وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
پژوهشگاه علوم و فناوری رنگ

available online @ www.jcst.icrc.ac.ir
نشریه علمی ـ پژوهشی علوم و فناوری رنگ/ ۳ (۱۳۸۸)، ۲۵۰ـ۲۴۳

نشریه علمی-پژوهشی علوم و فناوری رنگ
Journal of Color Science and Technology
www.jcst.icrc.ac.ir

استخراج ماده رنگزای غذایی از چغندر قرمز و بررسی شرایط پایداری آن

علیرضا فخاری زواره[1*]، سمیه باقی‌پور[2]

۱ـ استاد، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی، اوین، تهران، ایران، صندوق پستی: ۴۷۱۶-۱۹۳۹۶

۲ـ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی، اوین، تهران، ایران، صندوق پستی: ۴۷۱۶-۱۹۳۹۶

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۲/۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۸/۱۱ در دسترس به صورت الکترونیکی از: ۱۳۸۸/۱۲/۲۰

چکیده

در این تحقیق، استخراج ماده رنگزای غذایی از چغندر قرمز و بررسی شرایط پایداری آن با استفاده از اسپکتروفوتومتر مرئی- فرابنفش مورد مطالعه قرار گرفت. پس از عملیات آماده‌سازی نمونه‌های چغندر قرمز، انواع روش‌های استخراج عصاره (آبگیری و استخراج جامد- مایع) و پایداری عصاره تولیدی، تحت شرایط مختلف مانند pH، دما، نور و تاریکی مورد بررسی قرار گرفت. عصاره استخراج شده از روش آبگیری در دماهای پایین‌تر از $25\ ^{\circ}C$، $pH = 5$ و در شرایط تاریکی از پایداری بیشتری برخوردار می‌باشد. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که رنگدانه موجود در چغندر قرمز ظرفیت بالایی برای استفاده در صنایع غذایی، مخصوصاً مواد غذایی سرد را دارد.

واژه‌های کلیدی: چغندر قرمز، بتاسیانین، استخراج، پایداری عصاره، خواص طیفی، ماده رنگزای غذایی.

Extraction of a Food Colorant from Red Beet and Evaluation of Its Stability

A. R. Fakhari*, S. Baghipour

Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Shahid Beheshti University, P.O. Box 19396-4716, Tehran, Iran

Abstract

In this work, extraction of a food colorant from red beet and evaluation of its stability by using UV-Vis spectrophotometry was studied. After the step of preparation of red beets, different methods of extraction (solid- liquid extraction and juicing) and effective process parameters such as pH, temperature, light and darkness were evaluated. The extraction of pigment by a juicing method is better than other and it has the most stability at temperatures less than 25 $^{\circ}C$, pH = 5 and darkness. Due to the specification of red beet pigment it has considerable potential for use in the food industry particularly in cold food products. J. Color Sci. Tech. 3(2010), 243-250 © Institute for Color Science and Technology.

Keywords: Red beet, Betacyanins, Extraction, Concentrate stability, Spectral characteristics, Food colorant.

***Corresponding author: a-zavareh@sbu.ac.ir**

۱ـ مقدمه

رنگ همیشه انسان را مجذوب خود کرده و بشر نیز به خاطر ارضای نیازهای روانی و حس زیبایی دوستی خود به طور مداوم از رنگ استفاده کرده است. یکی از موارد مصرف مواد رنگزا، در تهیه مواد خوراکی می‌باشد. رنگ در مواد خوراکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و در واقع اولین ویژگی غذا که توسط مصرف‌کننده مورد توجه قرار می‌گیرد، رنگ آن است. مواد رنگزا بر کیفیت، مزه و طعم غذا تأثیر می‌گذارد به طوری که کیفیت آن ابتدا بر اساس رنگ آن تشخیص داده می‌شود.

طبق تعریف اف. دی. ا[1]، اصطلاح ماده رنگزای غذایی[2] عبارت است از: رنگدانه، رنگ مصنوعی یا سایر مواد ساخته شده توسط روش‌های مختلف مانند فرآیند صنعتی، استخراج و جدا کردن مواد رنگی از میوه‌ها، سبزیجات، حیوانات و مواد معدنی، که برای ایجاد رنگ به مواد خوراکی و آرایشی اضافه می‌شود [۱].

اخیراً محدودیت بسیاری از جانب سازمان بین‌المللی و انستیتوهای تحقیقاتی در مورد استفاده از مواد رنگزای مصنوعی خوراکی به ویژه رنگ قرمز مصنوعی بیان شده است [۲]. به همین دلیل تحقیقات وسیعی برای تهیه مواد رنگزای قرمز طبیعی به عنوان افزودنی‌های مجاز آغاز گردیده است. یکی از مهمترین این منابع، چغندر قرمز می‌باشد که می‌توان از آن مواد رنگزای قرمز طبیعی به منظور استفاده در فرآورده‌های غذایی را تهیه کرد. مهمترین رنگدانه موجود در این گیاه بتالائین است. بتالائین ترکیبات هتروسیکلیک نیتروژن‌دار می‌باشند که ساختار کروموفوری آن‌ها به شکل ۱-۷ دی آزو هپتامین بیان می‌شود و به دو قسمت بتاسیانین قرمز و بتازانتین زرد که محلول در آب می‌باشند، تقسیم می‌شود. بتاسیانین، ایمینیوم مزدوج از بتالامیک اسید با سیکلودوپا و بتازانتین، ایمینیوم مزدوج از بتالامیک اسید با آمینو اسیدها یا آمین‌ها می‌باشد [۳،۴].

مهمترین کاربرد ماده رنگزای تهیه شده، در محصولات سرد مثل بستنی، ماست، شربت یخی، رنگ کردن راحت الحلقوم‌ها، پوشش شیرینی‌ها و کرم‌های وسط شیرینی می‌باشد، به دلیل قدرت رنگی زیاد این ماده، میزان افزودن آن در محصولات غذایی بسیار کم است [۶، ۵]. با توجه به ارزان قیمت بودن کشت چغندر قرمز در ایران می‌توان مواد رنگزای غذایی گران قیمت را از آن استخراج کرد. در این تحقیق استخراج رنگدانه بتانین مبتنی بر روش آبگیری بوده که علاوه بر ساده بودن این روش، از لحاظ اقتصادی نیز مقرون به صرفه می‌باشد و تاکنون در تحقیقات قبلی چنین روش استخراجی، گزارش نشده است.

۲ـ بخش تجربی

۲ـ۱ـ مواد

اسیدکلریدریک، هیدروکسید سدیم، سدیم دی هیدروژن فسفات و دی سدیم هیدروژن فسفات با خلوص صد در صد برای تهیه بافر از شرکت مرک و اتانول نیز با خلوص صد در صد از شرکت بیدستان خریداری شدند. برای تهیه محلول‌ها از آب دو بار تقطیر (که در محل آزمایشگاه تهیه شده) استفاده گردید.

۲ـ۲ـ روش کار

تجهیزات

برای به دست آوردن عصاره چغندر از دستگاه آبگیری مدل JC-700P ساخت شرکت پارس خزر استفاده شد و کنترل دما نیز توسط دستگاه ترموستات مدل F-12 ساخت شرکت جولوبا انجام شد. طیف‌های مرئی توسط دستگاه اسپکتروسکوپی فرابنفش- مرئی (UV-Vis) مدل 2100 ساخت شرکت شیمادزو با نرم‌افزار UVPC ثبت شدند. به منظور تنظیم pH های مختلف بازی و اسیدی، دستگاه pH متر مدل Cyberscan 2100 با الکترود شیشه زوج شده با مرجع در محدوده pH = ۱-۱۴ مورد استفاده قرار گرفت و از دستگاه سانتریفوژ مدل a 2000 ساخت شرکت هرملز برای سانتریفیوژ کردن عصاره چغندر استفاده شد. برای همزدن محلول، از یک همزن مغناطیسی مدل MR-3100 ساخت شرکت هایدولف و آهنربایی با ابعاد ۳٫۶ mm × ۴cm استفاده شد. دستگاه خشک‌کن انجمادی نیز برای تبدیل عصاره استخراج شده به پودر مورد استفاده قرار گرفت.

آماده‌سازی مواد خام

در این تحقیق از روش تمیز کردن مرطوب به صورت دستی (تمیز کردن با آب) استفاده شد. این روش، نسبت به روش خشک ایجاد گرد و خاک نمی‌کند، کمتر به نمونه آسیب می‌رساند و امکان استفاده از مخلوط مواد پاک کننده و ضدعفونی‌کننده را فراهم می‌سازد. سپس به منظور افزایش بازدهی و سرعت استخراج عصاره، چغندرهای خام خرد شدند.

استخراج عصاره از چغندر قرمز

استخراج جامد ـ مایع (SLE)

با استفاده از یک حلال مناسب در روش استخراج جامد- مایع، ترکیبات نمونه جامد به دست می‌آیند. به همین دلیل باید در این روش قبل از تعیین زمان، حلال مناسب انتخاب شود.

برای انتخاب حلال استخراج، ۲۰ گرم چغندر خرد شده، در ۲۵ میلی‌لیتر اتانول و ۲۵ میلی‌لیتر آب به طور جداگانه، در حال هم زدن بر روی یک همزن مغناطیسی با آهنربایی به ابعاد

1- U. S. FDA (United States Food and Drug administration)
2- Food colorant

۳٫۶mm × ۴ cm به مدت سه ساعت خیسانده شد. برای جداسازی چغندرهای خرد شده، مخلوط با کاغذ صافی، صاف گردید. عصاره زیر صافی، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد که ۰/۴ میلی‌لیتر عصاره استخراج شده، با اتانول و آب بطور جداگانه به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد، سپس ۲۵ میکرولیتر از هر دو عصاره استخراج شده، برداشته و پس از رقیق‌سازی با ۳ میلی‌لیتر آب و اتانول بطور جداگانه، جذب آن‌ها اندازه‌گیری گردید.

برای انتخاب زمان استخراج، ۲۰ گرم چغندر خرد شده، در ۲۵ میلی‌لیتر اتانول، در حال هم زدن بر روی یک همزن مغناطیسی با آهنربایی به ابعاد ۳٫۶ mm× ۴ cm در زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰، ۲۴۰، ۳۶۰، ۴۸۰ و ۵۴۰ دقیقه خیسانده شد. جداسازی چغندرهای خرد شده، مطابق روش انتخاب حلال انجام شد، که ۰٫۴ میلی‌لیتر عصاره استخراج شده، با اتانول به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد، سپس ۲۵ میکرولیتر از آن، برداشته و پس از رقیق‌سازی با ۳ میلی‌لیتر اتانول، جذب آن‌ها اندازه‌گیری گردید.

استخراج با روش آبگیری

یکی از روش‌های استخراج رنگدانه بتانین از چغندر، فرآیند آبگیری است. در این روش برای دستیابی به محصول بیشتر از فرآیند خرد کردن استفاده می‌شود. استخراج عصاره از چغندرهای خرد شده با استفاده از دستگاه آبگیری انجام شد.

مقایسه روش استخراج جامد - مایع و آبگیری در میزان عصاره استخراج شده

روش استخراج جامد- مایع

در این بررسی ۲۰ گرم چغندر خرد شده، در ۲۵ میلی‌لیتر اتانول در حال هم زدن بر روی یک همزن مغناطیسی با آهنربایی به ابعاد ۳٫۶ mm× ۴ cm در مدت زمان ۸ ساعت خیسانده شد. جداسازی چغندرهای خرد شده و اندازه‌گیری جذب عصاره استخراج شده، مطابق روش انتخاب زمان استخراج انجام شد.

روش استخراج با آبگیری

در این روش عصاره به دست آمده از ۴۰ گرم چغندر با آب به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسید. جداسازی چغندرهای خرد شده و اندازه‌گیری جذب عصاره استخراج شده، مطابق روش انتخاب زمان استخراج انجام شد.

عوامل مؤثر بر پایداری عصاره استخراج شده به روش استخراج با آبگیری

عوامل زیادی مثل pH، دما و نور بر پایداری عصاره استخراج شده مؤثر می‌باشند. این عوامل سبب می‌شود تا کاربری بتانین به عنوان یک ماده رنگزای غذایی محدود شود. در ادامه به بررسی این عوامل بر پایداری عصاره استخراج شده به روش آبگیری می‌پردازیم [۷].

اثر pH بر پایداری عصاره استخراج شده

در این روش عصاره به دست آمده از ۴۰ گرم چغندر با آب به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. برای جداسازی تفاله‌های باقیمانده در عصاره استخراج شده، مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. ۰٫۴ میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده، توسط محلول بافر فسفات ۰٫۲ مولار در محدوده pH ۲ تا ۸ به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۲۵ میکرولیتر از محلول‌های تهیه شده، برداشته و پس از رقیق‌سازی با ۳ میلی‌لیتر آب، جذب آن‌ها اندازه‌گیری گردید.

اثر دما بر پایداری عصاره استخراج شده

در بررسی اثر دما محدوده دمایی $^{\circ}C$ ۶۰-۴ مورد آزمایش قرار گرفت. در این روش عصاره به دست آمده از ۴۰ گرم چغندر با آب به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسید. برای جداسازی تفاله‌های باقی‌مانده در عصاره استخراج شده، مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد که ۰٫۴ میلی‌لیتر عصاره استخراج شده، توسط محلول بافر فسفات ۰٫۲ مولار با pH = ۵ به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد، سپس ۲۵ میکرولیتر از محلول‌های تهیه شده، برداشته و پس از رقیق‌سازی با ۳ میلی‌لیتر آب، جذب اولیه آن‌ها، اندازه‌گیری گردید. محلول‌های تهیه شده برای بررسی محدوده دمایی $^{\circ}C$ ۶۰-۲۰ در ترموستات و دمای $^{\circ}C$ ۴ در یخچال، به مدت ۶ ساعت قرار داده و هر ۲ ساعت ۲۵ میکرولیتر از آن برداشته و پس از رقیق‌سازی با ۳ میلی‌لیتر آب، جذب آن‌ها اندازه‌گیری گردید.

بررسی پایداری عصاره استخراج شده در شرایط نور و تاریکی

در این روش عصاره به دست آمده از ۴۰ گرم چغندر با آب به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. برای جداسازی تفاله‌های باقیمانده در عصاره استخراج شده، مخلوط برای مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. ۰٫۴ میلی‌لیتر عصاره استخراج شده، توسط محلول بافر فسفات ۰٫۲ مولار در pH = ۵ به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و محلول حاصله جداگانه تحت شرایط نور مرئی، فرابنفش و تاریکی قرار گرفت و جذب آن اندازه‌گیری شد.

به منظور بررسی اثر نور مرئی، ۵ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده با ارتفاع تقریبی ۲٫۵ میلی‌متر در شیشه ساعت در بسته با قطر ۵ سانتی‌متر به مدت ۷۲ ساعت زیر لامپ مرئی (لامپ تنگستن مورد استفاده در منازل) در دمای محیط گذاشته شد و در زمان‌های ۲، ۴،

۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت ، ۲۵ میکرولیتر از آن برداشته و پس از رقیق‌سازی با ۳ میلی‌لیتر آب، جذب آن اندازه‌گیری گردید.

همچنین جهت بررسی اثر نور فرابنفش، ۵ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده با ارتفاع تقریبی ۲,۵ میلی‌متر در ظرف شیشه ساعت دربسته با قطر ۵ سانتی‌متر تا مدت ۷۲ ساعت زیر لامپ فرابنفش (UV) مورد استفاده در TLC با طول موج ۲۵۴ نانومتر در دمای محیط گذاشته شد و در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت، ۲۵ میکرولیتر از آن برداشته و پس از رقیق‌سازی با ۳ میلی‌لیتر آب، جذب آن اندازه‌گیری گردید.

در ادامه به منظور بررسی اثر تاریکی بر عصاره استخراج شده، ۵ میلی‌لیتر محلول تهیه شده به مدت ۷۲ ساعت در ظرف دربسته، تیره با پوشش ورقه آلومینیومی در دمای محیط گذاشته شد و در فواصل زمانی ۲، ۴، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت، ۲۵ میکرولیتر از آن برداشته و پس از رقیق‌سازی با ۳ میلی‌لیتر آب، جذب آن اندازه‌گیری گردید.

تهیه پودر عصاره چغندر قرمز

به منظور تولید پودر و خشک کردن عصاره به دست آمده، دو روش خشک‌کردن انجمادی و حلال پرانی مورد بررسی قرار گرفتند.

حلال پرانی

در این روش عصاره به دست آمده از ۴۰ گرم چغندر با آب به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. برای جداسازی تفاله باقیمانده در عصاره استخراج شده، مخلوط برای مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد که ۰,۴ میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده توسط محلول بافر فسفات ۰,۲ مولار در pH = ۵ به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۲۵ میکرولیتر از محلول تهیه شده، برداشته و پس از رقیق‌سازی با ۳ میلی‌لیتر آب، جذب اولیه آن اندازه‌گیری گردید. ۰,۴ میلی‌لیتر دیگر از عصاره استخراج شده پس از رقیق شدن با بافر فسفات تا حجم ۲۵ میلی‌لیتر، در دمای آزمایشگاه به مدت ۳ روز قرار داده شد تا حلال آن تبخیر شود. پس از تبخیر حلال، عصاره خشک شده با آب به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. مجدداً ۲۵ میکرولیتر از این محلول برداشته و پس از رقیق‌سازی با ۳ میلی‌لیتر آب، جذب آن اندازه‌گیری گردید.

خشک‌کن انجمادی

در این روش عصاره به دست آمده از ۱۲۰ گرم چغندر با آب به حجم ۷۵ میلی‌لیتر رسید. مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. برای رقیق‌سازی بیشتر به منظور اندازه‌گیری جذب ۰,۴ میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده توسط محلول بافر فسفات ۰,۲ مولار در pH = ۵ به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۲۵ میکرولیتر از محلول تهیه شده، برداشته و پس از رقیق‌سازی با ۳ میلی‌لیتر آب، جذب اولیه آن‌ها اندازه‌گیری گردید. محلول اولیه توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی خشک گردید. پودر به دست آمده از چغندر با آب به حجم ۷۵ میلی‌لیتر رسانده شد. ۰,۴ میلی‌لیتر از این محلول توسط بافر فسفات ۰,۲ مولار در pH = ۵ به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۲۵ میکرولیتر از این محلول را برداشته و پس از رقیق‌سازی با ۳ میلی‌لیتر آب، جذب آن اندازه‌گیری گردید.

۳ـ نتایج و بحث

۳ـ۱ـ انتخاب حلال استخراج در روش استخراج جامد- مایع

استخراج از جامدات نیازمند یک حلال خاص می‌باشد که به ماهیت شیمیایی نمونه و بافت آن بستگی دارد. حلال انتخاب شده باید نمونه‌ها را به خوبی در خود حل کرده و ضریب نفوذ آن در بستر جامد به منظور خارج کردن نمونه، بالا باشد. جدول ۱ نشان می‌دهد که از بین حلال‌های آب و اتانول در استخراج به روش استخراج جامد- مایع، اتانول دارای بازده استخراج بیشتری است. بنابراین در بررسی‌های بعدی مربوط به روش استخراج جامد- مایع از اتانول به عنوان حلال استخراج استفاده شد.

جدول ۱: اثر حلال روی استخراج در روش استخراج جامد- مایع.

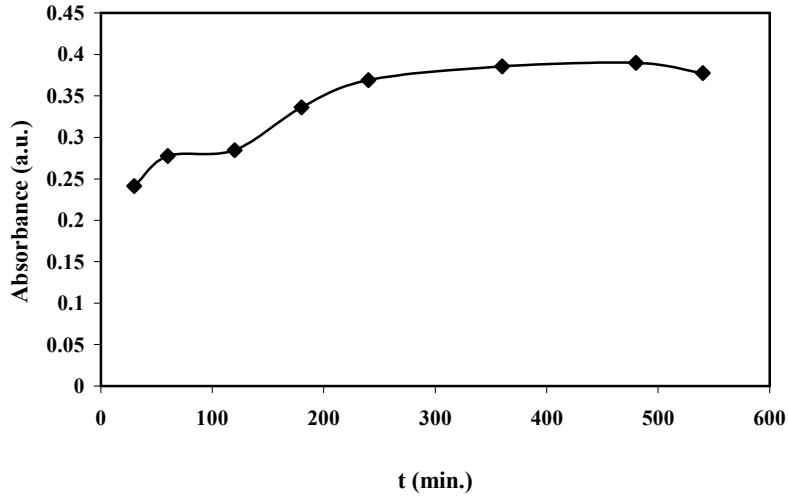
حلال	مقدار جذب (λ_{max}= ۵۴۰nm)
آب	۰,۱۴۴۳
اتانول	۰,۳۳۶۴

۳ـ۲ـ اثر زمان بر روی استخراج

بعد از انتخاب حلال مناسب، برای دستیابی به مقدار بیشینه استخراج، عمل استخراج در مدت زمان‌های متفاوت انجام شد. همان طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود بهترین زمان استخراج در محدوده ۶ تا ۸ ساعت می‌باشد که برای اطمینان از کامل شدن فرآیند استخراج زمان ۸ ساعت به عنوان زمان بهینه انتخاب گردید. با افزایش بیشتر زمان به علت تجزیه شدن بتانین، مقدار جذب کاهش می‌یابد.

۳ـ۳ـ مقایسه میزان عصاره استخراج شده به روش آبگیری و جامد ـ مایع

رنگدانه بتانین در داخل ساختمان سلولی گیاهی قرار دارد و جهت خروج آن لازم است ساختار سلولی گیاهی در هم ریخته شود. در نتیجه هر چقدر چغندرها خردتر شوند تولید عصاره به حداکثر می‌رسد.



شکل ۱: اثر زمان روی مقدار استخراج در روش جامد- مایع (جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر).

با توجه به نتایج به دست آمده در جدول ۲، عصاره استخراج شده از هر دو روش دارای جذب تقریباً یکسانی می‌باشند با این تفاوت که در روش آبگیری حداکثر مقدار آب میوه از دستگاه، در مدت زمان کوتاه‌تری استخراج می‌شود بدون آن که مقادیر قابل توجهی از مواد جامد را به همراه داشته باشد. همچنین با توجه به اینکه هدف تولید ماده رنگزای غذایی می‌باشد مشکلات استفاده از اتانول را ندارد. بنابراین در مطالعات بعدی، استخراج به روش آبگیری انجام پذیرفت.

طیف جذبی عصاره استخراج شده به روش آبگیری نشان داد که عصاره چغندر دارای دو طول موج بیشینه است. طول موج بیشینه ۴۷۸ نانومتر مربوط به بتازانتین و طول موج بیشینه ۵۴۰ نانومتر مربوط به بتاسیانین است. تمام محاسبات انجام شده، در طول موج بیشینه ۵۴۰ نانومتر می‌باشد.

۳ـ۴ـ عوامل مؤثر بر پایداری عصاره استخراج شده

عوامل مختلفی مانند pH، دما و نور بر پایداری عصاره استخراج شده مؤثر هستند. این عوامل سبب می‌شوند تا کاربری عصاره استخراج شده به عنوان یک ماده رنگزای غذایی محدود شود.

اثر pH

شدت رنگ قرمز محلول‌های حاوی بتانین در pH بین ۴ تا ۶ تغییر می‌کند، ولی در pH کمتر از ۴، رنگ آن به بنفش تبدیل می‌شود. این تغییر رنگ تحت شرایط اسیدی قوی به دلیل تبدیل شکل قرمز آنیونی آن به بنفش کاتیونی می‌باشد. در pH بالاتر از ۶ رنگ محلول‌های حاوی بتانین آبی می‌شود. این تغییر رنگ ناشی از جابجایی باتوکرومیک در طول موج ماکزیمم جذب است. بیشترین اثر آبی شدن در pH = ۸ رخ می‌دهد، تحت شرایط قلیایی قوی‌تر رنگ محلول‌های بتانین به سرعت به رنگ قهوه‌ای تغییر کرده و بتانین از بین می‌رود [۸]. با توجه به نتایج به دست آمده از شکل ۲، عصاره استخراج شده در pH = ۵ دارای بیشترین پایداری است. در نتیجه در مطالعات بعدی از pH = ۵ استفاده شد.

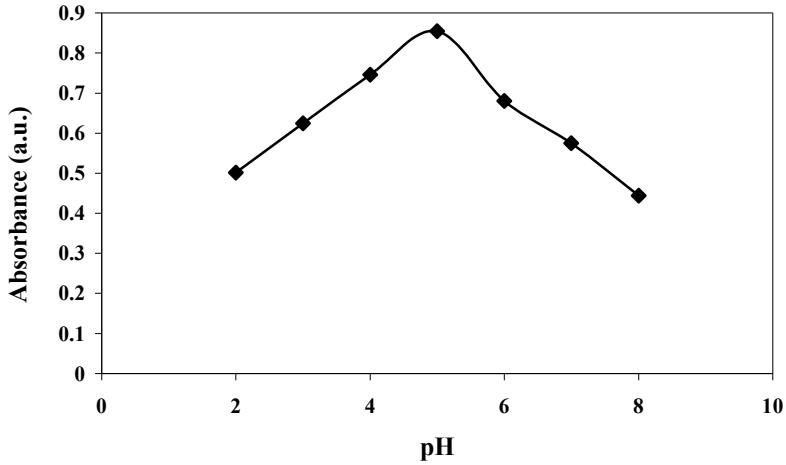
جدول ۲: اندازه‌گیری جذب عصاره استخراج شده با روش‌های استخراج با آبگیری و جامد- مایع.

روش استخراج	مقدار جذب (λ_{max}= ۵۴۰nm)
آبگیری	۰,۶۷۴۸ (۴۰ گرم چغندر)
جامد- مایع	۰,۳۸۹۹ (۲۰ گرم چغندر)

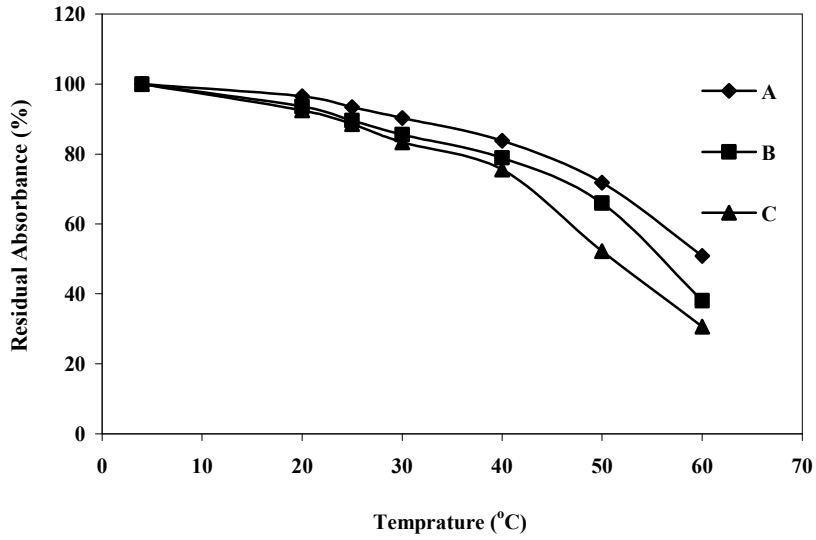
اثر دما

رنگدانه موجود در چغندر نسبت به حرارت حساس بوده و تجزیه می‌گردد [۱۰،۹]. با توجه به نتایج به دست آمده از جدول ۳، عصاره استخراج شده به روش آبگیری در دماهای پایین‌تر از ۲۵ °C پایدار می‌باشد. لذا عصاره استخراج شده در محصولاتی مثل بستنی، شربت‌های یخ، ماست و در خامه‌های مورد استفاده در شیرینی‌پزی کاربرد دارد ولی برای محصولاتی که در حین تولید نیاز به حرارت بالا دارند مناسب نمی‌باشد (شکل ۳).

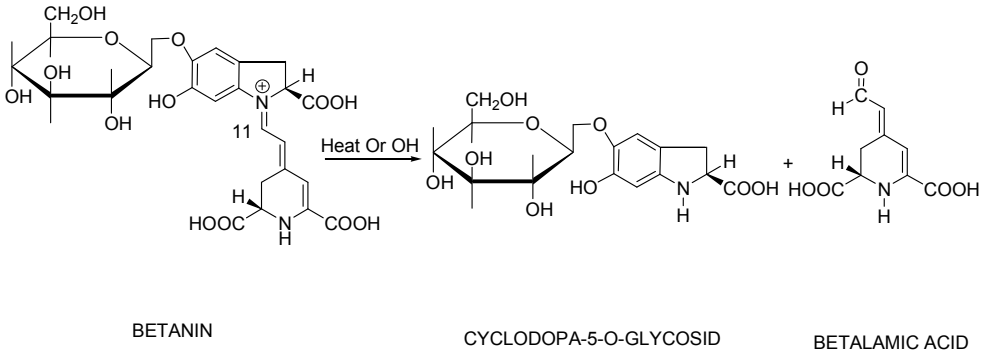
مرحله اصلی در تجزیه بتانین به وسیله حرارت و محیط قلیایی بالا (pH > ۸) شامل شکستن پیوند در موقعیت C-۱۱ می‌باشد که منجر به تشکیل سیکلودوپا- ۵-O- گلایکوزید و اسید بتالیمیک می‌شود. (شکل ۴) [۱۱].



شکل ۲: اثر pH بر روی پایداری عصاره استخراج شده در روش آبگیری (جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر).



شکل ۳: اثر دما در pH = ۵ بر پایداری عصاره استخراج شده (جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر). (A) درصد باقیمانده جذب پس از ۲ ساعت، (B) درصد باقیمانده جذب پس از ۴ ساعت، (C) درصد باقیمانده جذب پس از ۶ ساعت.



شکل ۴: تجزیه بتانین در اثر حرارت و محیط قلیایی قوی (pH > ۸).

جدول ۳: اثر دما روی پایداری در روش آبگیری به مدت ۶ ساعت در pH = ۵.

دما (°C)	درصد باقیمانده جذب (λ_{max}= ۵۴۰nm)			
	زمان (ساعت)			
	۰	۲	۴	۶
۴	۱۰۰	۹۹,۹۹	۹۹,۹۸	۹۹,۹۸
۲۰	۱۰۰	۹۶,۴۹	۹۳,۵۶	۹۱,۴۹
۲۵	۱۰۰	۹۳,۳۸	۸۹,۵۹	۸۸,۵۸
۳۰	۱۰۰	۹۱,۷۸	۸۵,۵۲	۸۳,۳۵
۴۰	۱۰۰	۹۰,۳۳	۷۸,۸۴	۷۵,۴۹
۵۰	۱۰۰	۸۱,۷۲	۷۱,۸۹	۶۱,۲۱
۶۰	۱۰۰	۵۰,۷۹	۳۸,۰۳	۳۰,۵۹

اثر شرایط نور و تاریکی

رنگدانه بتانین نسبت به منابع نوری مختلف از قبیل نور مرئی و فرابنفش حساس بوده و تجزیه می‌شود. نور جذب شده احتمالاً الکترون‌های کروموفور رنگدانه را به یک حالت تحریک شده با انرژی بیشتر (برای مثال π^*) انتقال می‌دهند که باعث کاهش انرژی فعالسازی مولکول و در نتیجه افزایش سرعت تجزیه می‌شود (جدول ۴).

با توجه به نتایج به دست آمده هنگامی که عصاره چغندر در معرض تاریکی، نور مرئی و فرابنفش قرار می‌گیرد به ترتیب بیش از ۵٪، ۱۷٪ و ۱۹٪ تجزیه می‌گردد. در نتیجه عصاره استخراج شده در شرایط تاریکی از پایداری بیشتری برخوردار است.

جدول ۴: اثر نور مرئی، فرابنفش و تاریکی بر پایداری عصاره استخراج شده.

ساعت	درصد باقیمانده جذب (λ_{max}= ۵۴۰nm)		
	تاریکی	نور مرئی	نور فرابنفش
۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۲	۹۸,۷۷	۹۲,۳۴	۹۰,۶۴
۴	۹۸,۳۶	۸۸,۴۸	۸۵,۸۸
۶	۹۷,۹۳	۸۶,۲۷	۸۳,۶۷
۱۲	۹۷,۵۵	۸۵,۸۳	۸۲,۸۵
۲۴	۹۶,۶۵	۸۴,۵۶	۸۱,۹۶
۴۸	۹۵,۷۱	۸۳,۴۷	۸۱,۱۲
۷۲	۹۴,۶۷	۸۲,۶۴	۸۰,۵۶

۳ـ۵ـ تهیه پودر عصاره چغندر قرمز

عصاره به دست آمده از چغندر قرمز را می‌توان به پودر تبدیل کرد تا نگهداری آن آسانتر و پایداری آن بیشتر شود. برای این منظور دو روش خشک‌کردن انجمادی و حلال پرانی مورد بررسی قرار گرفتند که در روش حلال پرانی با توجه به نتایج به دست آمده از جدول ۵ به علت طولانی بودن زمان تبخیر حلال و همچنین اثر نور و درنتیجه کاهش شدید جذب روش مناسبی برای خشک کردن نمی‌باشد.

جدول ۵: مقدار جذب عصاره خشک شده با روش حلال‌پرانی.

مرحله	مقدار جذب (λ_{max}= ۵۴۰nm)
قبل از حلال‌پرانی	۰,۶۵۴۸
بعد از حلال‌پرانی	۰,۰۸۸۶

در خشک کردن انجمادی، از ۱۲۰ گرم چغندر، ۱۲,۴۵۱۹ گرم پودر خشک با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی به دست آمد. با در نظر گرفتن نتایج جدول ۶، تغییر خاصی در جذب مشاهده نگردید، از طرف دیگر با توجه به اینکه این روش نیازمند دمای بالا نمی‌باشد و طعم و رنگ محلول نمونه را تغییر نمی‌دهد، به عنوان روشی مناسب برای خشک کردن عصاره چغندر معرفی می‌شود.

جدول ۶: مقدار جذب عصاره خشک شده با روش خشک‌کن انجمادی.

مرحله	مقدار جذب (λ_{max}= ۵۴۰nm)
قبل از خشک کن انجمادی	۰,۶۱۶۲
بعد از خشک کن انجمادی	۰,۶۰۴۷

۴ـ نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر استفاده از مواد رنگزای طبیعی با توجه به اینکه تعدادی از مواد رنگزای مصنوعی به دلیل ناسالم بودن و در برخی موارد سرطان‌زا بودن از رده مصرف خارج شده‌اند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار گردیده است. محدودیت مصرف مواد رنگزای قرمز مصنوعی موجب شده که تحقیقات وسیعی به منظور تولید این مواد به عنوان افزودنی-های مجاز صورت گیرد. بدین منظور در این تحقیق، پس از عملیات آماده‌سازی نمونه‌های چغندر قرمز، انواع روش‌های استخراج عصاره (آبگیری و استخراج جامد-مایع) و پایداری عصاره تولیدی، تحت شرایط مختلف مانند pH، دما، نور و تاریکی مورد بررسی قرار گرفت. عصاره استخراج شده از روش آبگیری در دماهای پایین‌تر از $^{\circ}C$ ۲۵، ۵ = pH و در شرایط تاریکی از پایداری بیشتری برخوردار می‌باشد. این ماده رنگزای طبیعی و غذایی را می‌توان در فرآورده‌هایی مثل بستنی، شربت‌های یخ، ماست و در رنگ کردن راحت الحلقوم‌ها، پوشش شیرینی‌ها و کرم‌های وسط شیرینی به کار برد.

بنابراین با توجه به رواج کشت چغندر در کشور و ارزانی قیمت آن می‌توان مواد رنگزای غذایی گران قیمت را از آن استخراج کرده و از خروج مقدار قابل ملاحظه‌ای ارز از کشور جلوگیری کرد.

۵ـ مراجع

1. J. D. Dziezak, Applications of food colorants. *J. Food Technol.* 41 (1987), 78-88.
2. A. Downham, P. Collins, Colouring our foods in the last and next millennium. *Int. J. Technol*. 15(2000), 5-22.
3. M. R. Casterllar, J. M. Obon, J. A. Fernandez-Lopez, The isolation and properties of a concentrated red-purple betacyanin food colourant from opuntia stricta fruits. *J. Food Sci.* 86 (2006), 122-128.
4. K. M. Herbach, R. Carle, Betalain stability and degradation structure and chromatic aspects. *J. Food Sci*. 71 (2006), 41-50.
5. A. Pavlov, V. Georgiev, M. Ilieva, Betalain biosynthesis by red beet (beta vulgaris l.) hairy root culture. *Procees Biochem*. 40(2005), 1531-1533.
6. D. Strack, T. Vogt, W. Schliemann, Recent advances in betalain research. *Phytochem. Anal*. 62(2003), 247-269.
7. T. Nilsson, Studies into the pigments in beetroot (Beta Vulgaris L. Ssp. Vulgaris var rubra L). *Lantbrukshogskolans annaler*. 36(1970), 179-219.
8. A. S. Huang, J. H. Elbe, Effect of pH on the degradation and regeneration of betanine. *J. Food Sci*. 52(1987), 1689-1993.
9. J. Czapski, The effect of heating condition on losses and regeneration of betacyanin. *Z. Lebensm unters forsch*. 180 (1985), 21-25.
10. J. Czapski, Heat stability of betacyanins red beet juice and in betanine solutions. *Z. Lebensm unters forsch*. 191 (1990), 275-278.
11. J. P. Adams, J. H. Von Elbe, C. H. Amundson, Production of a betacyanine concentrate by Fermentation of red beet juice with Candida utilis. *J. Food Sci*. 41(1976), 78-81.