

کاربرد رس سیپولیت ایرانی در شفاف‌سازی آب‌سیب: تغییرات خصوصیات کیفی طی فرایند

مرضیه میرزاآقایی¹ - سید امیر حسین گلی^{2*} - میلاد فتحی²

تاریخ دریافت: 1394/10/27

تاریخ پذیرش: 1395/02/04

چکیده

در این تحقیق برای اولین بار، عملکرد رس سیپولیت فعال شده با اسید در شفاف‌سازی آب‌سیب مورد بررسی قرار گرفت. از روش آماری سطح پاسخ جهت یافتن شرایط بهینه فرایند شفاف‌سازی استفاده شد و میزان کدورت آب‌سیب به‌عنوان پاسخ در نظر گرفته شد. سپس در شرایط بهینه، کارایی سیپولیت، بنتونیت و ترکیب این عوامل شفاف‌کننده با ژلاتین و کیزل‌ژل جهت شفاف‌سازی آب‌سیب مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش غلظت رس سیپولیت از 0/1 به 0/05 درصد وزنی/حجمی، سبب افزایش کدورت آب‌سیب شد. در دو دمای 50 و 60 درجه سانتی‌گراد، بیشترین میزان کاهش کدورت مشاهده شد و با افزایش زمان فرایند تا 7 ساعت، میزان کدورت به‌صورت منحنی درجه دوم کاهش یافت. شرایط بهینه شفاف‌سازی، غلظت رس 0/05 درصد، دمای 50 درجه سانتی‌گراد و زمان 7 ساعت بدست آمد. نتایج نشان داد که دو تیمار ترکیب سیپولیت - ژلاتین - کیزل‌ژل و بنتونیت - ژلاتین - کیزل‌ژل فعال‌ترین عوامل شفاف‌کننده هستند و قادرند کدورت آب‌سیب را به میزان 99/7 درصد کاهش دهند. مطالعات کینتیکی نشان داد که سرعت تغییرات در کدورت، ویسکوزیته، میزان ترکیبات فنولیک کل و رنگ طی زمان شفاف‌سازی به ترتیب از مدل‌های کینتیکی درجه یک، صفر، یک و صفر تبعیت می‌کنند.

واژه‌های کلیدی: آب‌سیب، بنتونیت، سیپولیت، شفاف‌سازی، فعال‌سازی، کینتیک

مقدمه

کدورت، طعم و رنگ نامطلوب در آب‌میوه طی نگهداری شوند (Mirsaeedghazi *et al.*, 2010; Onsekizoglu, 2013; Vardin *et al.*, 2003) بنابراین کاهش میزان این ترکیبات در آب‌سیب جهت بهبود ظاهر و افزایش بازارپسندی و مقبولیت محصول ضروری است (Gökmen *et al.*, 2002; Ceci *et al.*, 1998). شفاف‌سازی یک مرحله مهم در فرایند تولید تجاری آب‌میوه است که ترکیبات پکتیکی، پلی‌فنول‌ها و سایر مواد نامطلوب موجود در آب‌میوه را حذف می‌کند و بنابراین از تشکیل کدورت در محصول طی مدت زمان انبارداری جلوگیری می‌نماید (Tastan *et al.*, 2015; Chatterjee *et al.*, 2004). مواد پکتیکی می‌توانند با استفاده از روش شفاف‌سازی آنزیمی (پکتین‌زدایی) از آب‌سیب حذف گردند. آنزیم پکتیناز می‌تواند پکتین را هیدرولیز نموده و کمپلکس‌های پکتین - پروتئین تولید کند که به‌راحتی در محصول ته‌نشین می‌شوند. در مرحله پکتین‌زدایی می‌توان با افزودن آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته مانند آمیلاز و آمیلوگلوکوزیداز نشاسته موجود در آب‌سیب را نیز هیدرولیز نمود (Gökmen *et al.*, 2007; Tajchakavit *et al.*, 2001). در صنعت آب‌میوه جهت شفاف‌سازی از عوامل

امروزه پس از آب، مصرف آب‌میوه از جایگاه ویژه‌ای در بین جوامع برخوردار است. آب‌میوه‌ها به دلیل دارا بودن مقادیر زیادی از ویتامین‌ها، املاح و ترکیبات فنولیک به‌عنوان یکی از منابع تغذیه‌ای غنی شناخته می‌شوند. آب‌میوه ممکن است به دو صورت کدر و یا شفاف تولید گردد که معمولاً آب‌میوه‌هایی همچون آب سیب، انار، انگور، گیلاس، آناناس، هویج و ... به‌صورت شفاف به بازار عرضه می‌شوند. آب‌سیب تازه از نظر طعم، رنگ و بو ناپایدار است. مواد پکتیکی و ترکیبات فنولیک مسئول ایجاد این تغییرات فیزیکی‌وشیمیایی طی فرایند تغلیظ و تهیه کنسانتره و همچنین نگهداری آب‌سیب هستند، این ترکیبات می‌توانند از طریق پلیمریزاسیون اولیه و تجمع یافتن که منجر به تشکیل کمپلکس‌های پلیمری بین قندها، پلی‌ساکاریدها، یون‌های فلزی و پروتئین‌ها می‌شود، موجب ایجاد

1 و 2- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

(* - نویسنده مسئول: Email: amirgoli@cc.iut.ac.ir)

بلوم⁴ (100-80)، بنتونیت و آنزیم‌های آمیلاز و پکتیناز از کارخانه پهنوش ایران واقع در شهرکرد تهیه شد. نمونه سپیولیت از شرکت دانش‌بنیان فراپویان ایساتیس یزد واقع در استان یزد خریداری شد. کیزل ژل و سایر مواد و محلول‌های شیمیایی از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

جدول 1- برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب‌سیب مورد استفاده

پارامتر	مقدار
pH	3/85 ± 0
کدورت (NTU)	1646 ± 8
رنگ	
پارامتر L*	2/98 ± 0
پارامتر a*	1/11 ± 0
پارامتر b*	4/12 ± 0
ویسکوزیته (cp)	3/1 ± 0/032
میزان کل ترکیبات فنولیک	
(میلی‌گرم اسید گالیک به ازای 100 میلی‌لیتر آب میوه)	44/38 ± 0/97

فعال‌سازی اسیدی سپیولیت

جهت فعال‌سازی اسیدی سپیولیت از روش Balci (1999) با تغییرات جزئی استفاده شد. 200 گرم از رس سپیولیت با 2000 میلی‌لیتر از اسید کلریدریک 1/5 مولار مخلوط شد (نسبت رس به اسید 1 به 10 بود) و این مخلوط به مدت 4 ساعت در دمای 75 درجه‌سانتی‌گراد توسط آنکوباتور شیکردار با دور 210 rpm هم‌زده شد. پس از این مرحله، اسید توسط سانتریفوژ با دور 4100 rpm و به مدت 15 دقیقه از سپیولیت جدا گردید. سپیولیت فعال شده چندین مرتبه با حجم‌های زیادی از آب مقطر شست‌وشو داده شد تا بقایای اسید از رس خارج شود. رس به مدت 6 ساعت در آن با دمای 110 درجه‌سانتی‌گراد خشک شد. پس از این مدت، نمونه با آسیاب خرد گردید و از الک با مش 235 (61/75 میکرومتر) عبور داده شد.

آنالیز سپیولیت طبیعی و فعال شده

pH، اسیدیته، دانسیته و میزان رطوبت رس سپیولیت، مطابق با روش Sabah و Çelik (2005) اندازه‌گیری شد. سطح ویژه به روش BET توسط دستگاه Belsorp mini II (BelJapan، ژاپن) اندازه‌گیری شد. در این آزمایش از روش جذب و واجذب نیتروژن توسط سطح ماده در دمای ثابت نیتروژن مایع (77 درجه کلوین) استفاده شد (Ünal et al., 1998). عناصر سازنده رس قبل و بعد از فعال‌سازی به روش XRF به‌وسیله دستگاه XRF (فیلیپس،

شفاف‌کننده‌ای مانند بنتونیت¹، ژلاتین، کربن‌فعال، سیلیکاسل² و یا ترکیبی از این عوامل استفاده می‌شود (Tastan et al., 2015; Chatterjee et al., 2004). گسترده‌ترین ماده جاذب مورد استفاده جهت شفاف‌سازی آب میوه بنتونیت می‌باشد، زیرا دارای قدرت جذب زیاد و قیمت نسبتاً کمی است. Gao و همکاران (1997) و Tajchakavit و همکاران (2001) گزارش کردند که کدورت آب‌سیب به ترتیب با استفاده از بنتونیت و ترکیب بنتونیت و ژلاتین به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. Lee و همکاران (2007) از بنتونیت و ترکیب ژلاتین و بنتونیت برای شفاف‌سازی آب‌موز استفاده کردند. نتایج تحقیق آن‌ها کاهش معنی‌داری (p<0.001) در کدورت آب‌موز نشان داد.

سپیولیت³ یک رس طبیعی فیروز با فرمول کلی $Mg_8Si_{12}O_{30}(OH)_4(OH_2)_4.nH_2O$ (n=6-8) (Miura et al., 2012; Sabah et al., 2002) است. معادن این رس برای اولین بار در ایران در سال 1389 کشف و مورد استخراج قرار گرفته است. این رس به دلیل خصوصیات ساختاری و مورفولوژیکی خود دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاصی مانند تخلخل، سطح ویژه و قابلیت جذب بالایی است (Alan et al., 2014; Suárez et al., 2012). به نظر می‌رسد که رس سپیولیت به دلیل سطح فعال زیاد و ساختار نسبتاً مشابه با بنتونیت، بتواند به‌عنوان یک عامل جاذب در شفاف‌سازی آب‌میوه مورد استفاده قرار گیرد. در سال‌های اخیر کاربرد سپیولیت در صنایع غذایی جهت رنگبری شربت چغندر، حذف فسفر از روغن گیاهی و افزایش راندمان رنگبری روغن پالم خام گزارش شده است (Ünal et al., 1998; Sabah et al., 2009; Tian et al., 2014).

در این تحقیق برای اولین بار، از سپیولیت جهت شفاف‌سازی آب‌سیب استفاده شده است. در ابتدا از روش آماری سطح پاسخ برای بهینه‌سازی شرایط فرایند شفاف‌سازی، استفاده شد. سپس قابلیت شفاف‌سازی سپیولیت با سایر عوامل شفاف‌کننده مورد استفاده در صنعت، مقایسه شد و در نهایت سه مدل کینتیکی درجه صفر، یک و دو برای بیان نحوه تغییرات کدورت، رنگ، ویسکوزیته و میزان ترکیبات فنولیک کل موجود در آب‌سیب طی فرایند شفاف‌سازی مورد استفاده قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

آب سیب پاستوریزه شده و شفاف‌نشده (جدول 1)، ژلاتین (با عدد

1 Bentonite

2 Silica sol

3 Sepiolite

4 Bloom

جهت انجام فرایند شفاف‌سازی ابتدا یک شفاف‌سازی آزمایشی انجام شد. بدین منظور 25 میکرولیتر از هر یک از آنزیم‌های پکتیناز و آمیلاز به 100 میلی‌لیتر آب‌سیب اضافه شدند. پس از هم زدن، آب‌سیب درون انکوباتور 55 درجه‌سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار گرفت. پس از آن، سیپولیت فعال شده مخلوط شد و آب‌سیب بر حسب هریک از تیمارهای RSM در دما و زمان مشخص مطابق با جدول 2 درون انکوباتور قرار گرفت. در نهایت سیپولیت توسط سانتریفوژ با دور 12000rpm و به مدت 5 دقیقه از آب‌سیب جدا شد و کدورت آب‌سیب شفاف‌شده به وسیله دستگاه کدورت‌سنج (مارتینی، Mi 415، رومانی) اندازه‌گیری شد.

شفاف‌سازی آب‌سیب

شرایط بهینه فرایند شفاف‌سازی با استفاده از روش RSM به دست آمد. جهت شفاف‌سازی ابتدا 25 میکرولیتر از هر یک از آنزیم‌های پکتیناز و آمیلاز به 100 میلی‌لیتر آب‌سیب اضافه شد. پس از هم‌زدن درون انکوباتور 55 درجه‌سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد. سپس شفاف‌سازی در شرایط بهینه تعیین شده انجام شد. در پایان، آب‌میوه با دور 12000 دور در دقیقه و دمای 25 درجه‌سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه سانتریفوژ شد تا رس و عوامل کدورت‌زا از آن جدا شوند.

مقایسه قابلیت شفاف‌سازی سیپولیت با سایر عوامل شفاف‌کننده

به منظور مقایسه راندمان شفاف‌سازی سیپولیت با سایر عوامل شفاف‌کننده مورد استفاده در صنعت، فرایند شفاف‌سازی با استفاده از سیپولیت فعال شده (S)، بنتونیت (B) و ترکیب این عوامل با ژلاتین (G) و کیزل ژل (K) (یعنی تیمارهای S+G، B+G، S+G+K و B+G+K) در شرایط بهینه به دست آمده، انجام شد. غلظت بنتونیت، ژلاتین و کیزل ژل مصرفی در این مرحله به ترتیب 0/05، 0/015 و 0/04٪ وزنی - حجمی بود (Türkilmez et al., 2012).

الف) آنالیزهای فیزیکی و شیمیایی

- کدورت و ویسکوزیته: کدورت آب‌سیب با استفاده از دستگاه کدورت‌سنج اندازه‌گیری شد و بر حسب واحد NTU گزارش گردید (Rinaldi et al., 2013). ویسکومتر موئینه (فیشر، آمریکا) برای اندازه‌گیری میزان ویسکوزیته در دمای 20 درجه سانتی‌گراد بر حسب سانتی‌پویز (cp) به کار برده شد (Turfan et al., 2012).

- رنگ: از دستگاه رنگ‌سنج (Nippon DENSHOKU، ZE، 6000، ژاپن) مطابق با استاندارد CIELab جهت اندازه‌گیری رنگ استفاده شد. پارامترهای L^* ، a^* و b^* برای توصیف رنگ نمونه‌ها

آماده‌سازی عوامل شفاف‌کننده جهت شفاف‌سازی

توانایی شفاف‌سازی عوامل شفاف‌کننده با قابلیت تورم آن‌ها در آب، افزایش می‌یابد (Koyuncu et al., 2007). برای این منظور از روش Türkyilmaz و همکاران (2012) با تغییرات جزئی استفاده شد.

- سیپولیت و بنتونیت: 10 گرم از هر یک از پودر رس‌های بنتونیت و سیپولیت با 100 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و در دمای اتاق به مدت 6 ساعت قرار داده شد. پس از این زمان، رس سانتریفوژ شد و آب از رس جدا گردید. رس هیدراته شده تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شد.

به منظور مقایسه قابلیت شفاف‌سازی سیپولیت با سایر عوامل شفاف‌کننده، ژلاتین و کیزل ژل¹ قبل از مصرف به روش ذیل آماده‌سازی شدند:

- ژلاتین: 2 گرم از پودر ژلاتین در 100 میلی‌لیتر آب گرم 70-80 درجه سانتی‌گراد حل شد. محلول ژلاتین باید 4-5 ساعت قبل از مصرف، تهیه شود.

- کیزل ژل: 15 گرم از کیزل ژل با 100 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و بلافاصله سانتریفوژ گردید و آب از کیزل ژل هیدراته (کیزل سل) جدا شد. کیزل سل تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شد.

بهینه‌سازی شرایط فرایند شفاف‌سازی

از روش آماری سطح پاسخ² جهت بهینه‌سازی شرایط فرایند شفاف‌سازی با سیپولیت فعال شده استفاده شد. فاکتورهای مستقل مورد استفاده در سه سطح شامل موارد زیر بودند: غلظت رس سیپولیت در دامنه 0/05-0/1 درصد، دمای فرایند در دامنه 50-60 درجه سانتی‌گراد و زمان در دامنه 2-10 ساعت. کدورت آب‌سیب به عنوان فاکتور وابسته یا پاسخ در نظر گرفته شد. معادله کلی مورد استفاده در RSM به صورت معادله 1 می‌باشد.

$$y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (1)$$

در این معادلات y پاسخ پیش‌بینی شده، β_0 ضریب ثابت، β_1 و β_2 و β_3 ضریب رگرسیون برای جملات خطی، β_{11} ، β_{22} و β_{33} ضریب رگرسیون برای جملات مربع یا درجه دوم، β_{12} و β_{13} و β_{23} ضریب رگرسیون برای جملات دارای اثر متقابل است.

1 Kieselgelgel

2 Response Surface Methodology (RSM)

فواصل زمانی یک ساعته انجام شد و پس از سانتریفوژ کردن نمونه، آنالیز مورد نظر بر روی آن انجام گرفت و نتایج ثبت گردید. سرعت تغییرات به وسیله مدل‌های کینتیکی درجه صفر، یک و دو نشان داده شده در زیر، مدل‌سازی شد.

$$A=A_0 \pm kt \quad (2)$$

$$A=A_0 \times \exp(\pm kt) \quad (3)$$

$$1/A=1/A_0 \pm (kt) \quad (4)$$

در این روابط A_0 مقدار اولیه یا مقدار در زمان صفر پارامتر مورد نظر، A مقدار پارامتر در زمان مورد نظر، t زمان مورد نظر و K ثابت سرعت واکنش (که در حقیقت میزان وابستگی یا سرعت فرایند نسبت به زمان را نشان می‌دهد)، است.

استفاده شدند. L^* میزان روشنایی، a^* و $-a^*$ میزان قرمزی و سبزی و b^* و $-b^*$ میزان زردی و آبی بودن نمونه‌ها را نشان می‌دهد (Onsekizoglu, 2013).

- میزان ترکیبات فنولیک کل: میزان این ترکیبات با استفاده از معرف فولین - سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu) و بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در صد میلی‌لیتر آبسیب اندازه‌گیری گردید (Pinelo *et al.*, 2012).

ب) بررسی کینتیک تغییرات کدورت، ویسکوزیته، ترکیبات فنولیک کل و رنگ

نحوه تغییرات کدورت، ویسکوزیته، رنگ و مقدار ترکیبات فنولیک کل طی زمان شفاف‌سازی بررسی شد، بدین منظور نمونه‌گیری در

جدول 2- تیمارهای انتخابی مطابق با طرح دی‌اِپتیمال برای شفاف‌سازی آبسیب و مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده کدورت

تیمار	غلظت رس (%)	دما (°C)	زمان (h)	کدورت آبسیب (NTU) ¹	پیش‌بینی شده واقعی
1	0/05	53/59	2	32/5	33/43
2	0/05	50	10	14/04	14/86
3	0/05	50	10	15/24	14/86
4	0/05	60	7/16	15/02	14/44
5	0/05	60	2	25/10	24/71
6	0/06	50	2	25/75	25/70
7	0/07	50	5/22	13/02	11/58
8	0/07	55/97	10	27/64	26/93
9	0/07	56/25	5/07	20/28	20/33
10	0/08	53/75	2	33/69	33/79
11	0/08	60	2	21/95	21/56
12	0/08	60	2	21/66	21/56
13	0/08	60	7/42	8/40	10/90
14	0/1	50	2	29/96	30/28
15	0/1	50	2	30/28	30/28
16	0/1	50	10	17/53	17/56
17	0/1	50	10	17/12	17/56
18	0/1	55/95	5/25	21/06	20/74
19	0/1	60	10	19/53	18/02
20	0/1	60	10	17/34	18/02

¹Nephelometric Turbidity Unit

تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان 95 درصد استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها، بررسی مدل‌های کینتیکی و یافتن پارامترهای مدل توسط روش رگرسیون غیر خطی با کمک نرم‌افزار SPSS (version 20) انجام گرفت. هر آنالیز با سه تکرار انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

جهت انجام RSM، از نرم‌افزار آماری دیزاین‌اکسپرت (version 7) به منظور تجزیه واریانس، مدل‌سازی، رسم نمودارها و تعیین شرایط بهینه در قالب طرح دی-اِپتیمال برای تولید آبمیوه شفاف با کمترین میزان کدورت، استفاده گردید. به منظور مقایسه میانگین

نتایج و بحث

جدول 3 خصوصیات سیپولیت طبیعی و فعال شده با اسید را نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌گردد، سیپولیت پس از فعال‌سازی با اسید دارای افت وزنی، دانسیته ظاهری و pH کمتری نسبت به سیپولیت خنثی است، اما در مقابل رطوبت آزاد و اسیدیته بیشتری دارد. pH سیپولیت از 9/20 به 7/60 کاهش یافته که علت آن استفاده از اسید در فعال‌سازی بوده است. Sabah و Çelik (2005)، pH سیپولیت اسیدی را 5/8 و اسیدیته آن را 0/11% گزارش کرده‌اند. با

کاربرد اسید و خروج یون منیزیم از ساختار رس، حجم و تخلخل سیپولیت به دلیل باز شدن منافذ، زیاد شده و در نتیجه دانسیته آن کاهش می‌یابد. رطوبت آزاد در سیپولیت اسیدی 6/84% و در نوع خنثی 4/85% به دست آمده است. به دلیل افزایش سطح ویژه توسط فعال‌سازی اسیدی، رطوبت آزاد سیپولیت فعال شده بیشتر از نوع خنثی است. به کمک فعال‌سازی اسیدی سطح ویژه رس از 105 به 178 m²/g افزایش یافته که این افزایش به دلیل باز شدن کانال‌ها و حفره‌های داخلی و خروج برخی از یون‌ها از ساختار رس توسط فعال‌سازی با اسید است.

جدول 3- خصوصیات سیپولیت طبیعی و فعال شده

سیپولیت فعال شده	سیپولیت خنثی	آنالیز
323	364	دانسیته توده ای ظاهری (گرم بر لیتر)
6/84	4/85	رطوبت آزاد (2 ساعت در 110 °C) (%)
12/73	15/72	افت وزنی (خشک شده به مدت 2 ساعت در دمای 1000 °C) (%)
7/60	9/20	pH (سوسپانسیون 10%)
0/11	0/08	اسیدیته (%)
178	105	سطح ویژه کل (BET) (m ² /g)
0/3643	0/202	حجم کلی منافذ (cm ³ /g)
		ترکیبات شیمیایی (درصد وزنی)
51/66	45/45	SiO ₂
0/15	0/41	Al ₂ O ₃
0/08	0/12	Fe ₂ O ₃
23/45	19/27	CaO
0/02	0/05	Na ₂ O
0/03	0/02	K ₂ O
10/45	18/75	MgO
0/002	0/003	TiO ₂
0/002	0/002	MnO
0/018	0/012	P ₂ O ₅
0/25	0/002	S

بیان کردند که تیمار اسیدی سبب خروج یون Mg²⁺ از ساختار رس سیپولیت می‌شود.

برازش مدل

مدل چندجمله‌ای درجه دوم که دارای خطای عدم برازش غیرقابل توجه و R² زیاد (0/9845) بود، توسط نرم‌افزار به عنوان بهترین مدل برای توصیف شرایط بهینه فرایند شفاف‌سازی پیشنهاد گردید. جدول 4 تجزیه واریانس داده‌ها را برای مدل پیشنهادی نشان می‌دهد.

الف) اثر متغیرها بر روی پاسخ کدورت: تاثیر متغیرهای

میزان SiO₂ در سیپولیت طبیعی 45/45% و در سیپولیت فعال شده 51/66% از کل سیپولیت را تشکیل داده است (جدول 3). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که فعال‌سازی اسیدی، سبب افزایش میزان SiO₂ شده است. گزارش شده است که فعال‌سازی اسیدی سبب حذف یا خروج یون Mg²⁺ از ساختار رس و تولید تعداد زیادی گروه Si-OH (سیلانول) می‌شود که گروه‌های آزاد سیلانول قابلیت جذب مواد را دارند (Miura et al., 2012; Sabah et al., 2002). 18/75% از کل سیپولیت طبیعی را MgO تشکیل می‌دهد، در حالی که این میزان در سیپولیت فعال شده 10/45% است. این کاهش در میزان MgO با نتایج Miura و همکاران (2012) مطابقت دارد. آن‌ها

$$y = +19/5 - 3/44C - 2/09AB + 2/34BC - 9/11B^2 + 10/5C^2 \quad (4)$$

همانطور که در معادله 4 دیده می‌شود، غلظت رس به صورت اثر متقابل، دما به صورت اثر متقابل و عبارت درجه دوم و زمان به صورت عبارات درجه اول و دوم و همچنین اثر متقابل، کدورت را تحت تاثیر قرار می‌دهند.

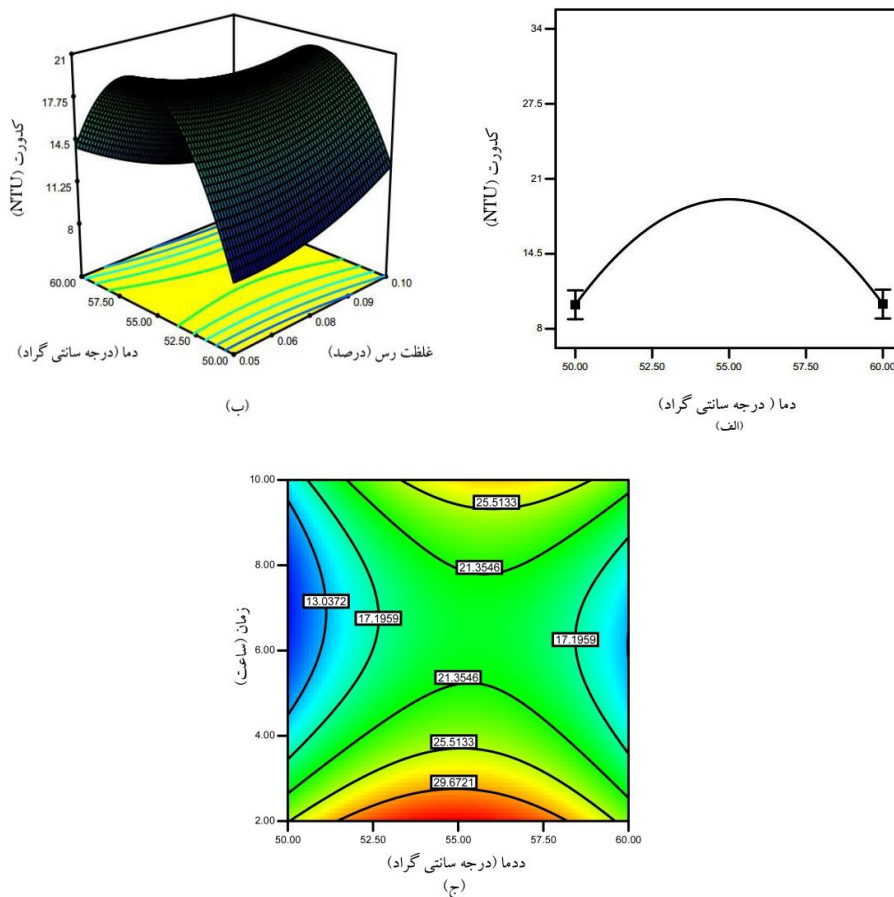
مستقل شامل غلظت رس سپیولیت (A)، دما (B) و زمان (C) فرایند بر روی پاسخ کدورت به کمک RSM بررسی شد. معنی‌داری فاکتورها در معادله کدورت توسط مقادیر $p < 0.05$ ارائه شده در جدول 4 مورد ارزیابی قرار گرفت. معادله 4 نحوه اثر فاکتورهای مستقل را بر روی میزان کدورت آب سیب نشان می‌دهد.

جدول 4. نتایج تجزیه واریانس ضرایب به دست آمده از مدل پیشنهادی

Prob > F	F value	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	ضرایب	
<0/0001	70/61	101/18	9	910/62	-	مدل
-	-	-	-	-	19/50	ضریب ثابت
0/6852	0/17	0/25	1	0/25	-0/16	درصد رس (A)
0/9581	$2/904 \times 10^{-3}$	$4/161 \times 10^{-3}$	1	$4/161 \times 10^{-3}$	-0/019	دما (B)
<0/0001	85/05	121/86	1	121/86	-3/44	زمان (C)
0/0007	22/95	32/89	1	32/89	-2/09	درصد رس × دما
0/1801	2/08	2/98	1	2/98	-0/58	درصد رس × زمان
0/0001	37/94	54/37	1	54/37	2/34	دما × زمان
0/1553	2/36	3/39	1	3/39	1/08	(درصد رس) ²
<0/0001	169/83	243/35	1	243/35	-9/11	(دما) ²
<0/0001	189/44	271/45	1	271/45	10/50	(زمان) ²
-	-	1/43	10	14/33	-	خطای باقی مانده
0/1054	3/35	2/21	5	11/03	-	خطای عدم برازش
-	-	0/66	5	3/30	-	خطای خالص
-	-	-	19	924/95	-	خطای کل

سلولزی با افزایش دما کاهش می‌یابد (Kim et al., 1992). Farmani و همکاران (2006) گزارش کردند که در تصفیه شربت نیشکر با بنتونیت، افزایش دمای فرایند سبب افزایش کدورت شربت خواهد شد. Koyuncu و همکاران (2007) بیان کردند که راندمان جذب ترکیبات سیاه‌رنگ (ترکیبات ملانوتیدین) موجود در آب‌سیب توسط بنتونیت، با افزایش دما، افزایش می‌یابد. Qiu و همکاران (2007) راندمان جذب ترکیبات سیاه‌رنگ آب‌سیب را با استفاده از رزین جذب‌کننده مطالعه کردند. نتایج تحقیقات آن‌ها نشان داد که افزایش غلظت رزین و دما، می‌تواند سبب افزایش راندمان جذب شود. با بررسی شکل 1 (ب) مشاهده می‌شود که کمترین میزان کدورت می‌تواند در غلظت کمتر از 0/09% و دمای حدود 50-51 درجه‌سانتی‌گراد و یا غلظت بیشتر از 0/08% و دمای حدود 60 درجه‌سانتی‌گراد به دست آید. اثر غلظت رس بستگی به دمای شفاف‌سازی دارد، به طوری که در دمای 55 درجه‌سانتی‌گراد غلظت رس هیچ تاثیری نداشته ولی در کمترین و بیشترین دما اثر آن بر میزان کدورت آب میوه مشاهده می‌شود.

- اثر دما: مطابق شکل 1 (الف) با افزایش دما تا حدود 55 درجه‌سانتی‌گراد، میزان کدورت به صورت منحنی درجه دوم افزایش می‌یابد و پس از آن با افزایش دما تا 60°C ، کدورت آب سیب روند نزولی خواهد داشت. بنابراین دما در دو انتهای بازه مناسب‌تر عمل کرده و می‌توان دمای 50°C را به عنوان بهترین دما انتخاب کرد. افزایش دما می‌تواند سبب افزایش انرژی جنبشی یا تحرک ذرات گردد و به این ترتیب عوامل کدورت‌زا ممکن است نتوانند در دماهای بیشتر جذب ذرات رس شوند و از طرفی ممکن است حتی عوامل جذب شده نیز به دلیل این افزایش انرژی، مجدداً از سطح ذرات رس به درون آب‌میوه رها شوند (Gökmen et al., 2002). دلیل دیگر این پدیده می‌تواند تشکیل عوامل کدورت‌زا از طریق واکنش‌های غیرآنزیمی در دماهای بیشتر باشد (Farmani et al., 2006). از طرفی با افزایش دما تا حد معینی، ویسکوزیته آب‌میوه کاهش می‌یابد، بنابراین عوامل کدورت‌زای موجود در آب‌میوه با سهولت بیشتری می‌توانند جذب عامل شفاف‌کننده شوند و به این ترتیب کدورت آب‌میوه کاهش خواهد یافت (Qiu et al., 2007). گزارش شده که جذب ترکیبات



شکل 1- تاثیر (الف) دما، (ب) اثر متقابل دما و غلظت رس، (ج) اثر متقابل دما و زمان بر روی میزان کدورت

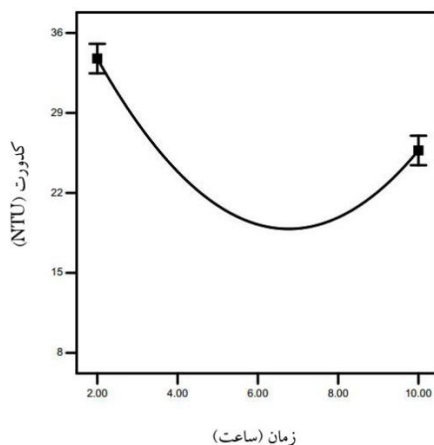
راندمان ناشی از افزایش سطح بنتونیت و در نتیجه افزایش قابلیت جذب آن است. همانطور که در شکل 1 (ج) مشاهده می‌گردد، کمترین میزان کدورت در زمان بین 9-5 ساعت و دمای حدود 50 یا 60 درجه سانتی‌گراد بدست می‌آید.

- اثر زمان: اثر زمان بر روی میزان کدورت آب‌سیب در شکل 2 نشان داده شده است. با افزایش زمان تا 7 ساعت، میزان کدورت به صورت منحنی درجه دوم کاهش می‌یابد و پس از آن با افزایش مدت زمان شفاف‌سازی تا 10 ساعت، کدورت نیز افزایش خواهد یافت. با افزایش بیش از حد زمان ممکن است سطح ذرات سیپولیت توسط عوامل کدورت‌زا اشباع شود و تشکیل کمپلکس‌های درشت مولکول در سطح ذرات رس، سبب جدا شدن این عوامل از سطح رس و آزاد شدن مجدد آن‌ها به درون آب‌میوه خواهد شد. در نتیجه، افزایش بیش از حد زمان شفاف‌سازی می‌تواند سبب افزایش کدورت گردد. Farmani و همکاران (2006) گزارش کردند که از زمان تماس صفر تا 60 دقیقه کاهش کدورت در شربت نیشکر تصفیه‌شده با بنتونیت

همانطور که در این شکل ملاحظه می‌شود کمترین میزان کدورت در بیشترین و کمترین دما حاصل شده است. با افزایش غلظت رس به دلیل اینکه سطح کل افزایش می‌یابد، جذب ترکیبات کدورت‌زا بیشتر می‌شود و به این ترتیب کدورت آب‌میوه کاهش می‌یابد (Qiu et al., 2007)، اما ممکن است با افزایش بیش از حد غلظت رس، ذرات سیپولیت خود به‌عنوان عامل کدورت‌زا عمل کنند و به همین دلیل با افزایش میزان رس، کدورت افزایش می‌یابد (Jahed et al., 2014). Jahed و همکاران (2014) مشاهده کردند که با افزایش غلظت بنتونیت (5-1 گرم بر لیتر)، کدورت شربت چغندر قند افزایش می‌یابد و از حدود 5 NTU به حدود 10 NTU می‌رسد. از طرفی Koyuncu و همکاران (2007) به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت بنتونیت از 0/2 به 0/8 گرم به ازای هر 100 میلی‌لیتر آب‌سیب، کارایی بنتونیت برای جذب ترکیبات سیاه‌رنگ افزایش پیدا می‌کند و بیشترین کارایی و راندمان در غلظت 0/4-0/8 گرم بنتونیت به ازای هر 100 میلی‌لیتر آب‌سیب به‌دست می‌آید. آن‌ها بیان کردند که این افزایش

که افزایش زمان تماس کربن فعال گرانولی با پالپ هلو، سبب افزایش راندمان جذب ترکیبات سیاه‌رنگ از آن می‌شود.

افزایش می‌یابد و پس از آن تا زمان 150 دقیقه کاهش کدورت سیر نزولی خواهد داشت. Arslanoğlu و همکاران (2005) گزارش کردند



شکل 2- تاثیر زمان بر روی میزان کدورت آب سیب

را در شفاف‌سازی آب سیب داشتند و قادر بودند که کدورت آب سیب را از میزان 284/58 NTU به ترتیب به 4/87 NTU و 4/93 NTU کاهش دهند. در واقع این 2 تیمار سبب کاهش کدورت آب سیب به میزان 99/7% طی فرایند شفاف‌سازی شدند. بیشترین میزان کدورت مربوط به تیمارهای سپیولیت و بنتونیت با میزان کدورت نهایی به ترتیب 10/44 NTU و 9/15 NTU بود. بنتونیت و سپیولیت به دلیل ساختار خاص خود قادر به حذف پروتئین از آب میوه از طریق جذب سطحی هستند (Onsekizoglu, 2013). pH ایزوالکتریک ژلاتین برابر با 7 است، لذا، این عامل شفاف‌کننده در pH طبیعی آب میوه که اسیدی است، دارای بار الکتریکی مثبت می‌باشد. از این رو ژلاتین قادر است ترکیبات با بار الکتریکی منفی مانند پلی‌فنول‌ها و به‌خصوص تانن را از آب میوه حذف نماید (Bagci, 2014). کیزل ژل دارای بار الکتریکی منفی است و قادر است مقادیر اضافی ژلاتین را جدا کند. به‌علاوه این ترکیب می‌تواند با سایر ترکیبات دارای بار مثبت نیز واکنش دهد و سبب شفافیت بیشتر آب میوه نهایی گردد (Türkyılmaz et al., 2012). بنابراین کاربرد همزمان این عوامل شفاف‌کننده، سبب حذف مقادیر بیشتری از انواع ترکیبات کدورت‌زا، از آب میوه خواهد شد و در نتیجه آب میوه شفاف‌تری تولید می‌گردد. Tajchakavit و همکاران (2001) و Lee و همکاران (2007) به ترتیب کاهش کدورت را در آب سیب و موز با استفاده از تیمار ترکیب بنتونیت و ژلاتین و هر دو تیمار بنتونیت و تیمار ترکیبی بنتونیت و ژلاتین گزارش کردند.

- **ویسکوزیته:** ویسکوزیته آب میوه به عوامل مختلفی از جمله مقدار ترکیبات پلی‌ساکاریدی مانند پکتین، نشاسته و سایر مواد جامد

بهینه سازی فرایند شفاف سازی

هدف از انجام مرحله بهینه‌سازی، تولید آب سیب با بیشترین میزان شفافیت و کمترین میزان کدورت بود. شرایط بهینه جهت شفاف‌سازی آب سیب، غلظت رس 0/05 درصد، دمای 50 درجه سانتی‌گراد و زمان فرایند 7 ساعت پیشنهاد شد. مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده کدورت با به کارگیری شرایط بهینه به ترتیب 10/44 NTU و 8/88 NTU به دست آمد. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان 0/05 بین مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده کدورت وجود ندارد.

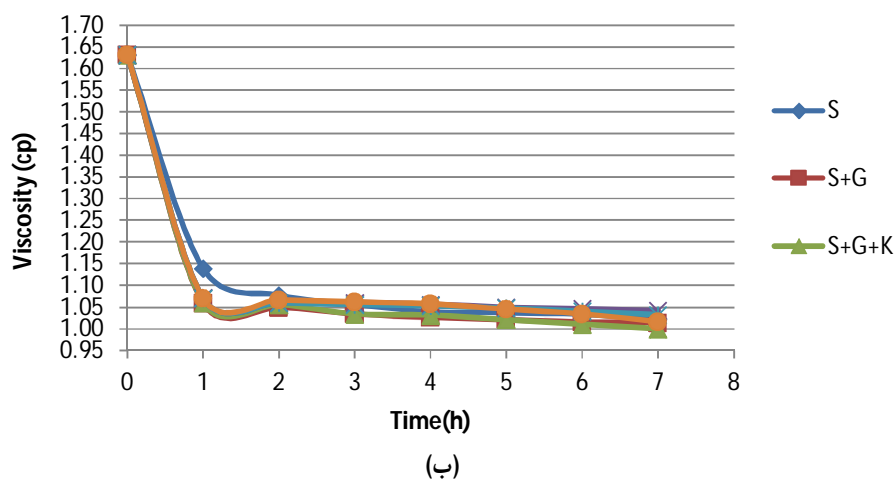
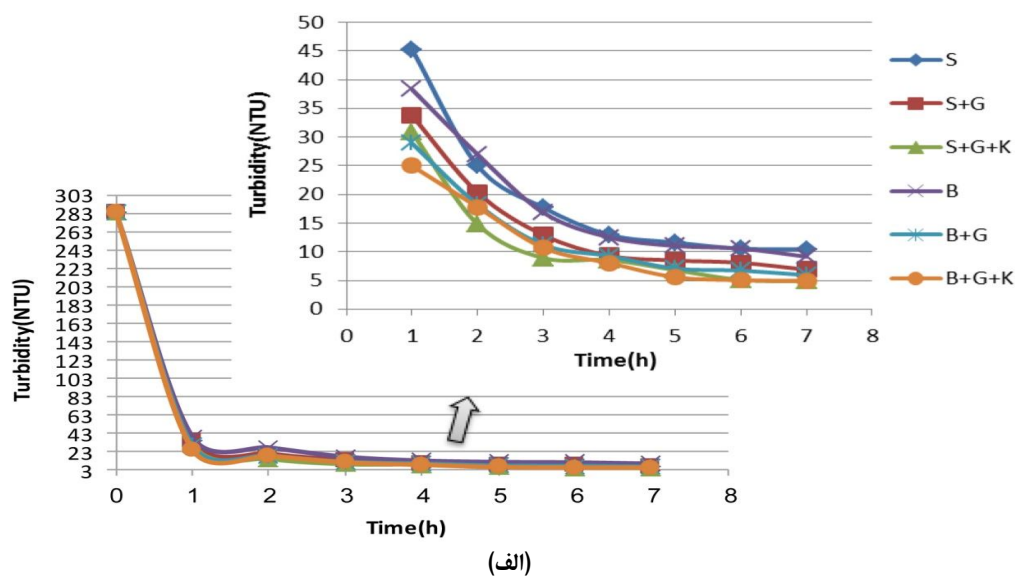
مقایسه قابلیت شفاف‌سازی سپیولیت با سایر عوامل شفاف‌کننده

الف) آنالیزهای فیزیکی و شیمیایی

- **کدورت:** تغییرات کدورت طی زمان شفاف‌سازی آب سیب با کاربرد انواع عوامل شفاف‌کننده در شکل 3 (الف) قابل مشاهده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، طی زمان شفاف‌سازی، کدورت تمامی نمونه‌ها کاهش می‌یابد. مرحله اول (شفاف‌سازی آنزیمی) کدورت آب سیب را از مقدار اولیه 1646 NTU در آب سیب کدر به میزان 284/58 NTU در آب سیب تیمار شده آنزیمی کاهش داد. آنزیم‌های پکتیناز و آمیلاز، پکتین و نشاسته موجود در آب میوه را هیدرولیز می‌کنند و سبب تشکیل کمپلکس‌های پکتین-پروتئین، پروتئین- کربوهیدرات و یا سایر کمپلکس‌هایی می‌شوند که قادر به رسوب یا ته‌نشینی در آب میوه هستند. به این ترتیب آب میوه‌ای با کدورت و ویسکوزیته کمتر تولید می‌کنند (Lee et al., 2006). در بین تیمارهای به کار رفته در مرحله دوم، تیمارهای S+G+K و B+G+K بیشترین قابلیت

ترکیبات فنولیکی که با پروتئین‌ها پیوند برقرار کرده‌اند را نیز جذب می‌نماید، هرچند که مقدار بسیار کمی از ترکیبات فنولیک می‌توانند از این طریق از آب‌میوه جدا شوند (Lee *et al.*, 2007). کمترین میزان ویسکوزیته در آب‌میوه شفاف‌شده با تیمارهای S+G+K و B+G+K به دست آمد. میزان ویسکوزیته پس از شفاف‌سازی برای تیمار S+G+K مقدار 1 cp و برای تیمار B+G+K مقدار 1/017 cp به دست آمد، زیرا این تیمارها قادرند علاوه بر حذف پروتئین، ترکیبات فنولیک موجود در آب‌میوه را نیز توسط ژلاتین، خارج نمایند.

محلول موجود در آب‌میوه بستگی دارد (Hernandez, 1995; Lee *et al.*, 2006; Rai *et al.*, 2005). تیمار آنزیمی به سبب هیدرولیز پکتین و نشاسته، میزان ویسکوزیته آب‌سیب را کاهش داد. با توجه به شکل 3 (ب) میزان ویسکوزیته طی فرایند شفاف‌سازی کاهش یافت و در طی شفاف‌سازی آنزیمی از مقدار 3/1 به 1/631cp رسید. بیشترین میزان ویسکوزیته در آب‌میوه تیمار شده با سیپولیت (1/023 cp) و بنتونیت (1/043 cp) مشاهده شد. رس‌های سیپولیت و بنتونیت قادر به حذف پروتئین موجود در آب‌میوه از طریق جذب سطحی هستند. علاوه بر این، به صورت غیرمستقیم مقداری از



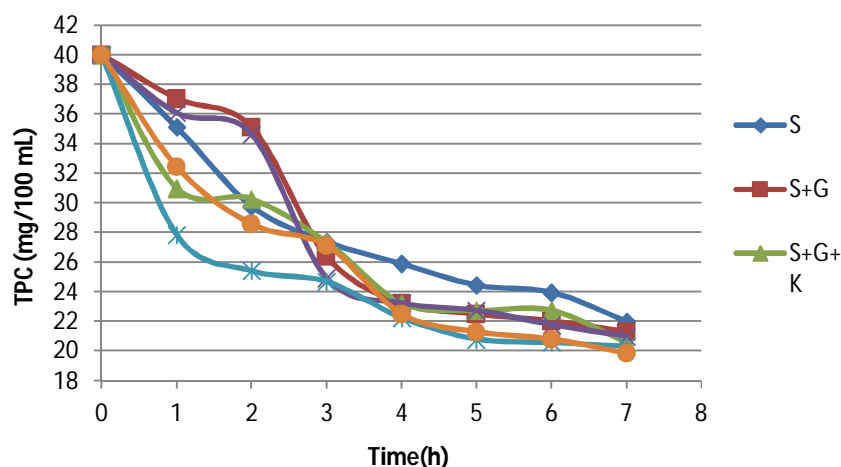
شکل 3- تغییرات کدورت (الف) و ویسکوزیته (ب) طی فرایند شفاف‌سازی

می‌توانند از طریق پلیمریزاسیون اولیه و تجمع یافتن که منجر به تشکیل کمپلکس‌های پلیمری بین فندها، پلی‌ساکاریدها، یون‌های

- ترکیبات فنولیک کل: ترکیبات فنولیک بیشترین تاثیر را در کدورت آب‌میوه‌ها دارند. همانگونه که قبلاً ذکر شد، این ترکیبات

مرحله شفاف‌سازی آنزیمی میزان ترکیبات فنولیک را از 44/38 به 40 میلی‌گرم گالیک اسید به ازای هر 100 میلی‌لیتر آب‌سیب کاهش داد.

فلزی و پروتئین‌ها می‌شود، موجب ایجاد کدورت و طعم و رنگ نامطلوب در آب‌میوه طی نگهداری شوند (Mirsaeedghazi *et al.*, 2010; Onsekizoglu, 2013; Vardin *et al.*, 2003) مطابق با شکل 4 میزان این ترکیبات طی فرایند شفاف‌سازی کاهش می‌یابد.



شکل 4- تغییرات میزان ترکیبات فنولیک کل (TPC) طی فرایند شفاف‌سازی

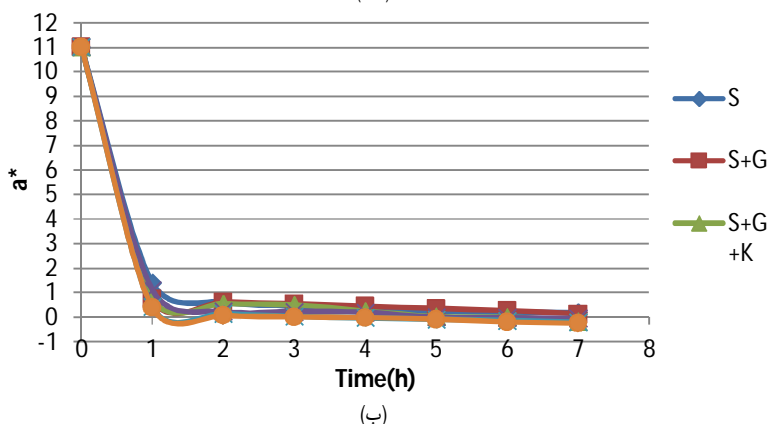
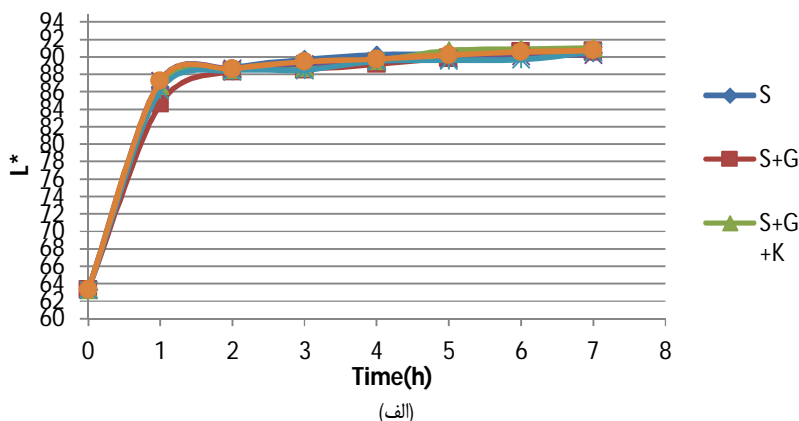
بیشترین میزان روشنایی بود. تیمار B+G+K نیز در بین تیمارهای حاوی بنتونیت با مقداری برابر با 90/73، بیشترین میزان روشنایی را ایجاد کرد. کمترین میزان روشنایی نیز توسط کاربرد سیپولیت (90/48) و بنتونیت (90/22) به تنهایی حاصل شد. بنتونیت و سیپولیت سبب حذف پروتئین می‌شوند. ژلاتین نیز به حذف تانن و پلی‌فنول کمک می‌کند. بنابراین ترکیب سه عامل شفاف‌کننده سبب بهبود رنگ آب‌میوه و روشن‌تر شدن رنگ آن می‌شوند.

شکل 5 (ب) تغییرات شاخص a^* را طی فرایند شفاف‌سازی آب‌سیب نشان می‌دهد. میزان قرمزی از 1/11 به 11/03 در آب‌سیب شفاف‌شده با آنزیم، افزایش یافت. طی زمان شفاف‌سازی با عوامل شفاف‌کننده این شاخص کاهش یافت که ممکن است ناشی از حذف عوامل موثر در قهوه‌ای شدن رنگ آب‌سیب باشد که می‌توانند در کمپلکس‌های ایجاد شده (از جمله پکتین - پروتئین، پروتئین - کربوهیدرات و یا کمپلکس ژلاتین - کیزل ژل) طی شفاف‌سازی آب‌سیب به دام افتند و همراه این کمپلکس‌ها رسوب نمایند و از آن جدا شوند. بنابراین تیمارهایی که آب‌سیب شفاف‌تر و با کدورت کمتر تولید می‌نمایند، میزان این شاخص را بیشتر کاهش می‌دهند. بر این اساس تیمارهای S+G+K (برابر با -0/16) و B+G+K (برابر با -0/26) در آب‌سیب کمترین میزان قرمزی و حتی مقداری رنگ سبز (اعداد در محدوده منفی بودند) ایجاد کردند و تیمارهای سیپولیت (0/19) و بنتونیت (-0/05) در بین 6 تیمار دارای بیشترین میزان شاخص a^* بودند. Oszmiański و همکاران (2007) گزارش کردند

میزان این ترکیبات با استفاده از تیمارهای S+G+K و B+G+K به کمترین حد رسید و به ترتیب برابر با 20/58 و 19/84 میلی‌گرم بود. در تیمارهای سیپولیت (22/02 میلی‌گرم) و بنتونیت (21 میلی‌گرم) آب‌سیب بیشترین میزان ترکیبات فنولیک را داشت. همانطور که قبلاً گفته شد، بنتونیت و سیپولیت به صورت غیرمستقیم سبب کاهش میزان این ترکیبات می‌شوند. همچنین ژلاتین به دلیل pH ایزوالکتریک برابر با 7، در pH طبیعی آب‌میوه که اسیدی است، دارای بار الکتریکی مثبت می‌باشد. از این رو قادر است ترکیبات با بار الکتریکی منفی مانند پلی‌فنول‌ها و به خصوص تانن را از آب‌میوه حذف نماید و به این ترتیب سبب کاهش ترکیبات فنولیک در آب‌میوه شفاف‌شده گردد. بنابراین تیمار ترکیب عوامل شفاف‌کننده سبب کاهش بیشتر میزان ترکیبات فنولیک خواهد شد. Gökmen و همکاران (2001) گزارش کردند که شفاف‌سازی آب‌سیب با استفاده از بنتونیت و ژلاتین میزان ترکیبات فنولیک آب‌سیب را از 13/6 میلی‌گرم در آب‌میوه اولیه به 7 میلی‌گرم در آب‌سیب شفاف‌شده بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک به ازای هر لیتر آب‌سیب کاهش داد.

رنگ: مطابق با آنچه در شکل 5 (الف) مشاهده می‌شود، شفاف‌سازی می‌تواند سبب افزایش شاخص L^* در آب‌سیب گردد. شفاف‌سازی آنزیمی مقدار این شاخص را از مقدار 2/98 به 63/27 افزایش داد. پکتیناز و آمیلاز قادرند با تجزیه پکتین و نشاسته، آب‌میوه‌ای با شفافیت و روشنایی بیشتر تولید نمایند. از بین تیمارهای حاوی سیپولیت، تیمار S+G+K با شاخص L^* برابر با 91/07 دارای

که کاربرد تیمار ترکیبی B+G+K جهت شفاف‌سازی آب‌سیب، سبب افزایش شاخص L^* و کاهش شاخص a^* شد.



شکل 5- تغییرات شاخص های L^* (الف) و a^* (ب) طی فرایند شفاف سازی

تطابق را با داده های تجربی دارد. Tajchakavit و همکاران (2001) گزارش کردند که سرعت تشکیل کدورت طی انبارمانی آب‌سیب که توسط افزایش کدورت نشان داده می‌شود، از مدل کینتیکی درجه یک پیروی کرد.

تغییرات ویسکوزیته آب‌سیب طی زمان از مدل درجه صفر پیروی کرد. Deshmukh و همکاران (2015) از مدل‌های کینتیکی درجه یک و دو برای توصیف تاثیر مقدار مواد جامد محلول کل بر ویسکوزیته آب ساپوتای (*Achras sapota* L) شفاف‌شده با آنزیم در دماهای مختلف استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که مدل کینتیکی درجه دوم تطابق بیشتری با داده‌های تجربی آن‌ها دارد.

مدل مناسب جهت توصیف تغییرات ترکیبات فنولیک در آب‌سیب با توجه به مقادیر ارائه شده در جدول، مدل کینتیکی درجه یک است. با توجه به نتایج موجود در جدول، می‌توان گفت که تغییرات شاخص L^* و a^* در آب‌سیب طی شفاف‌سازی از مدل کینتیکی درجه صفر پیروی کردند.

Maskan (2006) اعلام کرد که تنوع در تغییرات کلی رنگ

(ب) بررسی کینتیک تغییرات کدورت، ویسکوزیته، ترکیبات فنولیک کل و رنگ

سرعت تغییرات کدورت، ویسکوزیته، ترکیبات فنولیک کل و رنگ طی فرایند شفاف‌سازی آب‌سیب با کاربرد مدل‌های کینتیکی درجه صفر، یک و دو ارزیابی شد. مدل کینتیکی درجه صفر بیانگر این موضوع است که سرعت واکنش یا آنالیز مورد نظر مستقل از غلظت ماده است و تغییرات غلظت نسبت به زمان، به صورت خطی است، در حالی که در مدل‌های درجه یک و دو سرعت تغییرات آنالیز مورد نظر وابسته به غلظت یا میزان آن آنالیز در هر زمان است و تغییرات آنالیز (غلظت) نسبت به زمان غیرخطی است. مدلی که دارای بیشترین میزان R و کمترین مقدار SS_r (مجموع مربعات باقی‌مانده) بود، جهت توصیف سرعت تغییرات واکنش مورد نظر، طی زمان شفاف‌سازی انتخاب شد. مقادیر R و SS_r حاصل از سه مدل کینتیکی برای آنالیزهای ذکر شده، در جدول 5 قابل مشاهده است. همانطور که در این جدول مشاهده می‌گردد، مدل کینتیکی درجه یک جهت توصیف تغییرات کدورت طی فرایند شفاف‌سازی مناسب است و بیشترین

(TCD) کنسانتره آب‌انار توسط مدل درجه یک و مدل‌های ترکیبی درجه صفر و یک توصیف می‌شود. در حالی که شاخص‌های رنگ (L, a و b) فقط با مدل‌های ترکیبی تطابق دارند. مقادیر پارامترهای مدل (A₀ و k) حاصل از بهترین مدل، جهت توصیف تغییرات کدورت، ویسکوزیته، ترکیبات فنولیک و رنگ در جدول 6 نشان داده شده است. پارامتر k ثابت سرعت واکنش نامیده می‌شود و سرعت تغییرات را طی زمان نشان می‌دهد.

جدول 5- مقادیر R و SS_r حاصل از سه مدل کینتیکی برای تغییرات کدورت، ویسکوزیته، ترکیبات فنولیک کل و رنگ

شاخص a*		شاخص L*		ترکیبات فنولیک کل		ویسکوزیته		کدورت		تیمار
SS _r	R	SS _r	R	SS _r	R	SS _r	R	SS _r	R	
درجه صفر										
0/353	0/831	4/755	0/875	12/121	0/946	0/002	0/903	269/400	0/849	S
0/001	0/998	7/232	0/907	45/227	0/908	0/000	0/964	141/093	0/867	S+G
0/020	0/986	1/564	0/963	8/768	0/956	0/003	0/901	153/767	0/834	S+G+K
0/335	0/812	1/221	0/935	43/641	0/907	0/000	0/982	138/968	0/896	B
0/031	0/935	2/623	0/931	4/197	0/959	0/000	0/984	90/598	0/886	B+G
0/035	0/931	13/092	0/845	11/189	0/958	0/000	0/960	58/163	0/914	B+G+K
درجه یک										
0/067	0/97	4/855	0/872	8/672	0/993	0/002	0/907	85/286	0/955	S
0/010	0/928	7/461	0/904	31/498	0/925	0/000	0/965	35/579	0/968	S+G
0/097	0/982	1/628	0/962	7/208	0/946	0/003	0/897	43/024	0/957	S+G+K
0/058	0/970	1/248	0/934	31/982	0/924	0/000	0/982	34/434	0/975	B
0/071	0/857	2/686	0/929	3/160	0/968	0/000	0/983	19/908	0/976	B+G
0/116	0/764	13/265	0/843	7/054	0/979	0/000	0/958	7/560	0/989	B+G+K
درجه دو										
0/353	0/831	15309/071	R<0/05	1690/927	R<0/05	0/002	0/903	2399/355	R<0/05	S
0/001	0/998	14641/652	R<0/05	2050/196	R<0/05	0/000	0/964	1392/666	R<0/05	S+G
0/020	0/986	15196/135	R<0/05	1505/674	R<0/05	0/003	0/901	1070/560	R<0/05	S+G+K
0/335	0/812	15488/008	R<0/05	1958/391	R<0/05	0/000	0/982	1944/671	R<0/05	B
0/031	0/935	15112/655	R<0/05	1124/510	R<0/05	0/000	0/984	1052/611	R<0/05	B+G
0/035	0/931	15045/496	R<0/05	1545/535	R<0/05	0/000	0/960	862/485	R<0/05	B+G+K

جدول 6- مقادیر A₀ و k برای هر یک از مدل‌های انتخاب شده

شاخص a* (درجه صفر)		شاخص L* (درجه صفر)		ترکیبات فنولیک (درجه یک)		ویسکوزیته (درجه صفر)		کدورت (درجه یک)		تیمار
k	A ₀	k	A ₀	k	A ₀	k	A ₀	k	A ₀	
0/167	1/150	0/659	86/710	0/074	35/790	0/017	1/126	0/347	58/790	S
0/097	0/830	0/967	84/790	0/110	40/550	0/008	1/062	0/358	45/370	S+G
0/157	0/910	0/752	86/400	0/073	33/640	0/017	1/089	0/445	44/460	S+G+K
0/151	0/850	0/488	87/230	0/108	39/510	0/005	1/074	0/305	49/900	B
0/09	0/380	0/667	86/160	0/057	28/860	0/006	1/075	0/347	38/760	B+G
0/091	0/350	0/805	85/930	0/089	34/580	0/009	1/085	0/353	35/100	B+G+K

بیشترین مقادیر k را داشتند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که دو تیمار سپیولیت و بنتونیت با سرعت کمتری نسبت به سایر تیمارها توانایی تغییر کدورت را دارند. در این‌جا می‌توان به این نکته اشاره کرد

در آنالیز کدورت در بین تیمارهای سپیولیت، تیمار سپیولیت دارای کمترین مقدار k و تیمار S+G+K دارای بیشترین مقدار k بودند. در بین تیمارهای بنتونیت نیز، بنتونیت کمترین و تیمار ترکیبی B+G+K

به‌صورت اثر متقابل، دما به‌صورت اثر متقابل و عبارت درجه دوم و زمان به‌صورت عبارات درجه اول و دوم و همچنین اثر متقابل، بر روی کدورت آب‌سیب اثر می‌گذارند. بهترین شرایط برای شفاف‌سازی و تولید آب‌سیب با کمترین میزان کدورت در غلظت رس 0/05 درصد، دمای 50 درجه‌سانتی‌گراد و زمان 7 ساعت به‌دست آمد. سرعت تغییرات کدورت، ویسکوزیته، ترکیبات فنولیک کل و رنگ طی مدت زمان شفاف‌سازی به‌ترتیب از مدل‌های کینتیکی درجه یک، صفر، یک و صفر پیروی کرد. نحوه عملکرد سپیولیت تقریباً مشابه با بنتونیت برآورد گردید، بطوریکه دو تیمار ترکیب سپیولیت - ژلاتین - کیزل‌ژل و بنتونیت - ژلاتین - کیزل‌ژل به‌عنوان بهترین تیمارها جهت شفاف‌سازی آب‌سیب شناخته شدند. بنابراین رس سپیولیت می‌تواند به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای بنتونیت در صنعت آب‌میوه معرفی گردد.

که یک ارتباط نسبی بین مقادیر k حاصل از تیمارهای مختلف برای میزان کدورت و روشنایی آب‌سیب وجود دارد. به‌طوریکه تقریباً تیمارهایی که دارای مقادیر k بیشتر برای تغییرات کدورت هستند، از k بیشتری برای میزان روشنایی نیز برخوردار می‌باشند. با توجه به این مشاهدات می‌توان نتیجه گرفت که ارتباط مستقیمی بین میزان کدورت و روشنایی آب‌سیب وجود دارد، در واقع هرچه آب‌سیب شفاف‌تر باشد، شاخص L^* یا روشنایی آن نیز بیشتر خواهد بود.

نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که فعال‌سازی اسیدی رس سپیولیت ایرانی سبب افزایش سطح ویژه آن از مقدار 108 به $178 \text{ m}^2/\text{g}$ و همچنین افزایش راندمان جذب در مقایسه با نوع طبیعی می‌شود. پس از بررسی فاکتورهای موثر در فرایند شفاف‌سازی مشخص گردید که غلظت رس

منابع

- Alan, N. and İşçi, S., 2014, Surface modification of sepiolite particles with polyurethane and polyvinyl alcohol. *Progress in Organic Coatings*, 77 (2), 444-448.
- Arslanoğlu, F. N., Kar, F. and Arslan, N., 2005, Adsorption of dark coloured compounds from peach pulp by using granular activated carbon. *Journal of food engineering*, 68 (4), 409-417.
- Bagci, P. O., 2014, Effective clarification of pomegranate juice: A comparative study of pretreatment methods and their influence on ultrafiltration flux. *Journal of Food Engineering*, 141, 58-64.
- Balci, S., 1999, Effect of heating and acid pre-treatment on pore size distribution of sepiolite. *Clay Minerals*, 34 (4), 647-647.
- Ceci, L. and Lozano, J., 1998, Determination of enzymatic activities of commercial pectinases for the clarification of apple juice. *Food Chemistry*, 61 (1), 237-241.
- Chatterjee, S., Chatterjee, S., Chatterjee, B. P. and Guha, A. K., 2004, Clarification of fruit juice with chitosan. *Process Biochemistry*, 39 (12), 2229-2232.
- Deshmukh, P. S., Manjunatha, S. and Raju, P., 2015, Rheological behaviour of enzyme clarified sapota (*Achras sapota* L) juice at different concentration and temperatures. *Journal of food science and technology*, 52 (4), 1896-1910.
- Farmani, B., Haddade khodaparast, M.H., Hesari, J. and Rezaii Iraqi, E., 2006, Refining of raw sugarcane juice using bentonite: 2 - determination of optimum quantity of gelatin, time and temperature of process with bentonite. *Journal of food science and technology research*, 2, 63-75.
- Gao, L., Beveridge, T. and Reid, C., 1997, Effects of processing and packaging conditions on haze formation in apple juices. *LWT-Food Science and Technology*, 30 (1), 23-29.
- Gökmen, V., Artık, N., Acar, J., Kahraman, N. and Poyrazoğlu, E., 2001, Effects of various clarification treatments on patulin, phenolic compound and organic acid compositions of apple juice. *European Food Research and Technology*, 213 (3), 194-199.
- Gökmen, V. and Çetinkaya, Ö., 2007, Effect of pretreatment with gelatin and bentonite on permeate flux and fouling layer resistance during apple juice ultrafiltration. *Journal of food engineering*, 80 (1), 300-305.
- Gökmen, V. and Serpen, A., 2002, Equilibrium and kinetic studies on the adsorption of dark colored compounds from apple juice using adsorbent resin. *Journal of Food Engineering*, 53 (3), 221-227.
- Hernandez, E., Chen, C., Johnson, J. and Carter, R., 1995, Viscosity changes in orange juice after ultrafiltration and evaporation. *Journal of Food Engineering*, 25 (3), 387-396.
- Jahed, E.; Khodaparast, M. H. H. and Khaneghah, A. M., 2014, Bentonite, temperature and pH effects on purification indexes of raw sugar beet juice to production of inverted liquid sugar. *Applied Clay Science*, 102, 155-163.
- Kim, D. W., Kim, T. S., Jeong, Y. K. and Lee, J. K., 1992, Adsorption kinetics and behaviors of cellulase components on microcrystalline cellulose. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 73 (6), 461-466.
- Koyuncu, H., Kul, A. R., Çalimli, A., Yıldız, N. and Ceylan, H., 2007, Adsorption of dark compounds with bentonites in apple juice. *LWT-Food Science and Technology*, 40 (3), 489-497.
- Lee, W., Yusof, S., Hamid, N. and Baharin, B. S., 2007, Effects of fining treatment and storage temperature on the quality of clarified banana juice. *LWT-Food Science and Technology*, 40 (10), 1755-1764.

- Lee, W., Yusof, S., Hamid, N. S. A. and Baharin, B. S., 2006, Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). *Journal of food Engineering*, 73 (1), 55-63.
- Maskan, M., 2006, Production of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate by various heating methods: colour degradation and kinetics. *Journal of Food Engineering*, 72 (3), 218-224.
- Mirsaeedghazi, H., Emam-Djomeh, Z., Mousavi, S. M., Aroujalian, A. and Navidbakhsh, M., 2010, Clarification of pomegranate juice by microfiltration with PVDF membranes. *Desalination*, 264 (3), 243-248.
- Miura, A., Nakazawa, K., Takei, T., Kumada, N., Kinomura, N., Ohki, R. and Koshiyama, H., 2012, Acid-, base-, and heat-induced degradation behavior of Chinese sepiolite. *Ceramics International*, 38 (6), 4677-4684.
- Onsekizoglu, P., 2013, Production of high quality clarified pomegranate juice concentrate by membrane processes. *Journal of Membrane Science*, 442, 264-271.
- Oszmiański, J. and Wojdyło, A., 2007, Effects of various clarification treatments on phenolic compounds and color of apple juice. *European Food Research and Technology*, 224 (6), 755-762.
- Pinelo, M., Zeuner, B. and Meyer, A. S., 2010, Juice clarification by protease and pectinase treatments indicates new roles of pectin and protein in cherry juice turbidity. *Food and bioproducts processing*, 88 (2), 259-265.
- Qiu, N., Guo, S. and Chang, Y., 2007, Study upon kinetic process of apple juice adsorption de-coloration by using adsorbent resin. *Journal of food engineering*, 81 (1), 243-249.
- Rai, P., Majumdar, G., DasGupta, S. and De, S., 2005, Prediction of the viscosity of clarified fruit juice using artificial neural network: a combined effect of concentration and temperature. *Journal of Food Engineering*, 68 (4), 527-533.
- Rinaldi, M., Caligiani, A., Borgese, R., Palla, G., Barbanti, D. and Massini, R., 2013, The effect of fruit processing and enzymatic treatments on pomegranate juice composition, antioxidant activity and polyphenols content. *LWT-Food Science and Technology*, 53 (1), 355-359.
- Sabah, E. and Çelik, M. S., 2005, Sepiolite: An effective bleaching adsorbent for the physical refining of degummed rapeseed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82 (91), 911-916.
- Sabah, E. and Majdan, M., 2009, Removal of phosphorus from vegetable oil by acid-activated sepiolite. *Journal of Food Engineering*, 91 (3), 423-427.
- Sabah, E., Turan, M. and Celik, M., 2002, Adsorption mechanism of cationic surfactants onto acid-and heat-activated sepiolites. *Water research*, 36 (16), 3957-3964.
- Suárez, M. and García-Romero, E., 2012, Variability of the surface properties of sepiolite. *Applied Clay Science*, 67, 72-82.
- Tajchakavit, S., Boye, J. and Couture, R., 2001, Effect of processing on post-bottling haze formation in apple juice. *Food research international*, 34 (5), 415-424.
- Tastan, O. and Baysal, T., 2015, Clarification of pomegranate juice with chitosan: Changes on quality characteristics during storage. *Food chemistry*, 180, 211-218.
- Tian, G., Wang, W., Kang, Y. and Wang, A., 2014, Study on thermal activated sepiolite for enhancing decoloration of crude palm oil. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 117 (3), 1211-1219.
- Turfan, Ö., Türkyilmaz, M., Yemiş, O. and Özkan, M., 2012, Effects of clarification and storage on anthocyanins and color of pomegranate juice concentrates. *Journal of Food Quality*, 35 (4), 272-282.
- Türkyilmaz, M., Yemiş, O. and Özkan, M., 2012, Clarification and pasteurisation effects on monomeric anthocyanins and percent polymeric colour of black carrot (*Daucus carota* L.) juice. *Food chemistry*, 134 (2), 1052-1058.
- Ünal, H. İ. and Erdoğan, B., 1998, The use of sepiolite for decolorization of sugar juice. *Applied clay science*, 12 (5), 419-429.
- Vardin, H. and Fenercioğlu, H., 2003, Study on the development of pomegranate juice processing technology: clarification of pomegranate juice. *Food/Nahrung*, 47 (5), 300-303.

Application of Iranian Sepiolite in Clarification of Apple Juice: Changes on Quality Characteristics during Process

M. Mirzaaghaei¹, S. A. H. Goli^{*2}, M. Fathi²

Received: 2016.01.17

Accepted: 2016.04.23

Introduction: Flavor, taste, odor and color of fresh apple juice is unstable during concentration process and storage. Pectic substances and phenolic compounds are responsible for these physicochemical changes. So, decreasing of these compounds is necessary to improve the appearance and marketability of apple juice. In fruit juice industry, clarification is one of the most important steps which removes pectin, polyphenols and other unfavorable components and prevents haze formation during storage. Enzymatic clarification (depectinization) can be applied for removal of pectic substances by using pectinase. This enzyme can hydrolyze pectin and produce pectin-protein complexes which would be settled easily. Also in depectinization step, some enzymes such as amylase and amyloglucosidase can be used to degrade starch. Fining agents such as gelatin, bentonite, activated carbon, silicasol or a combination of these compounds can be used in conventional clarification. Sepiolite is a natural fibrous phyllosilicate clay mineral with a formula $Mg_8Si_{12}O_{30}(OH)_4(OH_2)_4 \cdot nH_2O$ ($n=6-8$) which has specific physicochemical properties such as high porosity, surface area and adsorption capacity. This clay has been used in several important applications such as decolorization of sugar juice, removal of phosphorus from vegetable oil and enhancing decoloration of crude palm oil. In this research, efficiency of Sepiolite for apple juice clarification was evaluated. First, the response surface methodology (RSM) was used to optimize apple juice clarification conditions. Then, a comparison among Sepiolite and other commercial fining agents in respect to clarification efficiency was accomplished. Finally, three types of zero-, first- and second-order kinetic models were used for explanation of changes in turbidity, color, viscosity and total phenolic content (TPC) during clarification process of apple juice.

Materials and Methods: The pasteurized and unclarified apple juice, Bentonite, Gelatin (Bloom= 80-100), Amylase (Alphamyl MG) and Pectinase (Pectofruit XL) were gratefully obtained from Behnoosh Iran Co. (Shahrekor, Iran). Sepiolite (with specific surface area of 105 m²/g) was purchased from Farapooyan Isatis Yazd Co. (Yazd, Iran). The kieselgel and chemicals with analytical grade were purchased from Merck Co. (Germany). Sepiolite was activated with hydrochloric acid according to Balci's method with slight modification. For evaluation of Sepiolite changes, some analysis like pH, acidity, density and the moisture content of Sepiolite clay were done before and after the activation by the method of Sabah and Çelik. Specific surface area was measured by using the BET method (Belsorp mini II, Japan). XRF method (PW148, Philips Co.) was used for determining of difference between Sepiolite elemental compositions before and after the activation. A pretreatment was conducted to improve the performance of fining agents according to Türkyilmaz et al.'s method with slight modification. The swelling capability of fining agents in water increases their clarification capacity. In the method of RSM, the independent factors at three levels were concentration of activated Sepiolite (0.05-0.1% w/v), temperature of clarification (50-60°C) and process time (2-10 h). Juice turbidity was regarded as response. As the first step in clarification of apple juice, amylase and pectinase enzymes were applied (25 µl of each enzyme per 100 mL juice at 20°C). The mixture was stirred and heated in an incubator at 55°C for 1 h. Sepiolite was mixed with juice in certain concentrations, stirred and placed in definite temperature and time according to each run of RSM. Finally, the juice was centrifuged (12000 rpm for 5 min) to remove the clay from clarified juice. For kinetic studies, the above steps were done in the optimized conditions using 0.05% fining agents at 50°C for 7 h. A portable turbidometer (MARTINI, Mi 415, Romania) and the capillary viscometer (Ubbelohde-Viscometer, Fisher, USA) were used for measuring the juice turbidity and viscosity at 20°C and expressed as NTU (Nephelometric Turbidity Unit) and centipoise (cp), respectively. Color was measured at 20°C by using a color meter (ZE 6000, Nippon DENSHOKU). The parameters which used for color expression were L* and a* parameters based on CIE Lab system. The Folin-Ciocalteu reagent was used for measuring the total phenolic content of juice and expressed as mg gallic acid equivalent per 100 mL juice. To evaluate Sepiolite performance in juice clarification, following fining agents were applied at optimal conditions: sepiolite (S),

1 and 2. MSc Student and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

(* - Corresponding Author Email: amirgoli@cc.iut.ac.ir)

commercial bentonite (B), and combination of these agents with gelatin (G) and kieselgel (K) (S+G, B+G, S+G+K, B+G+K). The used concentrations of bentonite, gelatin and kieselgel were 0.05%, 0.015% and 0.04% (w/v), respectively. Sampling was conducted at 1 h intervals to evaluate the changes in juice turbidity, viscosity, color and TPC during clarification process. The rates of changes were determined by three types of zero-, first- and second-order kinetic models.

Results and Discussion: Results showed that the activated Sepiolite had less amounts of weight loss, density and pH than the native sample. On the other hand, moisture content and acidity increased. Also, acid activated Sepiolite had higher amounts of SiO₂ groups. The second-order polynomial (quadratic) model was suggested as the best for describing the optimum conditions of clarification with insignificant lack of fit and high R² (0.9845). Based on the results, process time had a significant ($p < 0.05$) effect on turbidity in linear and quadratic terms. The effect of temperature on turbidity was negative in quadratic term. The interaction effect between temperature and clay concentration and between temperature and time was significant. The optimum condition was obtained by using the 0.05% clay concentration at 50°C for 7 h. Application of all treatments caused to decrease in turbidity, viscosity, TPC and the a* parameter, while the L* parameter was increased. The findings revealed that treatments of bentonite-gelatin-kieselgel and sepiolite-gelatin-kieselgel were the most active fining agents that their use led to a reduction of 99.7% in turbidity of apple juice and produced a product with desirable characteristics. Kinetic study for different features was performed and the results indicated that rate of changes in turbidity, viscosity, total phenolic contents and color with time followed first-, zero-, first- and zero-order kinetic models, respectively. Sepiolite can be recommended as a potential alternative for commercial bentonite in fruit juice industry, although more studies are necessary.

Keywords: Activation, Apple juice, Bentonite, Clarification, Kinetic, Sepiolite