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

سید احمد شهیدی[1*]، مهین مؤتمنی[2]، آزاده قربانی حسن‌سرایی[3]، آرش کوچکی[4]

[1] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
[2] کارشناس ارشد صنایع غذایی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
[3] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
[4] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱/۲۳

چکیده

آب انگور منبع مهمی از فیتوکیمیکال‌ها 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. ازجمله روش‌های اخیر برای جداسازی این ترکیبات رنگی، استفاده از آنزیم‌ها است. در این پژوهش به بررسی اثر دو آنزیم پکتینکس اولترا کلییر 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 موردبررسی 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 موردمطالعه 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

* مسوول مکاتبات : sashahidy@yahoo.com

۱- مقدمه

آب‌میوه‌ها ازنظر مصرف‌کنندگان فرآورده‌هایی سالم هستند، به همین دلیل در سال‌های اخیر تبدیل به فرآورده‌هایی بسیار محبوب شده‌اند و تجارت آن‌ها رو به افزایش است. تولید آب‌میوه‌ها بر مبنای نگهداری فرآورده، تنوع‌بخشی و ایجاد بازارهای مصرف بیشتر برای میوه موردتوجه صنعت غذا قرار دارد. انگور نیز یکی از بزرگ‌ترین محصولات میوه‌ای تولیدی در جهان است. با توجه به اطلاعات فائو[1] 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 آب‌میوه‌ها است (۱۱).

ترکیب شیمیایی، یکی از مهم‌ترین ملاک‌های کیفیت برای آب‌میوه‌ها است (۳۵). ترکیب شیمیایی انگور تحت تأثیر عوامل مختلفی ازجمله بلوغ، واریته، سال و محلی است که رشد در آن انجام‌گرفته است (۱۶). ترکیب آب انگور بسیار شبیه به انگور است، به‌جز فیبرها و روغن‌ها که عمدتاً در دانه انگور وجود دارند و در حین فرآیند تولید آب‌میوه حذف می‌شوند. قندها، اسیدها، الکل‌ها و آلدهیدها مهم‌ترین ترکیبات طعم زا در انگور هستند. گلوکز و فروکتوز مهم‌ترین قندهای موجود در آب‌میوه هستند. هارتمن و تولمن گزارش کردند که در برخی از نمونه‌های مورد آزمایش بیش از یک‌سوم قند کل ساکارز است اما نتایج، وجود قند دیگری به‌جز 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 گزارش‌شده است. این اسیدها عامل ایجاد pH پایین و طعم ترش و شیرین در این محصول هستند (۱۲)، اسیدیته بالای ۰/۸۵ درصد، طعم بیش‌ازحد ترشی را ایجاد می‌کند (۳۶). ساستری و تیسچر کلروفیل، کاروتنوئید و آنتوسیانین را از آب انگور جداسازی کردند (۳۲).

رنگ به‌عنوان یکی از عوامل کیفیت به‌شدت بر پذیرش آب‌میوه توسط مصرف‌کننده تأثیر می‌گذارد (۵). تغییر رنگ طی آماده‌سازی غذا، راهنمای مفیدی برای کنترل کیفیت است و به‌عنوان معیاری مناسب در ارزیابی کیفیت در بسیاری از فرآیندها مورداستفاده 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 به‌طور عمده با توجه به ترکیب و محتوای آنتوسیانین‌ها متفاوت است (۱۳). محتوای آنتوسیانین‌ها توسط عوامل زیست‌محیطی و نیز عوامل زراعی تحت تأثیر قرار می‌گیرند. آنتوسیانین‌ها ناپایدار هستند و ثبات آن‌ها تا حد زیادی تحت تأثیر شرایط فرآوری، ازجمله 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 آب‌میوه مورداستفاده قرارگرفته است. یکی از رویکردهای اخیر استفاده از آنزیم‌های صنعتی است که به‌عنوان پیش تیمار مورداستفاده 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 کاتالیستی خود واکنش‌های مشخصی را تسریع می‌کند (۲۸). بررسی منابع نشان می‌دهد که استفاده از تیمارهای آنزیمی به‌صورت معنی‌داری رنگ و محتوای آنتوسیانین‌ها را در آب‌میوه‌ها افزایش داده است. خاندارو و همکاران این افزایش را در هویج سیاه گزارش کردند (۱۴). لی و رولستاد تفاله زغال‌اخته را تحت تیمار آنزیمی قراردادند و مشاهده کردند که با اعمال تیمار آنزیمی محتوای آنتوسیانین‌ها به‌صورت معنی‌داری افزایش‌یافته 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 موردبررسی قرارگرفته است.

[1] FAO

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی نمونه‌ها

در این پژوهش از انگور سیاه سردشت (واریته ای از Vitis viniferia) استفاده‌شده است. این واریته در قسمت‌های وسیعی از کوه‌های اطراف سردشت در جنوب آذربایجان غربی رشد می‌کنند. میوه‌های کاملاً رسیده به‌صورت کاملاً تصادفی از باغی در سردشت جمع‌آوری شد و به محل آزمایشگاه انتقال یافتند. حبه‌های انگور تازه از خوشه جدا شدند و پس از جداسازی ضایعات، شستشو و خشک شدند. حبه‌ها به ۵ قسمت ۴۰۰ گرمی تقسیم شدند و به‌صورت مش درآمدند. یک قسمت به‌عنوان 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 کلییر[1] و پکتینکس یلدمش[2]، نووزیمز[3]، دانمارک) قرار گرفتند و برای اثربخشی آنزیم‌ها، به مدت ۱ ساعت در دمای بهینه فعالیت آنزیم‌ها (۵۵ درجه سانتی‌گراد) گرمخانه گذاری شدند. آب‌میوه به‌وسیله آب‌میوه‌گیری خانگی بعد از عبور از پالایه به دست آمد. بریکس تمام نمونه‌ها توسط آب مقطر روی ۱۲/۰۰ تنظیم شد. آب‌میوه‌ها 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 به‌سرعت سرد شدند. بخشی از نمونه‌ها برای انجام آزمایش در زمان صفر مورداستفاده 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 منومریک کل با استفاده از روش pH افتراقی[4] (روش اسپکتروفتومتری)، بر اساس روش توضیح داده‌شده در AOAC اندازه‌گیری شد (۱۷). جذب در ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای آنتوسیانین منومریک کل (TA) (mg/L) بر اساس سیانیدین- ۳- گلوکوزید بر اساس فرمول (۱) محاسبه شد (۱۷).

$$TA = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\varepsilon \times L} \qquad (۱)$$

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

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{520} - A_{700})_{pH\,4.5} \qquad (۲)$$

و MW=۴۴۹/۲(g/mol)، ε=۲۶۹۰۰(L/mol.cm) به ترتیب برابر با وزن مولکولی و جذب مولی سیانیدین-۳- گلوکوزید هستند. DF فاکتور رقت و L نیز طول سل اسپکتروفتومتر (سانتی‌متر) هستند.

۲-۳- اندازه‌گیری رنگ

پارامترهای a*، b* و L* با هانتر لب (Colour Flex, model 45/0, U.S.A) 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[5]، 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 به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار مینی تب نسخه ۱۶[6] 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[7] استفاده گردید.

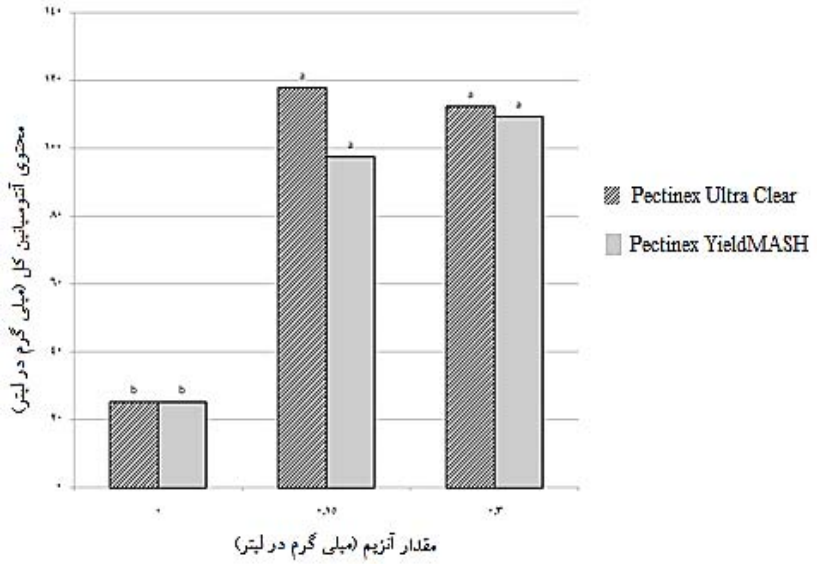
[1] Pectinex UltraClear
[2] Pectinex YildMASH
[3] Novozymes
[4] pH differential
[5] Merck
[6] Minitab ver. 16
[7] Excel 2007

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آنتوسیانین‌های کل

نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد که سطح آنزیم مورداستفاده تأثیر معنی‌داری بر محتوای آنتوسیانین کل داشته است (P<۰/۰۵). استفاده از آنزیم موجب افزایش استخراج آنتوسیانین به آب‌میوه می‌شود. بررسی اثر متقابل تیمار نوع آنزیم و مقدار آنزیم نشان داد تفاوت معنی‌داری بین محتوای آنتوسیانین کل در آب‌میوه شاهد و نمونه‌های تیمار شده وجود دارد (P<۰/۰۵). بیشترین محتوای آنتوسیانین کل در استفاده از آنزیم Pectinex Ultra Clear در سطح ۰/۱۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد هرچند که تفاوت معنی‌داری با سطح ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر همین آنزیم و سطوح ۰/۱۵ و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر آنزیم Pectinex YieldMASH نداشت اما با تیمارهای ۰ میلی‌گرم در لیتر هر دو آنزیم تفاوت معنی‌داری وجود داشت (شکل ۱). اثر متقابل زمان نگهداری، نوع و مقدار آنزیم بر محتوای آنتوسیانین کل در آب انگور سیاه نیز معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). ازآنجاکه زمان نگهداری اثر معنی‌داری بر محتوای آنتوسیانین کل ندارد اختلاف عمده به دلیل استخراج اولیه محتوای آنتوسیانین کل است که در نمونه‌های تیمار شده با مقدار آنزیم صفر میلی‌گرم در لیتر کمتر بوده و همین اختلاف طی نگهداری نیز باقی می‌ماند (شکل ۲).

ترکیب دیواره سلولی در انواع مختلف میوه‌ها به‌طور قابل‌توجهی

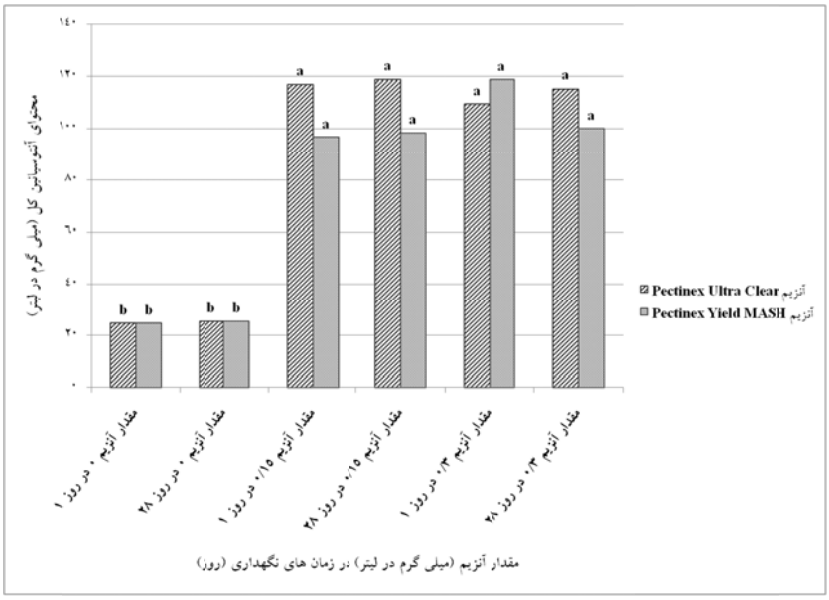


شکل ۱- اثر متقابل نوع و مقدار آنزیم بر محتوای آنتوسیانین کل در آب انگور سیاه.

متفاوت است، اما به طور عمده از پکتین، همی سلولز، سلولز، لیگنین و سایر اجزاء تشکیل‌شده است (۲۲). پکتین در بسیاری از بافت‌های گیاهی به‌عنوان یک ماده سیمانی در لایه میانی عمل می‌کند. با توجه به اینکه آنتوسیانین‌ها تقریباً به‌طور انحصاری در پوست در داخل سلول و یا متصل به دیواره سلولی وجود دارند (۱۹ و ۳۷)، به‌کارگیری عاملی که باعث نرم شدن و هیدرولیز پکتین شود می‌تواند موجب کاهش چسبندگی بین سلولی شود (۱۶) و به‌این‌ترتیب سست شدن پیوند آنتوسیانین‌های متصل به دیواره سلولی می‌تواند موجب آزادسازی بیشتر آن‌ها شود و قابلیت تولید فرآورده‌ای با محتوای آنتوسیانین بالاتر را فراهم آورد (۱۹). پکتینازهای تجاری معمولاً مخلوطی از آنزیم‌های مختلف، مانند پلی گالاکتروناز و پکتین لیاز هستند که احتمالاً قادرند کمپلکس پیچیده‌ای با دیواره سلولی به وجود آورند که بدین ترتیب شکل مولکول آنزیم تغییر کرده و منجر به شکستن دیواره سلولی می‌شود که این امر درنهایت موجب افزایش آزادسازی آنتوسیانین‌ها می‌شود (۵، ۳۴، ۳۶ و ۳۷).

در استفاده از مقدارهای بالاتر آنزیم Pectinex Ultra Clearمشاهده می‌شود که در مقدارهای بالاتر آنزیم کاهشی در میزان آنتوسیانین‌ها رخ می‌دهد. تأثیر منفی افزایش مقدار آنزیم ممکن است به دلیل عمل کاتالیزوری آنزیم در تخریب گلوکوزیدهای آنتوسیانین‌ها، به دلیل فعالیت جانبی بتا-گلوکوزیداز آنزیم باشد. همان‌طور که می‌دانیم آنزیم‌های تجاری

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 به‌این‌ترتیب با شکستن آنتوسیانین‌ها منجر به تشکیل مشتقات بی‌رنگ شوند (۹). نگهداری طی ۲۸ روز تغییر معنی‌داری (P>۰/۰۵) در میزان آنتوسیانین‌های آب انگور سیاه ایجاد نکرده است (شکل ۲). این موضوع با نوع و مقدار آنتوسیانین‌های موجود در انگورهای مختلف در ارتباط است (۳۰). تفاوت در نوع آنتوسیانین‌ها توضیح می‌دهد که چرا رنگ بعضی از انگورها پایدارتر است و برای استفاده در فرآیندها 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). ریبرو-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).

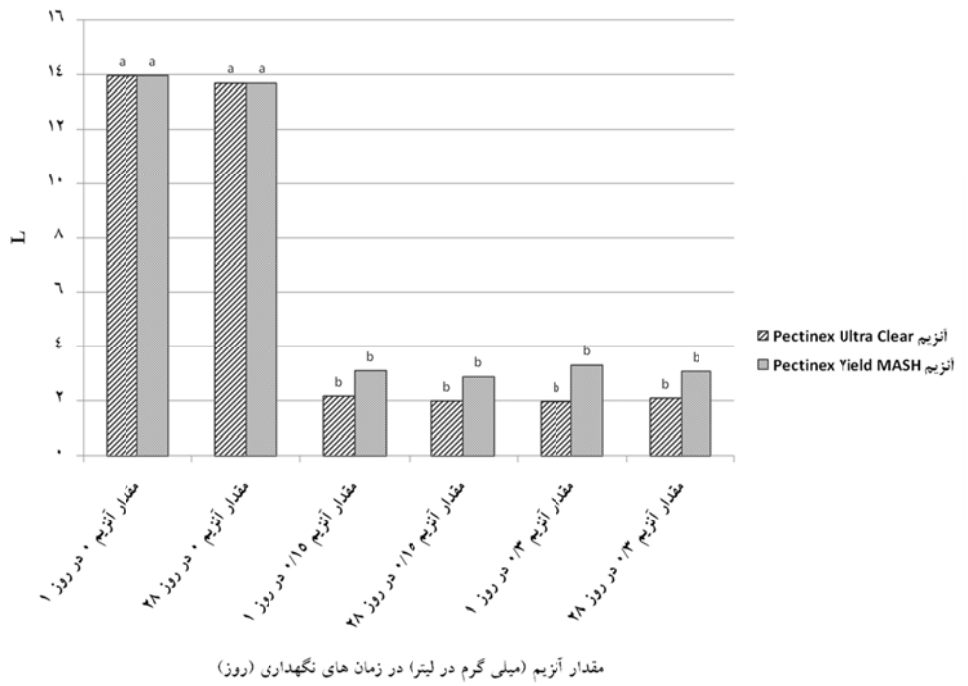


شکل ۲- اثر متقابل تیمار آنزیمی (برحسب میلی‌لیتر در کیلوگرم) و ۲۸ روز نگهداری بر محتوای آنتوسیانین‌های آب انگورهای تیمار شده.

۳-۲- اندازه‌گیری رنگ

۳-۲-۱- L*

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>۰/۰۵)، 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<۰/۰۵). کمترین میزان L* مربوط به استفاده از آنزیم و بیشترین مقدار مربوط به شاهد است که نشان می‌دهد، انتخاب سطوح توانسته به‌صورت 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<۰/۰۵).



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

*L نشان‌دهنده روشنایی محصول است و کاهش روشنایی در آب‌میوه به افزایش شدت رنگ محصول نسبت داده می‌شود که درنتیجه افزایش محتوای آنتوسیانین‌ها در اثر استفاده از فرآیند کمک آنزیمی رخ‌داده است (۱۴). تعامل رنگ‌دانه‌ها و ساختار مواد غذایی، رنگ و ماتی/شفافیت را تحت تأثیر قرار می‌دهد، برای مثال تغییرات کوچک در پراکندگی سیستم 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 مات و شفاف بستگی به نسبت جذب به پراکنش نور از پیگمانها دارد. شاخص انکسار و خواص پراکندگی نور از خصوصیات مواد تأثیر می‌پذیرد (۲۱). پکتینازها قادرند تخریب پلی ساکارید های ایجادکننده کدورت را کاتالیز کنند (۳۷). استفاده از آنزیم نسبت به استخراج غیر آنزیمی به‌صورت مؤثرتری پلی ساکارید ها را از آب‌میوه خارج سازد، بدین ترتیب *L ارتباط بیشتری با محتوای آنتوسیانین‌ها خواهد داشت (۱۵).

*L مشاهده می‌شود که بیان‌کننده کاهش روشنایی در آب‌میوه است و به‌طور عمده به رنگ شدید محصول نسبت داده می‌شود که درنتیجه افزایش محتوای آنتوسیانین‌ها در اثر فرایند کمک آنزیمی است (۱۴). بررسی نتایج این پژوهش نیز همین نظر را تأیید می‌کند و مشاهده می‌شود که استفاده از سطح بالاتر، محتوای بالاتر آنتوسیانین‌ها 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.

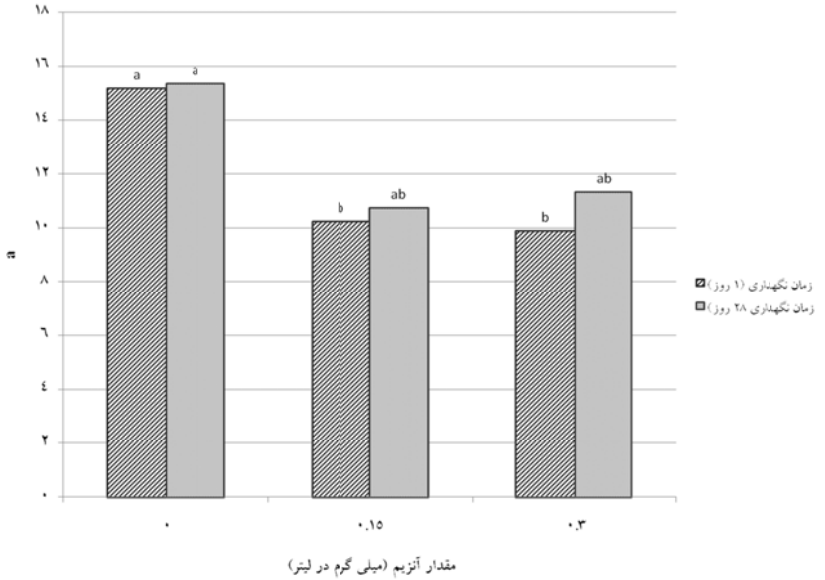
۳-۲-۲- *a

مقدار *a در آب‌میوه حاصل از آنزیم Pectinex Ultra Clear به‌صورت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) کمتر از مقدار *a در آب‌میوه حاصل از تیمار با Pectinex YieldMASH بود. خانداره و همکاران (۲۰۱۱)، بیان کردند که با افزایش محتوای آنتوسیانین آب‌میوه، مقدار*a نیز افزایش می‌یابد (۱۴). مقایسه مقدار *a و مقدار آنتوسیانین این نظریه را به‌صورت کامل تأیید نمی‌کند و انحرافی را در تیمار با آنزیم Pectinex Ultra Clear نشان می‌دهد. بااینکه آب‌میوه حاصل از تیمار با آنزیم Pectinex Ultra Clear ازنظر محتوای آنتوسیانین تفاوت معنی‌داری با محتوای آنتوسیانینی تیمار با Pectinex YieldMASH ندارد، اما ازنظر مقدار*a اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. این می‌تواند ناشی از این امر باشد که عامل دیگری غیر از مقدار آنتوسیانین بر مقدار *a تأثیرگذار است. مک دوگال (۲۰۰۲)، بیان کرد که تعامل رنگ‌دانه‌ها و ساختار مواد غذایی رنگ و شفافیت/ماتی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و ممکن است تغییرات کوچک در پراکندگی سیستم بتواند تغییرات بیشتری را در رنگ

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 به‌احتمال‌زیاد ناشی از عملکرد ضعیف‌تر این آنزیم در پکتین زدایی از آب‌میوه 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<۰/۰۵). مشاهده می‌شود که روند تغییر مقادیر a* شبیه روند تغییرات L* است. می‌توان بیان کرد که مقدار a* علاوه بر مقدار آنتوسیانین‌های موجود در آب‌میوه از دیگر مواد محلول در آب‌میوه نیز به‌صورت مؤثری تأثیر می‌پذیرد (۳۳).

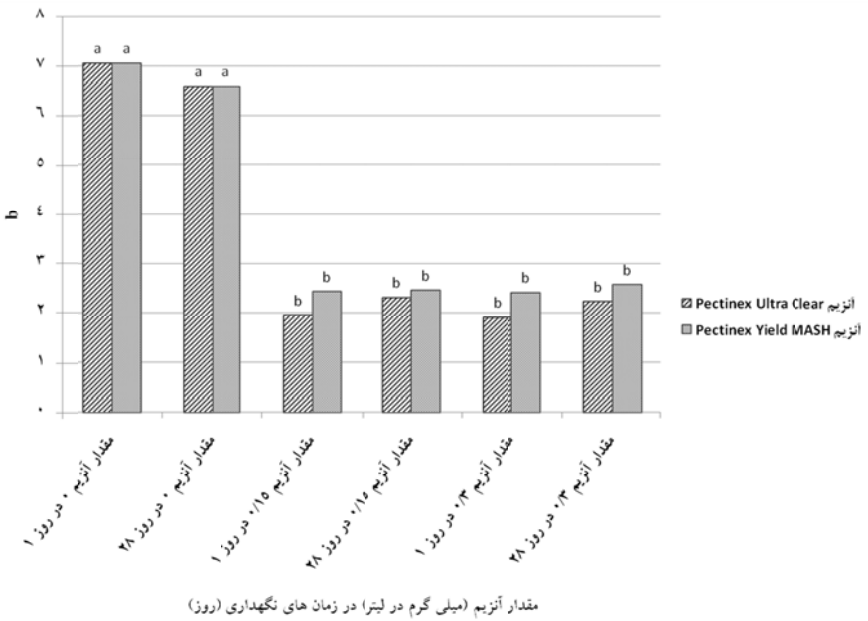
فاکتور a* نشان‌دهنده قرمزی نمونه است و با توجه به اینکه استفاده از تیمار آنزیمی باعث افزایش محتوای آنتوسیانین آب‌میوه و به طبع آن افزایش شدت رنگ آن شده است، انتظار می‌رفت طبق گزارش‌های خانداره و همکاران (۲۰۱۱) با افزایش میزان فاکتور a* در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد مواجه شویم، اما چنین حالتی مشاهده نشد (۱۴). به نظر می‌رسد انحراف مشاهده‌شده ناشی از پکتین و دیگر عوامل کدورت زای محلول در آب‌میوه شاهد باشد. تعامل رنگ‌دانه‌ها و ساختار مواد غذایی، رنگ، کدورت و شفافیت آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به‌عنوان‌مثال می‌توان گفت که تغییرات کوچک در پراکندگی 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 پراکندگی نور از ویژگی‌های مواد تأثیر می‌پذیرد (۲۱).



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

۳-۲-۳- b*

با بررسی اثر تیمار آنزیمی بر b* مشخص شد که میزان b* در آب‌میوه‌های حاصل از تیمار با آنزیم‌های Pectinex Ultra Clear و Pectinex YieldMASH تفاوت معنی‌داری باهم ندارند (P>۰/۰۵). 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<۰/۰۵). در بین مقدار b* در شاهد، سطح ۰/۱۵ میلی‌گرم در لیتر و سطح ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری وجود داشت و بیشترین مقدار مربوط به شاهد و کمترین مقدار مربوط به سطح ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر بود (P<۰/۰۵). اثر متقابل نوع، مقدار آنزیم و زمان نگهداری بر b* (شکل ۵) در آب انگور سیاه نیز معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). اعمال سطح بالاتر باعث کاهش زردی آب‌میوه شده است. افزوده شدن



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

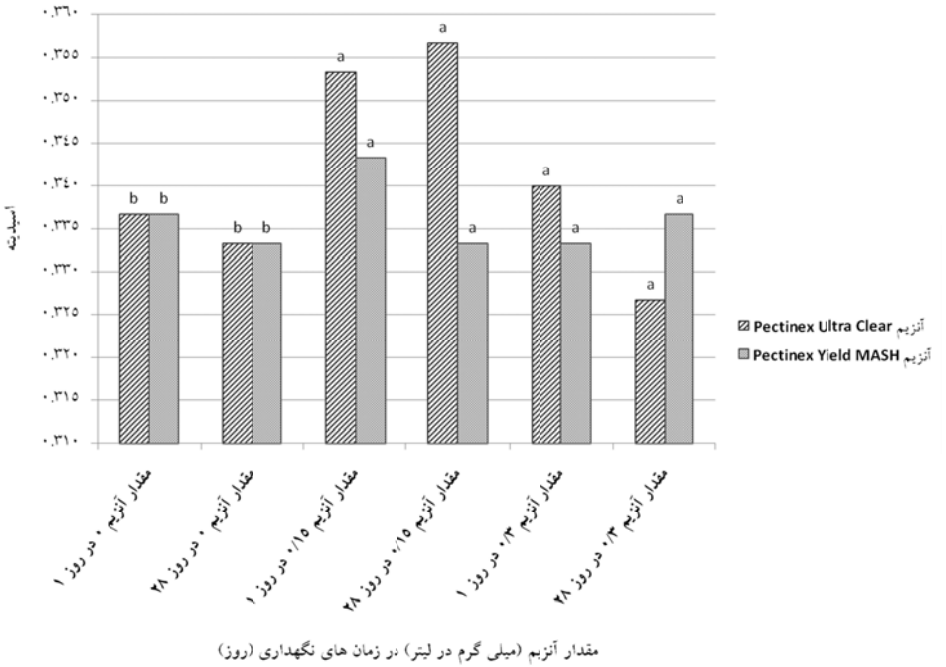
گروه هیدروکسیل به یون فلاویلیوم رنگ آبی را تقویت می‌کند(۲) ، بنابراین می‌توان گفت که استفاده از آنزیم‌ها، باعث جایگزینی بیشتر گروه هیدروکسیل در ساختار آنتوسیانین می‌شود. این نتایج، با یافته‌های خانداره و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد (۱۴).

بررسی نتایج نشان داد که در طی دوره نگهداری ۲۸ روزه هیچ تغییر معنی‌داری ($P>0/05$) در پارامترهای رنگ (*L، *a، *b) ایجاد نشده است. پایداری رنگ ممکن است با واریته انگور، دمای نگهداری محصول، نگهداری در بطری‌های تیره‌رنگ (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 می‌تواند باعث ناپایداری آنتوسیانین‌ها و درنتیجه باعث تغییر رنگ آن‌ها شود. افزایش معنی‌داری ($P<0/05$) که در میزان pH نمونه‌ها بعد از تیمار آنزیمی به چشم می‌خورد، احتمالاً به این دلیل است که آنزیم‌ها باعث تجزیه ترکیبات پکتیکی موجود در دیواره سلولی شده و آزادسازی ترکیبات فنلی متصل به آن‌ها را تسهیل می‌کنند. این ترکیبات دارای بار منفی بوده و می‌توانند با ترکیبات دارای بار مثبت وارد واکنش شوند و تشکیل کمپلکس دهند، بنابراین میزان یون‌های H_3O^+ در محیط کاهش می‌یابد و به‌این‌ترتیب pH به‌صورت جزئی افزایش می‌یابد (۱).

بررسی اثر سطوح به‌صورت مستقل نشان می‌دهد که هرچند pH نسبت به شاهد به‌صورت معناداری ($P<0/05$) افزایش‌یافته است، ولی این افزایش ناچیز هیچ اثر بارزی بر رنگ آنتوسیانین‌ها ندارد. اثر متقابل نوع، مقدار آنزیم و زمان نگهداری بر اسیدیته آب انگور سیاه (شکل ۶) معنی‌دار بود ($P<0/05$). بررسی نتایج نشان داد که در طی ۲۸ روز نگهداری، تغییر معنی‌داری ($P>0/05$) در میزان اسیدیته نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده ایجاد نشده است. لویس و همکاران (۱۹۴۹)، عنوان کردند که اسیدهای ارگانیک می‌توانند با قندها وارد واکنش شوند و تولید پیگمان‌های قهوه‌ای نمایند (۲۰)، به نظر می‌رسد که اسیدهای آلی در این زمینه نقش کاتالیزوری ایفا می‌کنند (۲۹). با توجه به عدم ایجاد تغییر معنادار در جذب نور واکنش قهوه‌ای شدن باعث افزایش جذب نور می‌شود (۳)، می‌توان گفت که اسیدهای آلی موجود در انگور قرمز در این زمینه نقش مهمی نداشته‌اند و خود نیز دچار تخریب نشده‌اند. بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری pH، تفاوت معنی‌داری ($P<0/05$) را طی زمان‌های مختلف نگهداری نشان می‌دهد. توجه به داده‌ها نشان می‌دهد که در روز ۱۴، افزایش معنی‌داری در pH اتفاق افتاده و در روز ۲۸، pH دوباره کاهش‌یافته است. این افزایش در pH احتمالاً با کوپیگمنتاسیون آنتوسیانین‌ها که در روز ۱۴ اتفاق افتاده است مرتبط است و با از بین رفتن این پیوند ناپایدار در روز ۲۸، pH مجدداً کاهش‌یافته است (جدول ۳).



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

۴- نتیجه‌گیری

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

۵- سپاسگزاری

بدین‌وسیله 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.

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

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., Ancın-Azpilicueta, C. and Martın-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. Produtos Funcionales derivados de lãs uvas y de los cítricos. Cap 5. In: Mazza, G., Acribia, S.A. (Eds.), Alimentos Funcionales: aspectos bioquímicose deprocesado. 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 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. Viticuit., 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 Anthocyannes 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.

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.