بررسی استخراج آنتوسیانین‌ها از کلم قرمز و جدا سازی آنها توسط فرایندغشایی فیبرهای مویین مشبک

ولی خلیلی[i]، بهروز میثمی[ii]، حسن فاطمی[iii]

چکیده

در این پژوهش، ابتدا، مرحله استخراج رنگدانه طبیعی آنتوسیانین ازمنبع کلم قرمز در شرایط مختلف دمایی و pH بوسیله حلال متانول – آب همراه با درصد های مختلف اسیدکلریدریک، مورد بررسی قرار گرفت. افزایش اسیدیته حلال و دمای محلول، میزان استخراج و رنگ محلول را افزایش داد. جدا سازی آنتوسیانین از آب کلم استخراج شده، بوسیله سیستم غشایی فیبرمویین در مقیاس اولترافیلترسیون، از جنس پلی سولفون، و تخلخلNMWC ۱۰۰۰۰، انجام شد که در این فرایند تاثیر پارامترهای عملیاتی غشایی در بازده جداسازی آنتوسیانین مورد بررسی قرار گرفت. پارامترهای مورد نظر عبارت بودند از: شار عبوری، غلظت اولیه، زمان گردش فاز و دمای خوراک. افزایش شارعبوری از فیبرمویین به علت کاهش ضخامت لایه مرزی ساکن در جداره داخلی فیبرهای مویین باعث افزایش حجم عبوری فاز نفوذ کرده شد. افزایش غلظت اولیه آنتوسیانین در فاز خوراک به علت افزایش نیروی محرکه جداسازی غشایی باعث افزایش غلظت و رنگ در فاز نفوذ کرده شد. افزایش دما نیز به علت کاهش ویسکوزیته خوراک، افزایش دبی فاز نفوذ کرده را به همراه داشت. پایداری آنتوسیانین استخراج شده نیز بوسیله تغییرات دما، pH، حضور اسید اسکوربیک، نور و اکسیژن (هوا) مورد بررسی قرار گرفت.

کلمات کلیدی:کلم قرمز، استخراج آنتوسیانین ها، جداسازی غشایی اولترافیلتراسیون، پایداری، رنگ غذایی

Investigation of Extraction and Separation of Anthocyanins from Red Cabbage by Ultrafiltration Hollow Fibers Membrane Process

V. Khalili , B. Meyssami , H. Fatemi

ABSTRACT

In this research, extraction of anthocyanins from red cabbage was investigated at different temperature and pH values using methanol-water solvent with different concentration of HCl.Extraction was done by a batch method. Increasing acidity and temperature of the solvent increased the extraction efficiency and color of the solution.The separation of anthocyanins pigments were performed by an ultrafiltration (UF) hollow fiber membrane system made of polysulfone with a porosity of 10,000 NMWC. The effect of membrane operational parameters on the efficiency of anthocyanin separation was investigated. These parameters included, the feed flow rate, feed concentration, membrane separation process time and process temperature. Increasing the feed flow rate, caused an increase of the permeate flux due to a decrease in boundary layer inside the fibers. An increase in the concentration of anthocyanins in the feed solution, increased the concentration of anthocyanins in the permeate phase of the hollow fiber system due to an increase in the driving force of separation. Higher process temperature resulted in higher permeate fluxes arising from a decrease in feed viscosity. Experiments were also performed in this research to determine the stability of anthocyanins at different conditions of temperature and pH as well as in the presence of light, oxygen and the antioxidant of ascorbic acid.

KEYWORDS : Red cabbage, Anthocyanins Extraction, Membrane Separation, Ultrafiltration hollow fibers, Stability, Food Colorants

i دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی شیمی دانشگاه تهران: Email: vali_kh@hotmail.com

ii استادیار دانشکده مهندسی شیمی، پردیس دانشکده های فنی دانشگاه تهران: Email :bmeyssami@ut.ac.ir

iii دانشیار دانشکده مهندسی شیمی، پردیس دانشکده های فنی دانشگاه تهران: Email: hfatemi@ut.ac.ir

مقدمه

رنگ از عوامل موثری است که می‌تواند کیفیت و نوع ماده غذایی را مشخص کند. با توجه به بی اعتمادی مصرف کنندگان به رنگهای مصنوعی خوراکی و تردید در سلامتی آنها، تمایل به استخراج رنگهای طبیعی خوراکی اهمیت خاصی پیدا کرده و در این میان، آنتوسیانین ها مورد توجه قرار گرفته اند.

آنتوسیانین‌ها گروه بزرگی از رنگدانه‌های محلول در آب هستند که بطور گسترده در مایع سلولهای گیاهی وجود دارند. این رنگدانه‌ها محدوده وسیعی از رنگ میوه‌ها، برگها و گلها را در بر می‌گیرند. آنتوسیانین‌ها را از مشتقات فلاونوییدی محلول در آب می‌توان برشمرد که ساختار آنها بصورت ۲-فنیل بنزوفیریلیوم می‌باشد. در طبقه بندی آنتوسیانین‌ها بیش از ۳۰۰ نوع آنتوسیانین مشخص شده است. بطور کلی آنتوسیانین‌ها دارای ساختمانی هستند که از یک قسمت غیر قندی یا اگلیکون (موسوم به آنتوسیانیدین) تشکیل گردیده‌اند. این ساختار که حالت پایه آنتوسیانین است، می‌تواند با اجزای قندی همچون گلوکز، رامنوز، گالاکتوز، زایلوز، آرابینوز و ... ترکیب شده و پیوند شیمیایی برقرار کند[۱]. منابع مختلف گیاهی دارای آنتوسیانین هستند. به عبارتی از منابع متنوعی برای تهیه آنتوسیانین‌ها می‌توان استفاده کرد ولی انتخاب منبع مورد نظر باید بر اساس بهترین شرایط اقتصادی و کیفیت رنگ انجام شود.

کلم قرمز (Red cabbage) یکی از بهترین منابع آنتوسیانین-ها می‌باشد و این رنگدانه در برگهای این ماده غذایی به وفور یافت می‌شود[۲] آنتوسیانین‌هایی که در کلم قرمز وجود دارند عبارتند از : (۱) سیانیدین۳و۵- دی گلیکوساید؛

(۲)سیانیدین-۳- دی گلیکوساید، ۵- گلیکوساید. در کلم قرمز محدوده وسیع آسیلاسیون، علت پایداری بالا و خصوصیات رنگی رنگدانه‌های موجود در این ماده می‌باشد [۱] ، [۳]. در طرح فعلی، هدف استخراج آنتوسیانین‌ها از کلم قرمز و جداسازی آنها از آب کلم قرمز توسط غشاء و بررسی شرایط عملیاتی هر کدام از این دو فرایند به ترتیب در بازده استخراج و جداسازی بوده است. این شیوه یکی از مؤثرترین روشهای فیزیکی جدا سازی آنتوسیانین‌ها با حفظ کیفیت رنگ می‌باشد. در گذشته برای استخراج آنتوسیانین‌ها از روشهای حرارتی استفاده می‌شد ولی چون آنچه بوسیله این روشها استخراج می‌شد بیشتر ناپایدار بوده و قابلیت بالایی برای اکسید شدن در طی فرایند داشتند، در نتیجه روشهای غشایی و استفاده از سیستم‌های فیلتراسیون جایگزین آنها شدند[٤] . به طور کلی باید توجه شود که آنتوسیانین ها علاوه بر توانایی در ایجاد رنگ، قادر به ارایه ویژگی های مطلوب دیگری نیز مانند خواص آنتی اکسیدانی، ضدمیکروبی و مقابله با عوارض قلبی و عروقی می‌باشند؛ اگر چه تحت شرایطی می‌توان میزان استخراج را همراه با شدت رنگ بیشتر افزایش داد ولی خواص دیگر آن ها ممکن است کاهش یابد[٥] .

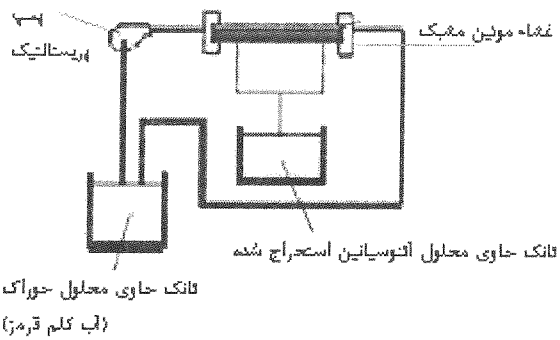
مواد و روشها

۱- مرحلهٔ استخراج آنتوسیانین‌ها

مرحلهٔ استخراج آنتوسیانین ها عبارت است از فراوری محلولی که شامل رنگدانه‌ها و سایر ترکیبات حاصل از بافتهای گیاهی کلم قرمز است. ساده‌ترین روش بهینهٔ استخراج رنگدانه‌های آنتوسیانین، روش استخراج آبی است. در این مرحله با استفاده از حلال مورد نظر، آنتوسیانین ها و سایر مواد جامد از کلم قرمز فراوری گردید[٦]، [٤] . فرایند استخراج بصورت ناپیوسته (batch) انجام گرفت و برای این منظور ابتدا برگ کلم با استفاده از یک دستگاه آسیاب یا خرد کننده به اندازه حدود ۲ میلیمتر خرد شد. سپس مقدار مشخصی از قطعات خرد شده را بوسیله ترازوی دیجیتالی وزن کرده و در حجم ۲۵۰ میلی لیتر از محلول متانول اسیدی (۷۰ در صد حجمی آب) با درصدهای مختلف اسید کلریدریک (یک نرمال) شامل ٪۰، ٪۰/۲۵، ٪۰/۵، .... قرار داده شدند[۷]، [٦] زمان ماند مورد نظر حدود ۲/۵ ساعت بود که پس از طی این زمان، محلول حاصل را بوسیله کاغذ صافی، از مواد جامد معلق، جدا نموده تا برای مرحلهٔ بعدی (جداسازی آنتوسیانین ها) از آن استفاده شود. آزمایش های مرحلهٔ استخراج در دمای C ° ٥٠ و با استفاده از یک حمام آب گرم انجام گرفت.

۲- مرحلهٔ جدا سازی غشایی آنتوسیانین‌ها

سیستم مورد نظر شامل مخزن های خوراک و جریان نفوذ کرده از غشاء، پمپ پریستالتیک و غشاء اولترافیلتراسیون بود (شکل ۱).



شکل (۱): نمایی از سیستم مورد استفاده در مرحله جدا سازی

در این سیستم، محلولهای حاصل از مرحله استخراج به عنوان جریان خوراک از درون سیستم غشایی عبورمی‌کنند. در سیستم موردنظر که یک فرایند نیمه پیوسته بود از غشاهایی از جنس پلی سولفون با قطر، طول، سطح کل غشاء وتخلخلی به ترتیب برابر با ۰/۳۲ cm، ۳۰/۸ cm، ۱۶ cm^2 و NMWC ۱۰۰۰۰ (تهیه شده از شرکت Thechnology/USA A/G) استفاده شد. این غشاء ها بصورت فیبرهای موبین در کارتریج استوانه ای شیشه ای در قرار داشتند و فیبرها از نوع فیبر موبین مشبک اولترافیلتراسیون بودند.

خوراک حاوی آنتوسیانین ها از طریق لوله‌هایی با فشار ایجاد شده توسط پمپ پریستالتیک (VWR Scienttific ۵۴۸۵-۰۷۵) با دبی مشخصی به ورودی غشاء متصل شده و پس از عبور از آن از سمت دیگر خارج شده و دوباره وارد مخزن خوراک می‌شود و بدین ترتیب این جریان ادامه یافته تا پس از مدت معینی با گذشت زمان، محلولی که از غشاء عبور کرده یعنی فاز نفوذ کرده (permeate) دارای مقدار زیادی از آنتوسیانین ها می‌شود.

۳- بررسی تاثیر عوامل مختلف بر پایداری آنتوسیانین‌های جدا شده

تاثیر تغییرات دما، pH (توسط افزودن سود یا اسید کلریدریک)، نور و اکسیژن (هوا). آنتوسیانین های بدست آمده از کلم قرمز و برگشت پذیری رنگ آن ها در آزمایش های بعدی مورد بررسی قرار گرفتند. اثر وجود اسید اسکوربیک در افزایش پایداری آنتوسیانین ها در برابر نور واکسیژن نیز در آزمایش های نهایی مورد بررسی قرار گرفت.

٤- آنالیز رنگ سنجی نمونه‌ها

از میان چندین روش برای تعیین مقدار آنتوسیانین های موجود در محلولها متداولترین آنها استفاده از روش اختلاف مقدار pH (pH-differential method) ؛ توسط اندازه‌گیری اسپکتروفوتومتری است. این روش نخستین بار توسط Fuleki و Francis در سال ۱۹٦۸ بکار برده شد [۸]، [۷] . در این روش برای تعیین مقدار آنتوسیانین موجود در محلول لازم است تا میزان جذب در طول موجهای ٤۲۰، ۷۰۰ نانومتر و λ_{max} اندازه‌گیری شود. λ_{max} حداکثر مقدار جذب در محدودهٔ ۵۵۰-٤۵۰ نانومتر می‌باشد. همچنین طبق اختلاف pH، باید از دو محلول بافر استفاده شود به نحوی که pH یکی از آنها برابر با یک و محلول دیگر برابر با ٤/۵ است.

میزان جذب نمونه رقیق شده (A) بوسیله فرمول رابطه (۱) محاسبه می‌شود:

$$A= (A_{vis\text{-}max}-A_{700})_{pH=1.0}-(A_{\lambda vis\text{-}max}-A_{700})_{pH=4.5} \qquad (۱)$$

مقدار آنتوسیانین‌های موجود در محلول بصورت زیر تعیین می‌شود:

$$Acn=\frac{A\times M.W.\times D.F.\times 1000}{\varepsilon} \qquad (۲)$$

Acn = مقدار رنگدانه‌های آنتوسیانین موجود در محلول برحسب میلیگرم در لیتر

A = مقدار جذب نمونه رقیق شده طبق فرمول (۱)

M.W. = وزن مولکولی متوسط آنتوسیانین در محلولهای مورد نظر که معادل با ٤٤۹/۲ می‌باشد.

D . F. = ضریب رقیق سازی نمونه‌ها

ε = ضریب جذب برای آنتوسیانین‌ها در حلالهای اسیدی که معادل ۲٦۹۰۰ می‌باشد.

در ادامه میزان دانسیتهٔ رنگ را با استفاده از رابطه (۳) محاسبه می‌نمائیم:

$$\text{Color Density} = (A_{420}+A_{\lambda vis-\max})\times D.F. \qquad (۳)$$

در فرمول بالا، از مقادیر جذب حاصل از محلول بافر pH=۱/۰ استفاده می‌شود.دانسیتهٔ رنگ می‌تواند مبنایی برای تعیین میزان کیفیت رنگ محلول باشد [۹]، [۸]، [۷] .

دستگاه مورد استفاده جهت آنالیز رنگ سنجی نمونه‌ها، دستگاه اسپکتروفوتومتر از نوع (UV/Visible) ؛ مدل ٤۰۵۰ UK(LKB) بود. برای محاسبه فاکتور رقیق سازی نمونه ها، رقیق‌سازی تا زمانی انجام گرفت که جذب نمونه مورد نظر در طول موج ماکزیمم $\lambda_{vis\text{-}max}$ در محدودهٔ خطی دستگاه اسپکتروفوتومتر قرار گیرد. در نهایت حجم نهایی نمونه را بر حجم اولیه تقسیم کرده تا ضریب رقیق سازی حاصل شود که برای نمونه ها عدد ۲۰ محاسبه گردید، بدین ترتیب حدود ۵ سی

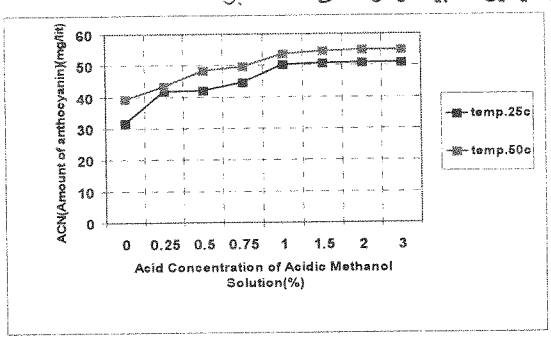
سی از نمونه مورد نظر انتخاب و بوسیله محلول بافر به حجم ۱۰۰ سی‌سی رسانده شد. در هر مرحله دو نمونه با استفاده از محلول های بافر کلرید پتاسیم (KCl)، با pH=۱/۰ و استات سدیم ($CH_3CO_2Na.3H_2O$) با pH=٤/٥، تهیه گردید. برای صاف کردن نمونه ها از کاغذ صافی (Whatman No.1) استفاده شد.

بحث و نتایج

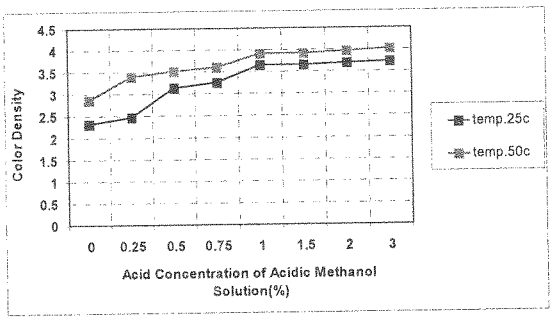
۱- مرحله استخراج آنتوسیانین ها

الف- تاثیر اسیدیته حلال: در این مرحله با استفاده از حلالهای مختلف، میزان جذب در طول موجهای متفاوت اندازه‌گیری شده است.این آزمایش در دماهای ۲۵°C و ۵۰°C ، انجام شد. همانطور که در شکلهای (۲) و (۳) دیده می‌شود، میزان آنتوسیانین استخراج شده با افزایش اسیدیته حلال افزایش می‌یابد. نتایج نشان می‌دهند که بهترین بازده با اسیدیته حدود یک درصد حاصل می‌شود و درصدهای بالاتر اسیدیته تقریبا اثری در میزان استخراج نخواهد داشت . از طرفی pH بهینه برای محلولهای اسیدی نیز در محلول یک در صد اسید کلریدریک و با مقدار pH، ۳،۲ حاصل می‌شود. همچنین با استفاده از دانسیته رنگ، می‌توان میزان آنتوسیانین موجود در محلول را تخمین زد.

ب- تاثیر زمان ماند قطعات جامد در حلال و دمای فرایند: در این آزمایش ها از حلال یک در صد اسید کلریدریک استفاده شد، و در هر ۳۰ دقیقه ، نمونه‌هایی جهت آنالیز تهیه شد. آزمایش مورد نظر در دمای محیط(۲۵ °C) و ۵۰ °C، انجام شد. با گذشت زمان، میزان آنتوسیانین استخراج شده، افزایش می‌یابد، اما با گذشت زمان روند افزایش سرعت کاهش می‌یابد. همچنین مقدار دانسیته رنگ با گذشت زمان افزایش می‌یابد و این نشان از افزایش غلظت آنتوسیانین در محلول و بر حسب آن افزایش رنگ محلول دارد. در دمای ۵۰ °C میزان استخراج آنتوسیانین ها بیشتر از دمای ۲۵ °C بود.



شکل (۲): تاثیر اسیدیتهٔ حلال استخراج کننده بر میزان استخراج آنتوسیانین ها در دماهای ۲۵ °C و ۵۰ °C (مدت استخراج ۲/۵ ساعت)



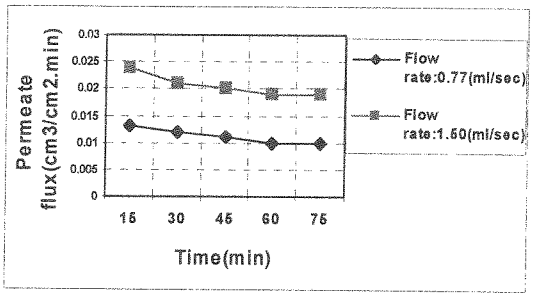
شکل (۳): تاثیر اسیدیتهٔ حلال استخراج کننده بر میزان دانسیتهٔ رنگ در در دماهای ۲۵ °C و ۵۰ °C (مدت استخراج ۲/۵ ساعت)

۲- مرحله جداسازی آنتوسیانین‌ها

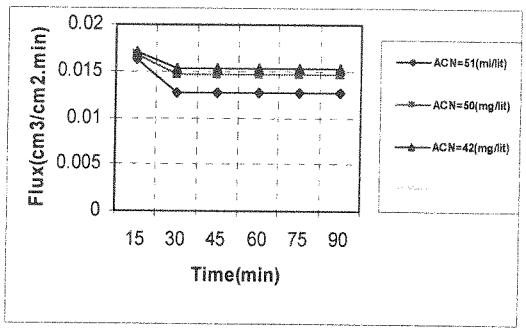
الف- تاثیر شار عبوری خوراک بر شار فاز نفوذ کرده: با توجه به استفاده از پمپ پریستالتیک که دبی‌های آن متغیر بوده، شار عبوری در محدودهٔ ۰/۷۷ تا ۱/۵ میلی لیتر در ثانیه قابل تغییر بود. نتایج حاصل درشکل (٤) آورده شده است.با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده می‌گردد که حجم عبوری با افزایش دبی پمپ از۱۲ به ۲۲ میلی لیتر افزایش یافته است که این امر دلالت بر کاهش ضخامت لایهٔ مرزی ساکن در جدارهٔ داخلی فیبرهای مویین و افزایش فشار عملیاتی دارد. در حقیقت با افزایش شار عبوری از فیبر مویین ضخامت این لایه کاهش یافته و مقاومت ناشی از آن در برابر انتقال جرم کم می شودو در نتیجه میزان حجم عبوری فاز نفوذ کرده از غشاء افزایش یافته و پیرو آن شار فاز نفوذی نیز افزایش می‌یابد.

ب- تاثیر غلظت اولیهٔ خوراک بر میزان غلظت آنتوسیانین ها: در این آزمایش از سه محلول حاصل از مرحله استخراج با غلظتهای ۰/۵، ۱ و ۲ درصد اسید کلریدریک که به ترتیب غلظت آنتوسیانین موجود در آنها ٤٢/١١, ٥٠/٣٣ ، ٥٠/٩٦ میلی گرم در لیتر می‌باشد استفاده شد. هریک از محلولهای مورد نظر به مدت ۹۰ دقیقه با دبی ۱/۵ میلی لیتر در ثانیه از غشاء فیبر مویین عبور داده شد. نتایج حاصل از این آزمایش درشکل (٤) نشان داده شده است. طبق این نتایج بلافاصله پس از ۳۰ دقیقه میزان شار عبوری به ترتیب برای محلولهای ۰/۵، ۱و۲ درصد اسید کلریدریک، از مقادیر ۰/۰۱۷۰، ۰/۰۱٦۷، ۰/۰۱٦۳ به مقادیر ۰/۰۱۵۳ ، ۰/۰۱٤۷ ، ۰/۰۱۲۷ کاهش می‌یابد. دلیل این امر بسته شدن غشاء در اثر پدیده جرم گرفتگی غشاء (Fouling) می‌باشد که در یک حد ثابت بعد از فرایند ۳۰ دقیقه باقی می‌ماند. شکلهای (۵) ، (٦) ،(۷) و(۸) آنالیز نمونه های فاز نفوذ کرده را نشان می‌دهند. مطابق این نتایج با افزایش غلظت اولیه خوراک میزان غلظت آنتوسیانین در فاز نفوذ کرده افزایش می‌یابد که دلیل این امر افزایش نیروی محرکه (اختلاف غلظت) در غشاء فیبر مویین می‌باشد. به عبارتی هرچه میزان خوراک مورد نظر از غلظت

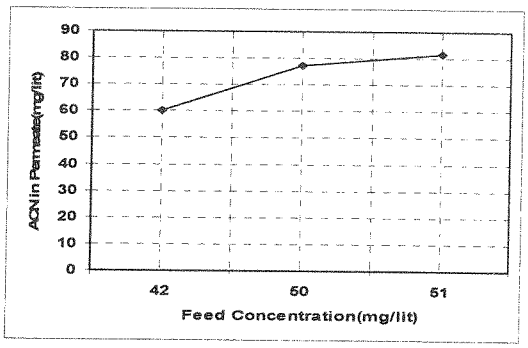
بالاتری برخوردار باشد میزان غلظت آنتوسیانین و دانسیته رنگ در فاز نفوذ کرده افزایش می‌یابند.



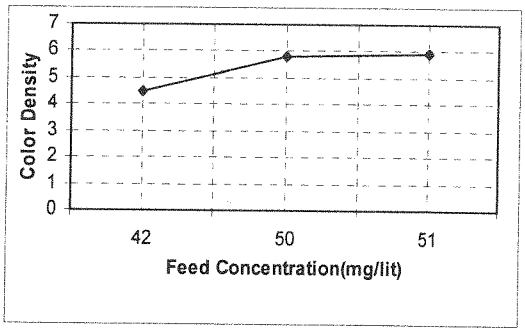
شکل (۴): تاثیر دبی خوراک عبوری از درون فیبرهای موبین بر میزان شار فاز نفوذ کرده حاوی آنتوسیانین های استخراج شده از کلم قرمز (دبی خوراک ۱/۵ ml/sec)



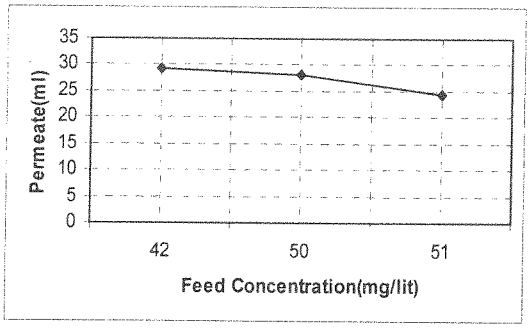
شکل(۵): تاثیر غلظت اولیه خوراک بر میزان شار فاز نفوذ کرده



شکل(۶): تاثیرغلظت اولیه خوراک بر میزان غلظت آنتوسیانین در فاز نفوذ کرده (دبی خوراک ۱/۵ ml/sec)

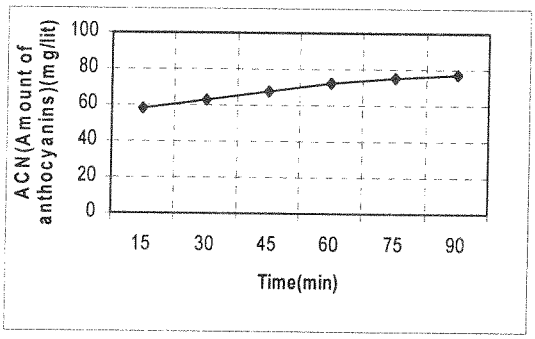


شکل (۷): تأثیر غلظت اولیه خوراک بر میزان دانسیته رنگ فاز نفوذ کرده (دبی خوراک ۱/۵ ml/sec)

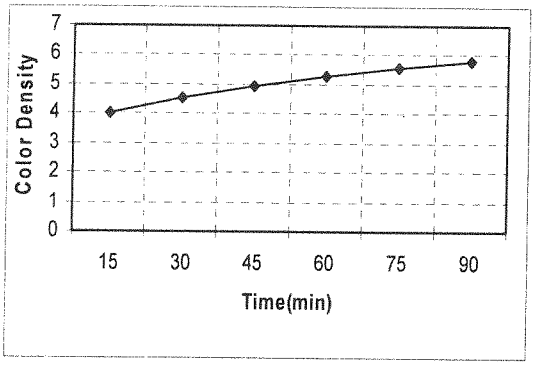


شکل (۸): تأثیر غلظت اولیه خوراک بر حجم فاز نفوذ کرده (دبی خوراک ۱/۵ ml/sec)

ج- تاثیر زمان گردش فاز خوراک بر غلظت فاز نفوذ کرده: نتایج اثر زمان گردش خوراک که با غلظت یک درصد اسید و با دبی ۱/۵ میلی لیتر در ثانیه توسط پمپ پریستالتیک از غشاء عبور داده می‌شد، در شکلهای (۹) و (۱۰) نشان داده شده است. طبق این نتایج، با گذشت زمان میزان غلظت آنتوسیانین در فاز نفوذ کرده افزایش یافته از طرفی آهنگ این افزایش در زمانهای اولیه بالا بوده و با گذشت زمان کاهش می‌یابد. همچنین این تاثیر با توجه به دانسیتهٔ رنگ قابل ارزیابی بود. بدین صورت که در ابتدا مقدار دانسیتهٔ رنگ زودتر افزایش می‌یابد.

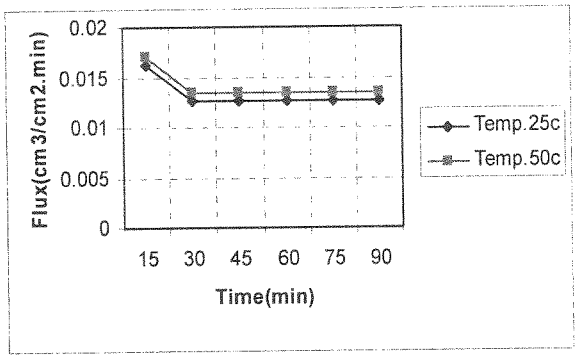


شکل(۹): تأثیرزمان گردش فاز خوراک در فیبرهای موبین بر میزان رنگ فاز نفوذ کرده (دبی خوراک ۱/۵ ml/sec)



شکل(۱۰): تأثیرزمان گردش فاز خوراک در فیبرهای موبین بر میزان دانسیته غلظت آنتوسیانین در فاز نفوذ کرده (دبی خوراک ۱/۵ ml/sec)

د- تاثیر دمای خوراک بر جداسازی غشایی: نتایج حاصل از این آزمایش در شکل (۱۱) ارایه شده است. طبق این نتایج با افزایش دما میزان شار عبوری افزایش پیدا می‌کند. دلیل این امر می‌تواند به علت کاهش ویسکوزیتهٔ خوراک در دمای بالاتر باشد و بر همین اساس محلول آسان تر از غشاء عبور می نماید. از نظر پایداری غشاء باید گفت که دما و همچنین pH اسیدی محلولهای مورد استفاده در این بررسی هیچ اثر مخربی بر غشاء ندارد.

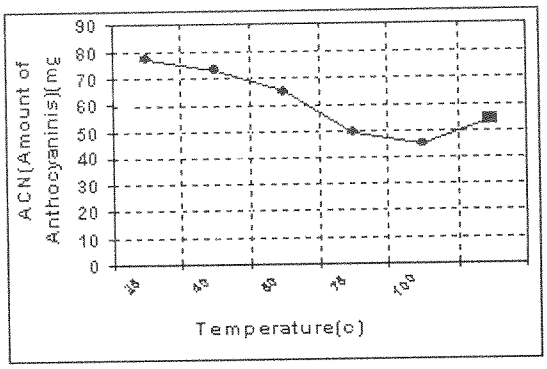


شکل(۱۱): تأثیر دمای خوراک عبوری از فیبرهای مویین بر شار فاز نفوذ کرده

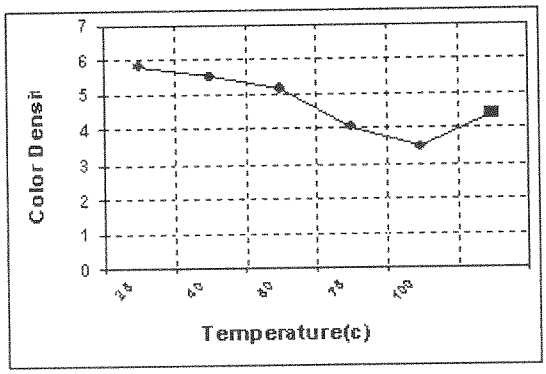
۳- مرحلهٔ بررسی تاثیر پارامترهای مختلف بر پایداری آنتوسیانین

با توجه به حساسیت آنتوسیانین ها در برابر عوامل محیطی، در این بررسی اثر عوامل یاد شده [۱۲] ، [۱۱] ، [۱۰] نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

الف- تاثیر تغییرات دما: دمای محلول آنتوسیانین های حاصل از استخراج توسط محلول یک درصد اسید کلریدریک را برای بررسی تغییرات دمایی تا ۱۰۰ ^{o}C ، افزایش داده و سپس دوباره محلول مورد نظر تا دمای محیط سرد شد. نتایج در شکلهای (۱۲) و (۱۳) آورده شد. طبق این نتایج در محدوده کمتر از ۵۰ ^{o}C کاهش غلظت آنتوسیانین چندان زیاد نیست ولی با افزایش دما تا ، ۱۰۰^{o}C ، این مقدار به شدت کاهش می‌یابد. در ادامه با برگشت دما به ۲۵ ^{o}C دوباره غلظت آنتوسیانین افزایش می‌یابد که این ناشی از بازیابی دوباره آنتوسیانین‌ها می‌باشد ولی تخریب بعضی از آنها به گونه ای بوده است که امکان بازیابی دوباره نداشته وحدود ۳۰ درصد تخریب رنگدانه آنتوسیانین در محلول مشاهده می‌شود. مطالب یاد شده با توجه به مقدار دانستیه رنگ مشهود بود بدین صورت که در دمای پایین‌تر از ۵۰ ^{o}C مقدار دانستیه رنگ حدود ۵ بود ولی با افزایش دما این مقدار به شدت کاهش یافت.

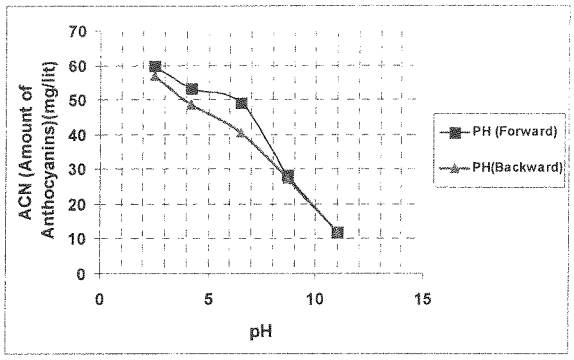


شکل(۱۲): تأثیر تغییرات دمایی بر پایداری آنتوسیانین ها بر حسب میزان غلظت آنها در محلول. علامت مربع نشان دهنده افزایش رنگ در اثر سرد شدن تا ۲۵ ^{0}C است.

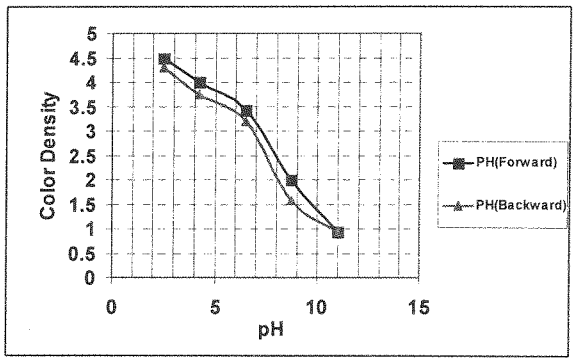


شکل(۱۳): تأثیر تغییرات دمایی بر پایداری آنتوسیانین ها بر حسب دانسیتهٔ رنگ محلول. علامت مربع نشان دهنده افزایش رنگ در اثر سرد شدن تا ۲۵ ^{0}C است.

ب- تاثیر تغییرات pH: همان طور که اشاره شده بود آنتوسیانین‌ها نسبت به تغییراتpH مقاومت بسیار کمی دارند ولی با توجه به ساختار خود قابلیت برگشت پذیری خوبی نسبت به تغییرات pH از خود نشان می‌دهند. محلول اولیه آنتوسیانین ها دارای pH = ۲/۵ بود که با افزایش pH و سپس برگشت به pH اولیه مشاهده شد که محلول دوباره به رنگ اولیه خود باز می‌گردد. نتایج حاصل از این آزمایش در شکلهای (۱٤) و (۱۵) نشان داده شده است. بیشترین تغییرات در غلظت یا ساختار آنتوسیانین در محدوده pH بالاتر از ٦ می‌باشد. در این مقادیر pH ، غلظت آنتوسیانین و دانستیه رنگ به شدت کاهش می‌یابد. ولی با کاهش pH ،مقدار آنتوسیانین ها افزایش می‌یابد و دوباره به مقادیر اولیه خود باز می‌گردد. این قابلیت خوب برگشت پذیری آنتوسیانین‌های کلم قرمز را نسبت به تغییرات pH، نشان می‌دهد.



شکل(۱۴): تأثیر تغییرات pH بر پایداری آنتوسیانین ها بر حسب میزان غلظت آنها در محلول



شکل(۱۵): تأثیر تغییرات pH بر پایداری آنتوسیانین ها بر حسب دانسیته رنگ محلول آنها

ج- تاثیر نور و هوا: پس از آنالیز نمونه ها و تعیین میزان جذب در طول موجهای مورد نظر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، مشخص شد که حدود ۵۲ درصد از غلظت آنتوسیانین موجود در محلولی که در مجاورت نور و هوا بوده، کاسته شده بود در صورتی که در نمونه‌ای که دور از نور و هوا قرار داشته هیچ گونه کاهش غلظتی مشاهده نگردید.

د- تاثیر حضور اسید اسکوربیک: همان طور که پیشتر اشاره شد اسید اسکوربیک به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل نموده و باعث کاهش اثر تخریبی اکسیژن بر روی آنتوسیانین‌ها می‌شود. در این آزمایش حدود ٦ میلی لیتر اسید اسکوربیک ۰/۱ مولار، به حدود ۱۰ میلی لیتر از فاز نفوذ کرده اضافه گردید و به مدت ٤٨ ساعت در مجاورت نور و هوا قرار داده شد. آنالیز نمونه ها مشخص کرد که تنها ۱۲ درصد از میزان غلظت اولیه آنتوسیانین کاسته شده است. درحقیقت با حضور این اسید از تخریب ٤۰ درصد آنتوسیانین موجود در محلول جلوگیری به عمل آمده است.

نتیجه‌گیری کلی

در آزمایش های استخراج آنتوسیانین ها از کلم قرمز، بهترین نتیجه از حلال با غلظت یک درصد اسید کلریدریک حاصل شد، چون در این حالت بیشترین مقدار آنتوسیانین و دانسیتهٔ رنگ بدست آمد و در میزان درصدهای بالاتر مقادیر بدست آمده ، تغییر عمده ای نشان نداد. با افزایش دمای استخراج تا حد ^{o}C ۵۰ که امکان تخریب رنگدانه وجود ندارد، میزان غلظت آنتوسیانین های کلم قرمز در فرایند استخراج افزایش می‌یابد. حداکثر درصد بهینه استخراج آنتوسیانین از کلم قرمز در آزمایش ها با توجه به محتوای آن به میزان ٥٣/٦٤ درصد بود.

در فرایند جداسازی غشایی در مقیاس اولترافیلتراسیون، با افزایش دبی خوراک عبوری از درون فیبرهای مویین مشبک میزان شار عبوری فاز نفوذ کرده افزایش یافت . طبق نتایج حاصل، افزایش میزان غلظت فاز خوراک باعث افزایش غلظت فاز نفوذ کرده شد که می‌تواند ناشی از افزایش نیروی محرکه جداسازی در فرایند غشایی مزبور باشد. این رابطه خطی نیست، از آن جهت که هر چه غلظت فاز خوراک افزایش یابد، به زمان بیشتری برای ایجاد تعادل در دو طرف جداره غشاء نیاز است که بر حسب آن. سرعت ایجاد تعادل کاهش می‌یابد. در فرایند جداسازی غشایی، میزان غلظت آنتوسیانین و دانسیتهٔ رنگ محلول بصورت خطی تا مقدار معینی، افزایش می‌یابد که می‌تواند ناشی از سازوکار جداسازی غشایی که بر اساس نفوذ همراه با انتشار به داخل غشاء است، باشد. همچنین در فرایند جداسازی غشایی، افزایش دما تا ۵۰ درجه سانتیگراد باعث افزایش شار عبوری فاز نفوذ کرده می‌شود که می‌تواند ناشی از کاهش ویسکوزیته فاز خوراک باشد.

در بررسی های تاثیر پارامترها بر پایداری آنتوسیانین ها می‌توان گفت که آنتوسیانین‌ها نسبت به تغییرات دمایی از خود مقاومت نشان می‌دهند و با وجود تخریب در دماهای بالاتر از ۵۰ درجه سانتیگراد، قدری دوباره با بازگشت به دمای اولیه، غلظت و دانسیتهٔ رنگ محلولها بازیابی می‌شود. آنتوسیانین‌ها نسبت به تغییرات pH مقاومت بسیار کمی دارند ولی با توجه به ساختار خود قابلیت برگشت پذیری خوبی نسبت به تغییرات pH از خود نشان می‌دهند. حضور اسید اسکوربیک به منزله یک آنتی اکسیدان در محلول به میزان زیادی از نابودی آنتوسیانین ها جلوگیری می‌کند.

مراجع

[۱] Belitz H.D., Grosch W., Schieberle P.; Food Chemistry, 3rd Edition, Springer Verlag, 2004.

[۲] Mazza G., Miniat E.; Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains; CRC Press, 1993.

[۳] Douglas B. MacDgall; Color in Food, Woodhead Publishing, 2002.

[٤] Gabriel J. Lauro, Francis F. Jack; Natural Food Colorants, Marcel Dekker Inc. , 2000.

[٥] Usaquen-Castro X., Martinez-Rubio M., Aya-Baquero H., Gonzales-Martinez G., Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from red-grape (vitis vinifera) residues, IUFOST Proc. p.p. 1315-1324, 2006.

[٦] Meyssami B. and Zourmand M.; Investigation of betalaines extraction from red beets (Betavulgaris) and their separation from red beet juice using ultrafiltration membranes, Proceedings of the Thirteenth National Iranian Congress of Food Industry, 2002.

[۷] Giusti M.M. and Wrolstad R.E.; Food Analytical Chemistry, John Wiley & Sons Inc, 2000.

[۸] Skrede G.; Visual Color Deterioration in Blackcurrant Syrup Predicted by Different Instrumental Variables, J. Fd.Sci ., vol.48 , p.p. 1745-1749, 1983.

[۹] Somers T. C.; The Polymeric Nature of Wine Pigments, Phytochem., vol.10, p.p. 2175-2179, 1971.

[۱۰] Starr M.S., Francis F.J.; Oxygen and ascorbic acid effect on the relative stability of four anthocyanins pigments in cranberry juice, Fd Tech. Vol. 22, p.p. 1293-1295, 1968.

[۱۱] Sweeny J.G., Wilkinson M.M., Iacobucci G.A.; Effect of flavonoid sulfonates on the pohotobleeching of anthocyanins in acid solution, J. Agric. Food Chem. Vol. 29, p.p. 563-567, 1981.

[۱۲] Spayd S.E.; Color Stability of Apple and Pear Juices Blended with Fruit Juices Containing Anthocyanins, J. Fd. Sci., vol.49, p.p. 411-414, 1984.