بالاتر است. pH وارپته ی میخچه تا روز سوم ثابت بوده و پس از آن کاهش می‌یابد. به طوری که در روز پنجم به حدود ۵/۲ می‌رسد. کاهش pH در ابتدای فاز تخمیر استیکی کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد ($P \leq 0.01$) که به دلیل آغاز اکسیداسیون الکل به اسید می‌باشد. علی‌رغم این که در طی فرآیند تخمیر الکلی در کنار اتانول ترکیبات دیگری نظیر اسید استیک و اسید لاکتیک نیز تولید می‌شوند ، اما احتمالاً مقادیر تولید شده در مراحل اولیه ی تخمیر به قدری ناچیز می‌باشد که تاثیری بر pH نداشته است. تغییرات pH در روزهای سوم تا دهم بسیار ناچیز است و روند نسبتاً ثابتی دارد. اما پس از آن pH مجدداً شروع به کاهش می‌کند به طوری که در روز ۴۵ ام به حدود ۳/۸۵ می‌رسد. این تغییرات در سطح اطمینان درصد معنی‌دار هستند. (تخمیر الکلی) pH در حدود ۵/۶ (pH اولیه ی نمونه‌ها) ثابت و بدون تغییر است ، اما پس از آن شروع به کاهش می‌کند و به حدود ۳/۷۵ در روز ۴۵ ام می‌رسد. این تغییرات در محدوده اطمینان ۹۹ درصد کاملاً معنی‌دار است (شکل ۱) . مقایسه ی میانگین تغییرات pH در دو وارپته ی توت سفید در طی دوره ی تخمیر، نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین آن ها وجود ندارد (شکل ۲).



شکل ۱- روند تغییرات pH در طی دوره ی تخمیر



شکل ۲- مقایسه ی میانگین تغییرات pH در دو واریته ی توت سفید در طی دوره ی تخمیر

۳-۵- بررسی روند تغییرات اسیدیته

اسیدیته ی اولیه ی واریته ی بخارایی بر حسب اسید استیک حدوداً $\frac{1}{3}$ واریته ی میخچه است. در طی تخمیر الکلی تغییرات اسیدیته مشاهده نمی‌شود. در واریته ی بخارایی، مقدار اسیدیته از روز سوم شروع به افزایش کرد و از ۰/۲۴ درصد در روز سوم به ۰/۷۶ درصد در روز دهم افزایش یافت. روند افزایش اسیدیته در طی روزهای بعدی ادامه می‌یابد. اکسیداسیون اسید استیک موجب افزایش اسیدیته محیط و کاهش pH می‌شود. به طوری که در روز چهل و پنجم میزان اسیدیته به حداکثر خود می‌رسد (شکل ۳).

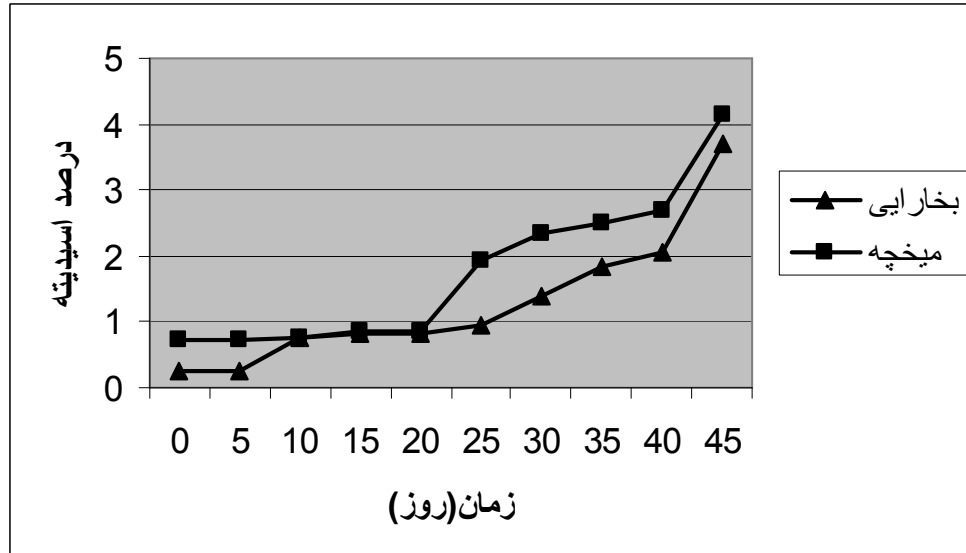
الگوی تغییرات اسیدیته در واریته ی میخچه نیز به همین ترتیب است. به طوری که مقدار اسید بر حسب اسیداستیک در پنج روز ابتدای تخمیر (تخمیر الکلی) حدود ۰/۷۲ درصد تعیین گردید. پس از آن روند افزایشی اسیدیته آغاز می‌گردد به نحوی که در روز چهل و پنجم به حدود ۴/۲ درصد می‌رسد. روند تغییرات اسیدیته در هر دو واریته، در طی زمان معنی‌دار است ($P \leq 0/01$).

بررسی روند تولید اسید در طی فرآیند تخمیر، نشان می‌دهد که میزان اسیدیته در واریته ی بخارایی از حدود ۰/۲۴ درصد در میوه ی اولیه به حدود ۳/۷ درصد در محلول تخمیر شده نهایی می‌رسد بنابراین، حدوداً ۱۵/۴ برابر افزایش در اسیدیته مشاهده می‌شود. در واریته ی میخچه، این تغییرات حدود ۷ برابر تعیین گردید. مقایسه ی میانگین اسیدیته، در دو واریته ی بخارایی و میخچه، در طی دوره ی تخمیر نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری میان دو واریته وجود ندارد (شکل ۴).

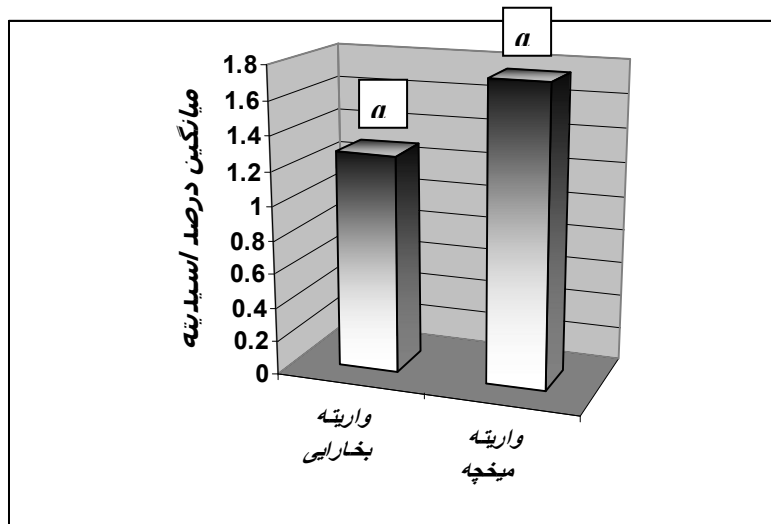


به طور کلی، حد نهایی تخمیر استیکی زمانی است که مقدار الکل کم تر از ۰/۵ درصد و مقدار اسیدیتته بر حسب اسید استیک حداقل ۴ درصد باشد. از آن جا که حضور اتانول در محیط فعالیت باکتری‌های اسید استیک ضروری می‌باشد، لذا با کاهش سوبسترای تخمیر (اتانول) فعالیت آن‌ها محدود می‌شود و زمانی که غلظت اتانول به کم تر از ۰/۲ درصد برسد، سرعت مرگ آن‌ها افزایش می‌یابد. غلظت مناسب اتانول جهت فعالیت باکتری‌های اسیداستیک (استوباکترها)، ۹-۱۳ درصد است.

طولانی شدن فرآیند تخمیر استیکی ممکن است منجر به اکسیداسیون بیش تر اسید استیک و تجزیه ی آن به آب و CO_2 شود. برخی گونه‌های جنس استوباکتر دارای ویژگی Overoxidizer بوده و چنین واکنشی را انجام می‌دهند. تجزیه و اکسیداسیون بیش تر اسیداستیک موجب بی‌مزه شدن سرکه و کاهش اسیداستیک می‌شود که نامطلوب است. از این رو باید تخمیر استیکی قبل از مرحله ی اوراکسیداسیون متوقف شود. چنانچه مقدار الکل ماده تخمیری کم و یا مقدار هوادهی خیلی زیاد باشد، احتمال اوراکسیداسیون وجود دارد. زمانی که محتوای الکل محیط بسیار کم می‌شود سوبسترای باکتری‌های اسید استیک محدود شده، لذا این باکتری‌ها، اسید استیک را مجدداً اکسید می‌کنند (۹ و ۸).



شکل ۳- روند تغییرات اسیدیتته در طی دوره ی تخمیر



شکل ۴- مقایسه ی میانگین اسیدینه، در دو واریته ی بخارابی و میخچه، در طی دوره ی تخمیر

۳-۶- بررسی روند تغییرات مواد جامد محلول (بریکس)

درجه بریکس یا درصد مواد جامد محلول به عنوان شاخصی از میزان مواد قندی به کار می‌رود. واریته ی بخارابی با متوسط درجه بریکس ۲۷ درصد تفاوت قابل توجهی نسبت به واریته ی میخچه با متوسط درجه بریکس ۱۸/۵ درصد نشان می‌دهند. ارزیابی چشایی این دو واریته نیز نشان دهنده ی تفاوت قابل توجه در مزه شیرین آن‌ها می‌باشد. مقایسه ی درصد کل قندهای احیا کننده به روش لین- آینون نیز موید این مطلب است. به نحوی که این مقدار در واریته ی بخارابی ۲۰/۵ درصد و در واریته ی میخچه ۱۸ درصد تعیین گردید (جدول ۱).

مواد قندی به عنوان سوبسترای اصلی فرایند تخمیر محسوب می‌شوند. به طوری که در طی تخمیر الکلی، مواد قندی به اتانول تبدیل شده و در تخمیر استیکی، اتانول به اسید استیک اکسید می‌گردد. از لحاظ تئوری هر ۱ گرم گلوکز موجب ایجاد ۰/۶۷ گرم اسید استیک می‌شود. به عبارت دیگر جهت تولید هر ۱ درصد اسید استیک در محصول نهایی، حداقل نیاز به ۲ درصد (وزنی - حجمی) قند در ماده اولیه است (۹ و ۸). از این داده‌ها می‌توان در محاسبه ی راندمان تئوریک و مقایسه ی آن با راندمان عملی تولید اسید استیک از توت سفید در فرآیند تخمیر، استفاده کرد.

بررسی روند تغییرات بریکس در طی فرآیند تخمیر، نشان دهنده ی کاهش قابل توجه درصد مواد جامد محلول در طی فاز تخمیر الکلی می‌باشد. به نحوی که در واریته ی بخارابی، درجه ی بریکس از ۲۷ به ۱۴/۵ درصد در روز سوم کاهش می‌یابد. کاهش بیش تر درجه بریکس تا روز پانزدهم رخ می‌دهد و به حدود ۱۱ درصد می‌رسد. پس از آن، تغییرات بریکس روند نسبتاً ثابتی را طی می‌کند به نحوی که در طی روزهای پانزدهم تا سی و پنجم درجه ی بریکس در حدود ۱۱

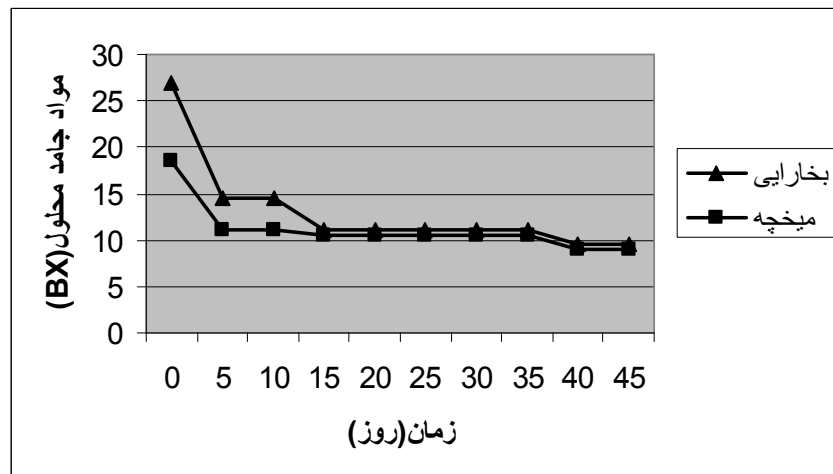


درصد تعیین گردید. پس از آن درجه ی بریکس مجدداً کاهش یافته و روند نزولی نسبتاً کندی را طی می کند و به حدود ۹/۵ درصد در پایان مرحله ی تخمیر می رسد (شکل ۳).

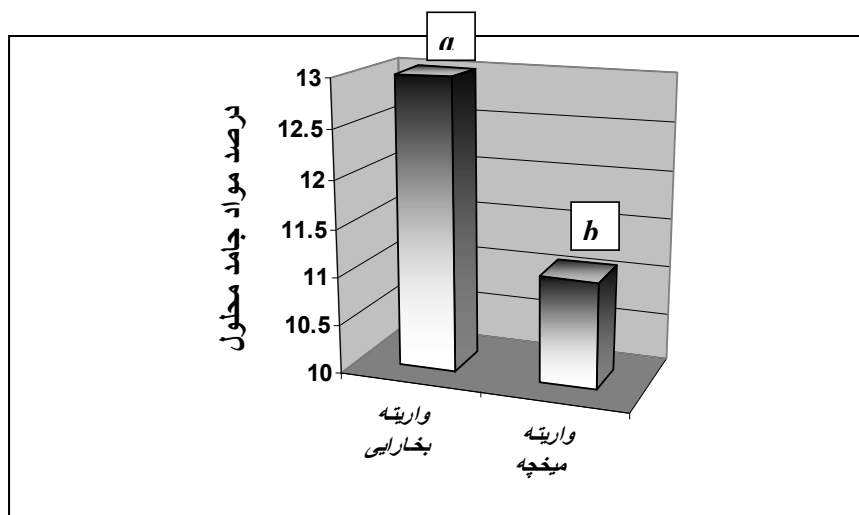
در واریته ی میخچه ، درجه ی بریکس در فاز تخمیر الکلی به شدت کاهش یافته و از حدود ۱۸/۵ درصد به ۱۱ درصد در روز پنجم می رسد. پس از آن تا روز سی و پنجم تغییر معنی داری مشاهده نمی شود. پس از آن درجه ی بریکس مجدداً کاهش یافته ، روند نزولی بسیار کندی را طی می کند و به حدود ۹ درصد در پایان مرحله تخمیر می رسد (شکل ۵). بنابراین ، مشاهده می شود که روند تغییرات درجه ی بریکس در طی زمان ، از الگوی سه مرحله ای شامل : کاهش سریع ، مرحله ثابت و کاهش کند ، در هر دو واریته پیروی می کند. این تغییرات در مجموع در محدوده ی اطمینان ۹۹ درصد معنی دار می باشند. جدا از تفاوت قابل توجه میزان اولیه ی بریکس در دو واریته ، الگوی تغییرات شباهت بسیار زیادی دارد. کاهش سریع درجه ی بریکس در طی تخمیر الکلی به دلیل مصرف سریع ترکیبات قندی توسط مخمر و تبدیل آن ها به اتانول می باشد. اما پس از آن با ورود به مرحله ی تخمیر استیک ، سوبسترای واکنش تغییر کرده و فرآیند تخمیر با تبدیل اتانول به اسید استیک ادامه می یابد. بنابراین مواد قندی مصرف نشده در تخمیر الکلی ، تا پایان فرآیند تخمیر باقی خواهند ماند.

غلظت الکل یکی از عوامل اصلی بازدارنده ی فعالیت مخمرها می باشد . به طوری که رشد مخمرها معمولاً در غلظت ۵ درصد (حجمی - حجمی) الکل متوقف شده و در غلظت های بالاتر از ۱۰ درصد تولید الکل به صفر می رسد. بنابراین ، با متوقف شدن تولید الکل در پایان روز سوم در واریته ی بخارایی و در پایان روز پنجم در واریته ی میخچه ، مشاهده می کنیم که هنوز درصد قابل توجهی از مواد جامد محلول (حدود ۱۱ درصد) در تفاله ی توت تخمیر شده باقی می ماند که به الکل تبدیل نمی شود (۹ و ۸).

مقایسه ی میزان کاهش درجه ی بریکس در دو واریته ی توت سفید نشان می دهد که درصد مواد جامد محلول در واریته ی بخارایی از ۲۷ درصد در میوه ی اولیه به ۹/۵ درصد در محلول تخمیر شده ی نهایی حدوداً ۲/۹ برابر کاهش یافته است. در واریته ی میخچه تغییرات درصد مواد جامد محلول از ۱۸/۵ درصد در میوه ی اولیه به ۹ درصد در محلول تخمیر شده ی نهایی حدوداً ۲ برابر کاهش داشته است. نکته ی قابل توجه این است که سطح مواد قندی مصرف نشده که در محلول تخمیر شده نهایی باقی می ماند ، در هر دو واریته تقریباً یکسان است. مقایسه ی میانگین درصد مواد جامد محلول در طی دوره ی تخمیر، نشان دهنده ی اختلاف قابل توجه میان دو واریته است به طوری که میانگین درصد مواد جامد محلول واریته ی بخارایی بالاتر از واریته ی میخچه است. این اختلاف در سطح اطمینان ۵ درصد معنی دار است (شکل ۶).



شکل ۵- روند تغییرات مواد جامد محلول در طی دوره ی تخمیر



شکل ۶- مقایسه ی میانگین درصد مواد جامد محلول در طی دوره ی تخمیر

۳-۷- بررسی روند تغییرات غلظت الکل

در طی فاز تخمیر الکلی، غلظت الکل در شرایط بهینه طی ۴۸-۷۲ ساعت به حداکثر ۱۱-۱۳ درصد می‌رسد. اگر تخمیر استیکی به صورت نابهنگام و زودرس آغاز شود، جلوی فعالیت مخمر گرفته شده و در نتیجه مقدار زیادی از ماده قندی موجود در محیط هدر خواهد رفت (۹۰۸). بررسی روند تغییرات غلظت الکل، نشان می‌دهد که در واریته ی بخارایی، غلظت الکل طی مدت سه روز به حداکثر مقدار خود (۱۳/۳٪) می‌رسد. طی این مدت اسیدیتنه تغییر نمی‌کند اما درصد مواد جامد محلول از ۲۷ درصد به ۱۴/۵ درصد کاهش می‌یابد. در واریته ی میخچه، غلظت الکل طی مدت پنج روز به

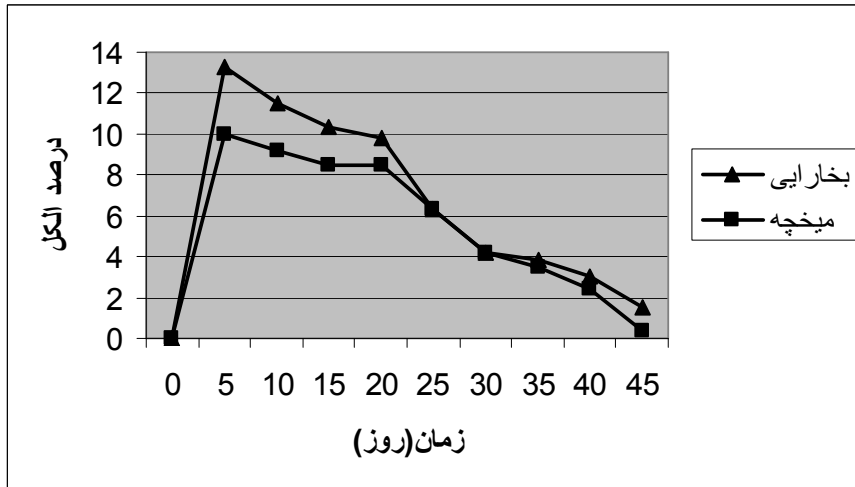


حداکثر مقدار (۱۰ درصد) می‌رسد. طی این مدت درصد مواد جامد محلول از ۱۸/۵ درصد به ۱۱ درصد کاهش می‌یابد (شکل ۷).

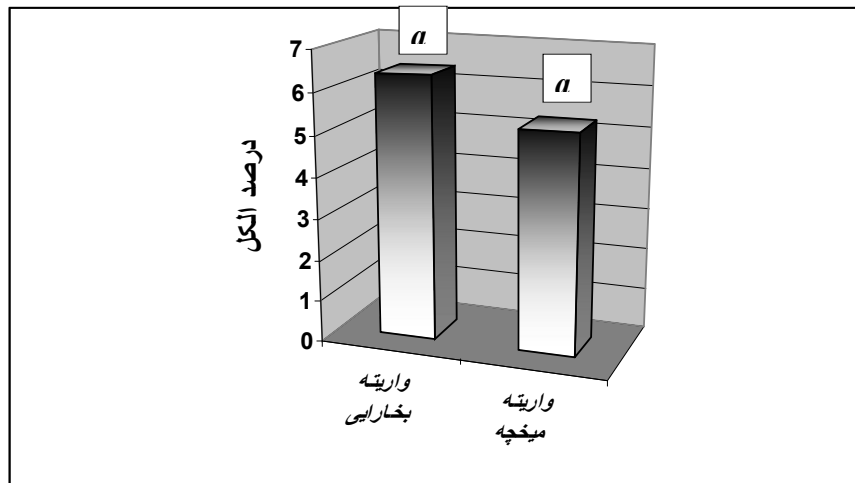
پیش از این مرحله و شروع فاز تخمیر استیکی، غلظت الکل در اثر هوادهی و اکسیداسیون اتانول به اسید استیک شروع به کاهش می‌کند. روند کاهش غلظت الکل در محیط، متناسب با افزایش غلظت اسید می‌باشد. نکته‌ی قابل توجه در مقایسه‌ی بین وارپته‌ی توت سفید میخچه و بخارایی، این است که سرعت تخمیر الکلی در توت بخارایی بیش تر از توت میخچه است. با توجه به این که توت بخارایی حاوی مواد قندی بالاتری است درصد الکل بیش تری نیز از تخمیر آن حاصل می‌شود. اما پس از آن، سرعت تولید اسید در توت میخچه نسبت به توت بخارایی پیشی می‌گیرد. به نحوی که غلظت اسید در روز چهل و پنجم در وارپته‌ی میخچه ۴/۱۶ درصد و در وارپته‌ی بخارایی ۳/۲ درصد تعیین گردید. نکته‌ی حائز اهمیت این است که در روز چهل و پنجم غلظت الکل در وارپته‌ی میخچه کم تر از ۰/۵ درصد و در وارپته‌ی بخارایی حدود ۱/۵ درصد است. این مساله، نشان دهنده‌ی آن است که روند تخمیر استیکی در وارپته‌ی میخچه سریع تر بوده است به طوری که اتانول موجود در محیط با سرعت بیش تری اکسید گردیده است. در هر صورت میانگین تغییرات درصد الکل در دو وارپته، در طی دوره‌ی تخمیر تفاوت معنی داری را نشان نمی‌دهد (شکل ۸).

در طی تخمیر استیکی، غلظت الکل به تدریج کاهش یافته، به نحوی که در پایان تخمیر به کم تر از ۰/۵ درصد می‌رسد. حضور ۰/۲-۰/۳ درصد الکل در محصول نهایی از چند جنبه دارای اهمیت است. اولاً از Overoxidation اسید استیک توسط استوباکترها جلوگیری می‌شود، ثانیاً الکل باقی مانده در مرحله‌ی رساندن سرکه موجب بهبود طعم و رایحه آن می‌شود. به طور کلی تغییرات غلظت الکل را در طی فرآیند تخمیر می‌توان به دو مرحله تقسیم بندی کرد:

- ۱- مرحله‌ی تخمیر الکلی که طی آن غلظت الکل از صفر به حدود ۱۱-۱۳ درصد می‌رسد.
- ۲- مرحله‌ی تخمیر استیکی که طی آن غلظت الکل در اثر اکسیداسیون کاهش یافته، نهایتاً به کم تر از ۰/۵ درصد می‌رسد. مرحله‌ی اول نسبتاً سریع تر بوده و طی ۲۲-۴۸ ساعت رخ می‌دهد، اما مرحله‌ی دوم بخصوص در فرآیندهای سنتی و روش‌های ناپیوسته بسیار طولانی است، چرا که در این روش‌ها، سطح تماس باکتری‌های اسید استیک با هوا و الکل کم تر است و در نتیجه سرعت استیفیکاسیون کاهش می‌یابد (۹ و ۸).



شکل ۷- روند تغییرات الکل (اتانول) در طی دوره ی تخمیر



شکل ۸- میانگین تغییرات درصد الکل در دو وارسته ی توت سفید، در طی دوره ی تخمیر

۳-۸- محاسبه ی راندمان تخمیر

جهت محاسبه ی راندمان تولید اسید استیک در طی فرآیند تخمیر از رابطه ی زیر استفاده می شود :

$$\text{Acid yield} = \frac{\text{غلظت الکل در ابتدای تخمیر}}{\text{غلظت اسید در انتهای تخمیر}} \times 100$$

بنابراین ، با استفاده از داده های به دست آمده از ارزیابی تغییرات غلظت اسید و الکل در طی زمان تخمیر می توان نوشت :

$$\text{Acid yield} = \frac{4/16}{10} \times 100 = 41/6 \quad \text{وارسته ی میخچه}$$

$$\text{Acid yield} = \frac{3/7}{13/3} \times 100 = 27/8 \quad \text{وارسته ی بخارایی}$$



همان طور که مشاهده می‌شود راندمان تولید اسید استیک در شرایط آزمایش از سطح پایینی برخوردار است. عوامل مختلفی در این مساله سهیم هستند که مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از:

۱- استفاده از فرآیند ناپیوسته که در آن دو مرحله ی تخمیر الکلی و استیکی بلافاصله در امتداد یکدیگر قرار دارند. تخمیر الکلی باید از مرحله ی تخمیر استیکی کاملاً جدا باشد. چرا که اگر تخمیر استیکی به صورت زودرس آغاز شود ، جلوی فعالیت مخمر گرفته شده ، مقدار زیادی از ماده ی قندی موجود در محیط ، هدر می‌رود.

۲- دمای آزمایش 25°C انتخاب گردید که با دمای بهینه تخمیر استیکی که $30-28^{\circ}\text{C}$ می‌باشد فاصله دارد.

۳- عدم استفاده از سوش‌های خالص باکتری‌های اسید استیک (استفاده از سرکه ی پاستوریزه نشده)

۴- تبخیر سرکه به علت طولانی شدن زمان تخمیر ۵- پایین بودن راندمان تولید الکل در مرحله ی اول.

۴- نتیجه‌گیری

با توجه به وفور درختان توت سفید در ایران و اقلیم آب و هوایی مناسب جهت پرورش توتستان‌های میوه‌ده و نیز علاقه‌ی ایرانیان به مصرف آن و عدم وجود روش‌های مناسب تبدیل و نگه داری میوه توت سفید ، ضرورت مطالعه بر روی بهینه‌سازی روش‌های فراوری توت احساس می‌شود. هر چند در این پژوهش مبانی تولید فراورده‌هایی نظیر سرکه و کنسانتره مورد بحث قرار گرفته است ، اما مطالعه بر روی فراورده‌های دیگری نظیر توت خشک ، بسته‌بندی توت خشک ، تولید شربت و نوشابه نیز می‌تواند در ادامه ی این پژوهش برنامه‌ریزی گردد. آن چه در این میان اهمیت بیش تری دارد، شناسایی و نام گذاری وارپته های مختلف توت سفید ، بویژه وارپته‌های میوه‌ده در ایران به روشی کاملاً علمی است که تا کنون مورد توجه قرار نگرفته است. نرمی و حساسیت بیش از حد میوه ی توت سفید نسبت به کپک و مخمر، بالا بودن رطوبت ، پایداری کم ، عدم امکان نگه داری طولانی مدت و دوره ی میوه‌دهی کوتاه مدت آن ، از دیگر دلایلی هستند که بر بهینه‌سازی روش‌های تبدیل و فراوری این محصول با ارزش تاکید دارند.

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش ، می‌توان گفت که توت سفید می‌تواند به عنوان یک ماده ی اولیه ی مناسب در تولید سرکه مورد استفاده قرار گیرد. بررسی روش‌های کنترل قهوه‌ای شدن آنزیمی و مهار آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز در بهبود ویژگی‌های ظاهری و عطر و طعم فراورده‌های تبدیلی توت سفید نظیر آب میوه ، کنسانتره ، شربت و نوشابه موثر خواهد بود که نیاز به مطالعه بیش تری دارد.



۵- منابع

- ۱- اعتباری، ا. ۱۳۶۶. کلیات کاشت، داشت و برداشت توت، انتشارات سازمان ترویج کشاورزی.
 - ۲- الهامی راد، ا. ح. ۱۳۸۱. فراوری میوه‌ها، تغذیه، فراورده‌ها و مدیریت کیفی، نشر جهانکده، به سفارش معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار .
 - ۳- پروانه و . ۱۳۷۱ . کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی، انتشارات دانشگاه تهران.
 - ۴- حسن آبادی، ا. ۱۳۸۲. راهنمای پرورش کرم ابریشم و کاشت درخت توت، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
 - ۵- حسینی، ز. ۱۳۷۳. روش‌های متداول در تجزیه مواد غذایی، انتشارات دانشگاه شیراز.
 - ۶- خسروشاهی اصل، ا. ۱۳۷۶ . شیمی تجزیه مواد غذایی، انتشارات دانشگاه ارومیه.
 - ۷- صادقی ماهونک، ع. ر. ۱۳۷۹ . استفاده از ضایعات هندوانه بذری (آب هندوانه) در تولید سرکه، طرح پژوهشی، واحد سبزوار.
 - ۸- کاظمی ویسری، ا. ۱۳۷۴. میکروبیولوژی صنعتی، انتشارات جهاد دانشگاهی صنعتی شریف.
 - ۹- مرتضوی، ع. ۱۳۷۶. بیوتکنولوژی - میکروبیولوژی صنعتی، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
- 10- 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.
- 11-Doymaz, I. 2004 . Pretreatment effect on sun drying of mulberry fruits (*Morus alba* L.) , *Journal of Food Engineering* 65(2): 205-209.
- 12-Doymaz, I. 2004 . Drying kinetics of white mulberry, *Journal of Food Engineering* 61(3): 341-346.
- 13- Duke, J, A. 1983. *Handbook of Energy Crops*, Centre for New Crops & Plants Products, Purdue University.
- 14-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.
- 15-Firestone, D. 1990. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 15 th edn., Arlington, USA.
- G. 1997. Quality characteristics of four mulberry (*Morus* spp.) cultivars [Gerasopoulos, D. and Stavroulakis](#), 16- in the area of Chania Greece, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 73, pp. 261–264.
- 17-Maskan, M. and Gogus, F. 1998. Sorption isotherms and drying characteristics of mulberry (*morus alba*), *Journal of Food Engineering* 37(4):437-449.
- 18- Sengul, M.F. 2005. Rheological, physical and chemical characteristics of mulberry pekmez, *Food Control* 16, pp. 73–76.