

تأثير المعاملة الأنزيمية (التانيز) في جودة عصير الرمان

محمد حسن*⁽¹⁾ وسهيل إبراهيم باشا⁽¹⁾ ومحمد قاسم⁽²⁾

(1). قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة حلب، حلب، سورية.

(2). قسم العلوم الأساسية، كلية الزراعة، جامعة حلب، حلب، سورية.

*للمراسلة: م. محمد حسن. البريد الإلكتروني: muhammad.hasan15346@gmail.com.

تاريخ القبول: 2020 / 09 / 2

تاريخ الاستلام: 2020 / 07 / 13

الملخص:

نُفذت هذه الدراسة في مخابر قسم علوم الأغذية بكلية الزراعة في جامعة حلب، وذلك خلال عام 2019 وتناولت الدراسة الحالية معاملة عصير الرمان (الصفن الفرنسي) بالمستخلص الأنزيمي الخام للتانيز المنتج من العزلة الفطرية التابعة للنوع *Aspergillus niger* ذو الفعالية الأنزيمية (27.48 وحدة أنزيمية/مل)، بقصد خفض محتوى المركبات التانينية المسؤولة عن تدهور جودة هذا العصير، ودراسة تأثير هذه المعاملة ومدى انعكاسها على بعض الصفات النوعية للعصير. حُددت بدايةً الظروف المثلى لهذه المعاملة بدراسة تأثير كل من عاملي كمية الأنزيم المضافة (0.5، 1، 1.5، 2) مل، ومدة المعاملة (30، 60، 90، 120، 150) دقيقة. أظهرت نتائج التحليل الإحصائي أن المعاملة المثلى في خفض محتوى التانينات كانت بإضافة 1 مل من المستخلص الأنزيمي الخام للتانيز إلى 9 مل من العصير، والاستمرار في المعاملة لمدة 120 دقيقة، إذ خفضت المعاملة الأنزيمية ضمن هذه الظروف محتوى التانينات في العصير بنسبة 43% مقارنة بمعاملة الشاهد، كما بينت النتائج التأثير الإيجابي للمعاملة الأنزيمية باستخدام التانيز في درجة عكارة العصير ومحتواه من السكريات المختزلة ونسبة المواد الصلبة الذوابة، فقد أدت المعاملة الأنزيمية باستخدام التانيز لخفض معنوي في درجة عكارة العصير بنسبة 39%، وارتفاع معنوي في محتوى السكريات المختزلة ونسبة المواد الصلبة الذوابة بنسبة 13%، و2% على التوالي وذلك بالمقارنة مع معاملة الشاهد. في حين كان تأثير المعاملة الأنزيمية سلبياً في محتوى المركبات الفينولية والانتوسيانينية وحمض الاسكوربيك في العصير، إذ تسببت هذه المعاملة بخسارة 7%، 5%، 30% على التوالي في محتوى هذه المركبات مقارنة بمعاملة الشاهد. ولم تبدي المعاملة الأنزيمية للعصير أي فروق معنوية من حيث نسبة الحموضة الكلية ورقم الحموضة pH مقارنة بمعاملة الشاهد.

الكلمات المفتاحية: التانيز، التانينات، معالجة أنزيمية، عصير الرمان.

المقدمة:

يُعد الرمان *Punica granatum L.* أحد أقدم الثمار الصالحة للأكل التي عرفها الإنسان، وتستهلك ثماره طازجة أو بشكل عصير أو بشكل مركزات تُضاف لبعض الأغذية المصنعة لإكسابها الطعم والنكهة المميزة، واكتسبت هذه الثمار مؤخراً اهتماماً كبيراً لما لها من فوائد صحية وغذائية مميزة، إذ تحوي على قدر جيد من السكريات البسيطة (الغلوكوز والفركتوز)، مما يجعل منها مصدراً جيداً للطاقة السريعة، بالإضافة إلى غناها بالبوتاسيوم وحمض الاسكوربيك (فيتامين C) والنياسين (فيتامين B3) والكثير من المركبات الفعالة الذوابة في الدهون كالستيرولات والستيرويدات النباتية، وكذلك الوقاية من الأمراض الخطرة كأمراض القلب الوعائية والأورام السرطانية لغناها بمضادات الاكسدة (المركبات الفينولية والأنثوسيانية) (البيطار، 2015).

نظراً لموسمية إنتاج ثمار الرمان فقد تم التوجه نحو تصنيع العصائر والمركزات لتأمينها بالصورة التي يريدها المستهلك على مدار العام، غير أن غنى هذه الثمار بالتانينات يُؤثر سلباً في الخصائص الحسية والغذائية لمنتجاتها من عصائر ومركزات، مما يؤدي إلى تدني قيمتها التسويقية، فالتانينات هي المسؤولة عن الطعم المر والأثر القابض والمظهر الضبابي في عصير الرمان الطازج، إضافة إلى تكوينها للعكارة والرواسب وحدوث التغيرات اللونية السلبية وتطور الطعم المر عند تخزينها، مما يُفقد هذه العصائر جزءاً كبيراً من رونقها ومظهرها (Kuamar and Kumar, 2012). علاوةً عليها المضاد للتغذية والذي يتجلى في خفض قدرة الجسم على الانتفاع من العناصر الغذائية، وذلك لقدرتها على تكوين معقدات مع البروتينات والكربوهيدرات والأنزيمات الهاضمة والعناصر المعدنية، وعليه فإن استهلاك أغذية وأشربة غنية بالتانينات يؤدي إلى تثبيط الأنزيمات الهاضمة وخفض معامل هضم البروتينات والنشاء وتحوّل من امتصاصها علاوةً لظهور أعراض نقص العناصر المعدنية (Delimont, 2017). وبذلك ظهرت حاجة ماسة وضرورية للتخلص من التانينات في العصائر لضمان التسويق الأمثل لها والاستفادة من قيمتها الغذائية، ولهذا لجأ الباحثون في بداية الأمر إلى التخلص من التانينات بطرائق عديدة منها المعاملة الحرارية أو استخدام عوامل ترسيب (الجيلاتين، البننونايت) أو استخدام المرشحات الدقيقة، غير أن التأثيرات السلبية المترافقة لهذه التقنيات من خسارة لمركبات النكهة والطعم الحلو واللون والعديد من المركبات الفعالة حيوياً دفعت الباحثين إلى إيجاد تقنية جديدة ومبتكرة اعتمدت على استخدام الأنزيمات في معالجة عصائر الفاكهة للتخلص من التانينات، وتتميز هذه التقنية عن سواها بالتنوع وبظروف عمل عند درجات حرارة معتدلة (Özge et al., 2012).

عرف الأنزيم الذي يعمل على تحليل التانينات باسم التانيز Tannase (تانين أسيل هيدروليز Tannin acyl hydrolase)، والذي اكتشف عام 1867 من قبل الباحث Van Tieghem، وأعطى التصنيف (Ec:3.3.1.20) وفقاً للاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية (Banerjee and Mahapatra, 2012)، ويُعد أحد الأنزيمات الصناعية الهامة، والذي يتبع إلى مجموعة إنزيمات التحلل المائي، إذ يُحفز حلمأة الروابط الأستيرية في التانينات القابلة للتحلل المائي مثل حمض التانيك Tannic acid والذي ينتج عن حلمأته حمض الغاليك والغلوكوز، وتُعد الكائنات الحية الدقيقة وخصوصاً الفطور من أهم مصادر أنزيم التانيز، وذلك لقدرتها على إنتاج كميات كبيرة من الأنزيم خلال مدة قصيرة (Govindarajan et al., 2016). واستخدم Rout and Banerjee (2006) ولأول مرة مستخلص أنزيم التانيز الخام والمُنتج من فطر *Aspergillus foetidus* في ترويق عصير الرمان، وأظهرت النتائج انخفاض محتوى التانينات في العصير بمقدار 25%.

وتميزت العصائر المعاملة بالتانيز عموماً بمزايا كثيرة مثل: الجودة العالية للعصير الطازج من خلال تقليل الطعم المرّ وخفض الضبابية، بالإضافة لمنع تدهور جودة العصائر المخزنة من خلال منع تكوّن الرواسب ومنع تطوّر الطعم المرّ واللون الداكن، مع المحافظة على القيمة الغذائية والحيوية للعصير الناتج (Beniwal et al., 2013).

بناءً على ما تقدم وعلى القيمة التطبيقية لهذا الأنزيم والذي يؤدي إلى الحصول على منتجات رمان ذات جودة عالية، ولعدم وجود أبحاث محلية مماثلة في هذا المجال، يهدف البحث إلى الحصول على عملية ترويق باستخدام المستخلص الأنزيمي (التانيز) التي تحسن من جودة عصير الرمان المُنتج، وتحافظ على خصائصه التغذوية والحيوية والصحية.

مواد البحث وطرقه:

- تحديد الظرف الأمثل في خفض في محتوى عصير الرمان من التانينات:

اعتمد في الدراسة على المستخلص الأنزيمي الخام للتانيز المنتج من العزلة الفطرية التابعة للنوع *Aspergillus niger* ذو الفعالية الأنزيمية (27.48 وحدة أنزيمية/مل) (حسن وآخرون، 2020)، وفقاً لسلسلة من كميات الأنزيم المضافة (0.5، 1، 1.5، 2) مل، وأيضاً ضمن سلسلة زمنية من مدة المعاملة (30، 60، 90، 120، 150) دقيقة وبوجود شاهد غير معاملة، لتحديد مدى قدرة تلك المعاملات على خفض محتوى التانينات في عصير الرمان (الصنف الفرنسي)، والذي حُضِر بغسل الثمار بماء جاري للتخلص من الغبار والملوثات، وجفف بعدها السطح الخارجي للثمار بواسطة قطعة قماش جافة ونظيفة، ثم قطعت الثمار إلى انصاف ليستخلص منها العصير باستخدام آلة العصر ذات الأقماع المخروطية، وشرح العصير بعد ذلك للتخلص من بقايا التفل والمواد الصلبة العالقة، وقدّر محتوى التانينات المتبقي في العصير بعد سلسلة من المعاملات المختلفة وفقاً لطريقة ترسيب البروتين بالتانينات الموصوفة من قبل (Haggerman and Butler 1978) لتقدير التانينات. وعُبر عن محتواها في العصير بـ ملغ/100 مل على أساس مكافئات حمض التانيك.

- تأثير المعاملة الأنزيمية في بعض الصفات النوعية لعصير الرمان:

دُرِس تأثير المعاملة الأنزيمية في بعض الصفات النوعية لعصير الرمان المعامل بـ 1 مل من المستخلص الأنزيمي ولمدة 120 دقيقة (الظروف المثلى) في خفض محتوى التانينات في العصير وفقاً للنتائج التي ستعرض لاحقاً، ودوماً بوجود الشاهد الذي ترك به العصير دون معاملة أنزيمية.

تقدير العكارة:

حُدِدت درجة العكارة في العصير بقراءة الكثافة الضوئية عند موجة ضوئية طولها 700 نانومتر، بعد تمديد العصير بنسبة 2:1 بالماء المقطر وترشيحه عن طريق امراره على مرشح غشائي قطر مسامه 0.45 ميكرون (Valero et al., 2014).

تقدير محتوى الفينولات الكلية:

استخدمت طريقة Folin-Ciocalteu لتقدير محتوى الفينولات الكلية، وعُبر عن محتواها في العصير بـ ملغ/100 مل على أساس مكافئات حمض الغاليك (AOAC, 2006).

تقدير محتوى الانثوسيانينات الكلية:

أُتبعَت طريقة pH-التفريقية التي وصفها (Lapornik et al., 2005) في تقدير محتوى الانثوسيانينات الكلية، وعُبر عن محتواها في العصير بـ ملغ/100 مل على أساس مكافئات cyanidin-3-glucoside.

تقدير محتوى حمض الاسكوربيك:

قُدِّر محتوى حمض الاسكوريك في العصير وفقاً لطريقة المعايرة باستخدام صبغة 2,6-Dichloroindophenol (AOAC, 2006).

تقدير محتوى السكريات المختزلة:

قُدِّر محتوى السكريات المختزلة في العصير بالمعايرة بواسطة محلول فهلنغ وفقاً لطريقة Lane and Eynon (Ranganna, 1999).

تقدير الحموضة الكلية:

قُدِّر الحموضة الكلية للعصير بطريقة المعايرة باستخدام محلول ماءات الصوديوم NaOH (N 0.1) حتى الوصول إلى pH=1.8، وتم التعبير عن الحموضة الكلية كنسبة مئوية من حمض الستريك (AOAC, 2006).

قياس رقم الحموضة pH:

قيس pH العصير باستخدام جهاز pH meter.

قياس المواد الصلبة الذوابة الكلية:

قيست المواد الصلبة الكلية في العصير باستخدام جهاز الريفراكتومتر (RX5000 i, Japan Atag) عند درجة 20°س، وتم التعبير عن المواد الصلبة الذوابة الكلية بدرجة °xriB.

- التحليل الاحصائي:

حللت النتائج الخاصة بدراسة تأثير المعاملة الأنزيمية في محتوى التانينات في عصير الرمان بتحليل التباين وفقاً للعامل الواحد One-Way ANOVA، وتم مقارنة المتوسطات الحسابية لتحديد الفروقات بين المعاملات وفق اختبار Duncan متعدد الحدود، أما فيما يخص النتائج الخاصة بالصفات النوعية للعصير المعامل فقد حل وفقاً لاختبار T للعينات غير المستقلة، وتم إجراء التحليل باستخدام برنامج IBM SPSS Statistics 24 وعند مستوى معنوية 1%.

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج اختبار تأثير كمية المستخلص الأنزيمي الخام في تحليل التانينات المتواجدة في عصير الرمان وجود فروق معنوية بين الشاهد والمعاملات كافة وبين المعاملات بحد ذاتها، حيث بلغت كمية التانينات في معاملة الشاهد 207.71 ملغ/100مل لتتخفف إلى 169.57 ملغ/100مل عند المعاملة بكمية 0.5 مل من المستخلص، حيث تمكن المستخلص عند هذه الكمية من تخفيض التانينات بنسبة 18.36% (الجدول 1)، لترتفع نسبة تحلل التانينات إلى 43% عند كمية المعاملة (1، 1.5، 2) مل، وبدون فروق معنوية فيما بينها. ولذلك وبالاعتماد على هذا التحليل الاحصائي فإن الكمية المثلى للمستخلص الأنزيمي لمعاملة عصير الرمان هي 1 مل، والتي اعتمدت في الجزء الثاني من هذا الاختبار من أجل تحديد المدة الزمنية المثلى لمعاملة العصير بالمستخلص الأنزيمي،

الجدول (1): محتوى التانينات في عصير الرمان المعامل بالمستخلص الأنزيمي الخام ولمدة 120 دقيقة.

كمية المستخلص الأنزيمي (مل)					الشاهد	محتوى التانينات ملغ/100مل
2.0	1.5	1.0	0.5			
118.03 a	118.12 a	118.22 a	169.57 b	207.71 c		

الحروف a, b, c تعني وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية 1%.

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (2) بأنه كان للتباين في زمن المعاملة بالمستخلص الأنزيمي تأثيراً واضحاً في كمية التانينات المتحللة، حيث زاد انخفاض محتوى العصير من التانينات بزيادة مدة المعالجة وبفروق معنوية في كل مدة زمنية وأخرى إلى أن وصلت مدة المعاملة إلى 120 و150 دقيقة، حيث لم يظهر أي فارق معنوي بين هذه المعاملتين (الجدول 2)، فقد حدث تحلل لـ 14.21% من تانينات العصير عند معالته بالمستخلص الأنزيمي لمدة 30 دقيقة لتكون كمية التانينات المتبقية في العصير بعد هذه المدة 178.18 ملغ/100مل بعدما كانت 207.71 ملغ/100مل في معاملة الشاهد، لترتفع نسبة التانينات المتحللة إلى 27.88% بعد معاملة العصير لمدة 60 دقيقة، وتكون كمية التانينات المتبقية في العصير عندها 149.78 ملغ/100مل، في حين ارتفعت نسبة التحلل للتانينات عند معاملة العصير لمدة 90 دقيقة إلى 37.04%، ويكون المتبقي من التانينات في العصير 130.76 ملغ/100مل، وبعد معاملة العصير لمدة 120 دقيقة بالمستخلص الأنزيمي انخفضت كمية التانينات المتبقية إلى 118.12 ملغ/100مل، لتصل نسبة التانينات المتحللة في العصير إلى 43.03%، ولم تبدي الزيادة في مدة المعاملة بعد ذلك فروقاً معنوية في كمية التانينات المتحللة. وعليه فإن المدة الزمنية للمعاملة بالمستخلص الأنزيمي الخام (1 مل) هي ساعتان فقط. لذلك كما ذكر فإن نتائج تأثير المعاملة الأنزيمية في بعض الصفات النوعية على عصير الرمان، والتي ستورد تباعاً كانت عند المعاملة بـ 1 مل من المستخلص الأنزيمي الخام ولمدة 120 دقيقة (المعاملة الأفضل).

الجدول (2): مدة المعاملة المثلى لعملية الترويق الأنزيمي لعصير الرمان.

مدة الحضانة (دقيقة)						الشاهد	محتوى التانينات ملغ/100مل
150	120	90	60	30			
118.15 a	118.33 a	130.76 b	149.78 c	178.18 d	207.71 e		

الحروف a, b, c, d, e تعني وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية 1%.

فيما يخص تأثير هذه المعاملة الأنزيمية ومدى انعكاسها على الصفات النوعية للعصير، أوضحت التحاليل الإحصائية وقوع المؤشرات المدروسة ضمن ثلاث مجموعات، الأولى تأثرت إيجاباً بالمعاملة الأنزيمية (درجة العكارة، محتوى السكريات الكلية، ونسبة المواد الصلبة الذوابة)، والثانية تأثرت سلباً بالمعاملة (محتوى الفينولات الكلية، محتوى الانثوسيانينات الكلية، محتوى حمض الاسكوربيك)، والثالثة لم تتأثر بهذه المعاملة (نسبة الحموضة الكلية، رقم الحموضة pH)، إذ كان الفرق لكلا هذين المؤشرين غير معنوي بين العصير المعامل أنزيمياً ومعاملة الشاهد (الجدول 3). وبالعودة إلى المجموعة الأولى أي ذات التأثير الإيجابي والتي تضمنت ثلاث مؤشرات، تضمن المؤشر الأول جودة العصير من حيث درجة عكارتها، حيث أدت المعاملة الأنزيمية لخفض في درجة عكارة العصير، وهذا يرجع لتأثير المعاملة الأنزيمية في خفض محتوى التانينات في العصير، فقد بلغت قيمة الكثافة الضوئية لعصير الرمان غير المعامل (0.4677 نانومتر)، لتتخفض هذه القيمة معنوياً إلى (0.2660 نانومتر) في العصير المعامل، أي انخفاض عكارة العصير بنسبة 38.83% (الجدول 3). أما المؤشر الإيجابي الثاني فكان محتوى السكريات المختزلة، إذ أدت المعاملة الأنزيمية إلى ارتفاع معنوي في محتوى هذه السكريات في العصير مقارنة بمعاملة الشاهد، مما يعكس إيجاباً على الطعم الحلو للعصير، فقد بلغ محتوى السكريات المختزلة في العصير غير المعامل (14.35%)، لتصل إلى (16.27%) بعد المعاملة، ويُعزى هذا الارتفاع في محتوى السكريات المختزلة إلى فعالية أنزيم التانيز في حلمأة التانينات إلى مشتقاتها ومن ضمنها الغلوكوز [12]. أما بالنسبة لمحتوى المواد الصلبة الذوابة الكلية في العصير، فقد أدت المعاملة الأنزيمية إلى زيادة معنوية في

محتواها وذلك بنسبة 2.08%، وربما يعود السبب في ذلك إلى ارتفاع عدد الجزيئات المنتشرة داخل العصير والناجمة عن عمل أنزيم التانيز وقدرتها على أمهة التانينات. وفيما يخص المجموعة الثانية أي ذات التأثير السلبي فقد تضمنت ثلاث مؤشرات: المركبات الفينولية (مضادات أكسدة) والمركبات الانثوسيانينية (صبغات ومضادات أكسدة) وحمض الاسكوريك (فيتامين C)، وبينت النتائج انخفاض معنوي في محتوى كل من هذه المركبات في العصير المعامل أنزيمياً مقارنة بمعاملة الشاهد، إذ خفضت المعاملة الأنزيمية من كمية المركبات الفينولية في العصير، فقد كانت كميتها في معاملة الشاهد (967.08 ملغ/100مل) لتتخفض إلى (898.18 ملغ/100مل) في العصير المعامل، أي خسارة 7.14% من محتواها. في حين كان مقدار الفقد في المركبات الانثوسيانينية للعصير بعد المعاملة الأنزيمية 5.11%، إذ بلغ محتواها في معاملة الشاهد (85.85 ملغ/100مل)، لينخفض إلى (81.46 ملغ/100مل) في العصير المعامل. أما بالنسبة إلى محتوى حمض الاسكوريك في العصير بعد المعاملة الأنزيمية فقد بلغ (6.15 ملغ/100مل)، بعد كانت كميتها في معاملة الشاهد (8.82 ملغ/100مل)، أي بخسارة بلغت 30.27%. ورغم التأثير السلبي لهذه المعاملة في كمية المركبات أنفة الذكر ألا النتائج كانت أفضل من طرق الترويق الأخرى والتي يعتمد جُلها على استخدام الجيلاتين كعامل للترويق، فقد وجد Özge et al. (2012) انخفاض في كمية الانثوسيانينات بنسبة 20.89% في عصير الرمان بعد ترويقه باستخدام الجيلاتين (1 غ/ل) [19]. كما ذكر وهبي وآخرون (2017) انخفاض في كمية المركبات الفينولية والانثوسيانينية بعد معاملة عصير الرمان بالجيلاتين (2 غ/ل) وذلك بنسبة 30.28% و8.81% على التوالي. في حين درس Valero et al. (2014) تأثير ثلاث طرق ترويق على عصير الرمان وذلك باستخدام البننتونيت (2 غ/ل) والاليومين (2 غ/ل) والترشيح الفائق ووجد انخفاض في كمية المركبات الفينولية بنسبة 19.59% و18.35% و8.16% على التوالي.

الجدول (3): تأثير المعاملة الأنزيمية في بعض الصفات النوعية لعصير الرمان.

الاختبار	الشاهد (غير المعامل)	المعاملة الأنزيمية	قيمة Sig
العكارة (نانومتر)	0.4677	0.2860	*0.00
الفينولات الكلية (ملغ/100مل)	967.08	898.18	*0.00
الانثوسيانينات الكلية (ملغ/100مل)	85.85	81.46	*0.00
حمض الاسكوريك (ملغ/100مل)	8.82	7.15	*0.00
السكريات المختزلة (%)	14.35	16.27	*0.00
المواد الصلبة الذوابة الكلية (°Brix)	14.41	14.71	*0.009
نسبة الحموضة الكلية (%)	1.62	1.64	0.225
رقم الحموضة Hp	3.24	3.21	0.560

تشير * إلى وجود فروق معنوية عند مستوى المعنوية 1%.

توافقت هذه الدراسة مع الكثير من الدراسات المرجعية المجراة على الصعيد العالمي، والتي أكدت جُلها على تحسين جودة عصير الرمان المعامل أنزيم التانيز، لكنها تباينت في قدرة الأنزيم في خفض كمية التانينات في العصير. وابتداءً من Rout and Banerjee (2006) اللذان استخدموا 1 مل من أنزيم التانيز المُنتج من فطر *Aspergillus foetidus* (35.6 وحدة/مل) في ترويق 10 مل عصير الرمان، وأظهرت نتائجها انخفاض محتوى التانينات في العصير بمقدار 25% بعد 120 دقيقة من المعاملة، مع تسجيل انخفاض في محتوى حمض الاسكوريك والمركبات الفينولية بمقدار 8.69%، و7.61% على التوالي، وارتفاع نسبة السكريات الكلية بمقدار 9.86%. وقام (Murugan et al, 2008) بترويق 10 مل من عصير الرمان بوساطة 1.5 مل من أنزيم التانيز المنتج من بكتيريا *Citrobacter freundii* (0.432

وحدة/ملغ)، وسجلوا انخفاض في محتوى التانينات مقداره 55% بعد 120 دقيقة من بدأ عملية المعاملة، كما لم يُسجلوا أي فروق معنوية في محتوى العصير من البروتين والحموضة الكلية وحمض الاسكوريك، بينما سجلوا ارتفاعاً معنوياً في محتوى السكريات المختزلة بمقدار 19.75%. واختبر Hamdy and Fawzy (2012) فعالية أنزيم التانيز (17.32 وحدة/مل) المُنتج من فطر *Aspergillus niger* في إزالة التانينات من 10 مل من عصير الرمان، ووجدوا انخفاضاً في محتوى التانينات بمقدار 45% بعد 120 دقيقة من المعاملة. وأوضح Kapoor and Iqbal (2013) أن إضافة من 4 مل أنزيم التانيز (32 وحدة/مل) المُنتج من فطر *Trichoderma harzianum* لترويق 8 مل عصير الرمان، قد خفض من محتوى التانينات بمقدار 35%. كما تمكن Nandi and Chatterjee (2016) إزالة 56% من تانينات عصير الرمان بعد معاملته لمدة 120 دقيقة بـ 1 مل من أنزيم التانيز (173 وحدة/غ) المُنتج من فطر *Aspergillus niger*.

الاستنتاجات:

- 1- خفضت المعاملة الأنزيمية باستخدام المستخلص الأنزيمي الخام للتانيز من محتوى التانينات في عصير الرمان بنسبة 43.03%، مما انعكس إيجاباً على درجة عكارتته والتي انخفضت بنسبة 38.83%.
- 2- أدت هذه المعاملة لزيادة معنوية في محتوى السكريات المختزلة وذلك بنسبة 11.80%.
- 3- سببت هذه المعاملة خسارة طفيفة في محتوى عصير الرمان من المركبات الفينولية والانثوسيانينية وحمض الاسكوريك.
- 4- لم تبدي هذه المعاملة تأثيراً معنوياً في نسبة الحموضة الكلية ورقم الحموضة لعصير الرمان.

المراجع:

- البيطار، علائي داود (2015). أشجار الفاكهة. عمادة البحث العلمي والدراسات العليا، جامعة القدس المفتوحة، فلسطين. 473 صفحة.
- حسن، محمد وإبراهيم سهيل باشا ومحمد قاسم (2020). تقدير فعالية أنزيم التانيز من بعض مصادره الحيوية. مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الزراعية، العدد 141.
- كالوك، وهبي (2017). تأثير طرائق العصر والمعاملة الحرارية والترويق في بعض مضادات الاكسدة لعصير الرمان ومركزاته. رسالة ماجستير. قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة حلب، سوريا. 120 صفحة.
- AOAC. (2006). Official methods of analysis. In: Horwitz, W., Latimer, G.W. (Eds.), Current through revision 1. 18 ed Maryland, USA.
- Banerjee, D.; and S. Mahapatra (2012). Fungal Tannase: A journey from strain isolation to enzyme application. Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology. Vol. 6(2): 49-60, 2012.
- Beniwal V.; and A. Kumar; J. sharma; and V. Chhokar (2013). Recent advances in industrial application of tannase: A Review. Recent Patenis Biotechnology. Vol 7: 228-233, 2013.
- Delimont, N.M. (2017). Factors affecting food aid: evaluating new fortified-blended foods and the clinical impact of tannin and phytic acid consumption on iron bioavailability. Ph.D Theses. College of Human Ecology, Kansas State University, U.S.A. Pp 112.
- Govindarajan, R.K.; S. Revathi; N. Rameshkumar; M. Krishnan; and N. Kayalvizhi (2016). Microbial Tannase: Current perspectives and biotechnological advances. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. Vol 6: 168–175, 2016.
- Haggerman, A.A.; and L.G. Butler (1978) Protein precipitation method for determination of

- tannins. Journal Agricultural Food Chemistry. Vol. 26: 809-812, 1978.
- Hamdy H.S.; and E.M. Fawzy (2012) Economic production of tannase by *Aspergillus niger* van Tiegh adopting different fermentation protocols and possible applications. Romanian Biotechnological Letters. Vol. 17(4): 7441-7457, 2012.
- Kapoor, A.; and H. Iqbal (2013). Efficiency of tannase produced by *Trichoderma harzianum* MTCC 10841 in pomegranate juice clarification and natural tannin degradation. International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research. Vol. 4(6): 641-650, 2013.
- Kuamar A. P.; and U. Kumar (2012). Tannins are astringent. Journal of Pharmacognosy and Photochemistry. Vol. 1(3): 45-50, 2019.
- Lapornik, B.; M. Prosek; and A. Wondra (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. Journal of Food Engineering. Vol. 71: 214-222, 2005.
- Nandi, S.; and A. Chatterjee (2016) Extraction, partial purification and application of tannase from *Aspergillus niger* MTCC 2425. International Journal of Food Science and Nutrition. Vol. 1(3): 20-23, 2016.
- Murugan S.; P.U. Devi; P. Mahesh; and K.R. Mani (2008) Production of tannase by *Citrobacter freundii* under solid state fermentation and its application in fruit juices debittering. Biosciences Biotechnology Research Asia. Vol. 5(1): 301-306, 2008.
- Özge, T.; T. Meltem; Y. Oktay; and Ö. Mehmet (2012). Effects of clarification and storage on anthocyanins and color of pomegranate juice concentrates. Journal of Food Quality. Vol. 35: 272-282, 2019.
- Ranganna, S. (1999). Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products. McGraw-Hill Publishing Company.
- Rout, S.; and R. Banerjee (2006). Production of tannase under mSSF and its application in fruit juice debittering. Indian Journal of Biotechnology. Vol 5: 346-350, 2006.
- Valero, M.; S. Vegara; N. Marti; and D. Saura (2014). Clarification of pomegranate juice at industrial scale. Journal of Food Processing and Technology. Vol. 5(5): 212-219, 2014.

The Effect of Enzymatic Treatment (Tannase) on the Quality of Pomegranate Juice

Muhammad Hasan ^{*(1)}, Suhel Ibrahim Basha ⁽¹⁾ and Mohammed Kassem ⁽²⁾

(1). Dept. of Food Science, Faculty of Agricultural Engineering, Aleppo University, Aleppo, Syria.

(2). Dept. department of basic Science, Faculty of Agricultural Engineering, Aleppo University, Syria.

(*Corresponding author: Eng. Mahammad Hasan. E-Mail: muhammad.hasan15346@gmail.com).

Received 13 / 07/ 2020

Accepted 2 / 09 / 2020

Abstract

The current study was to determine the possibility of reducing the amount of tannin in fresh pomegranate juice (French cultivar) after its treatment with an enzymatic extract of a fungal isolate *Aspergillus niger* of which has the enzymatic effectiveness (27.48 U/ml), and The effect of this treatment on the qualitative characteristics of pomegranate juice output. The optimal conditions for this treatment were initially determined by the effect of the amount of enzyme added (0.5, 1, 1.5 ,2) ml, and the duration of the treatment (30, 60, 90, 120, 150) minute, this study was investigated at the laboratories of the Department of Food Sciences at the Faculty of Agriculture, University of Aleppo in 2019. The results of the statistical analysis showed that the optimum treatment in reducing tannins content was by adding 1 ml of the raw enzymatic extract of tannase to 9 ml of juice, and continuing the treatment for 120 minute, as an enzymatic treatment in these conditions reduced the content of tannins in the juice by 43% compared to control, and the results showed a positive effect of this treatment on the degree of juice turbidity and its content of reducing sugars and the ratio of soluble solids. The enzymatic treatment decreased significantly in the degree of juice turbidity by 39%, and an increase in the content of reduced sugars and the proportion of soluble solids by 13%, 2% respectively. when compared to control. Whereas this treatment hurt the juice's content of phenolic and anthocyanin compounds and ascorbic acid, which caused a loss of 7, 5, 30% respectively. This enzymatic treatment did not show any meaningful differences from total pH and pH level compared to the control.

Keywords: Tannase, Tannins, Enzymatic treatment, Pomegranate juice