

بررسی شاخص‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی در کنسانتره انگور سیاه سردشت با روش سطح پاسخ

حجت بکشلو^{۱*}، میرخلیل پیروزی فرد^۲، محمد عزیزاده خالد آباد^۳، صابر امیری^۴

۱- مربی گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده شهید بهشتی ارومیه، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، ارومیه، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۴- دکتری تخصصی میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۴)

چکیده

به منظور پی بردن به میزان واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی، اندازه‌گیری مقدار تشکیل ۵-هیدروکسی متیل فورفورال و شاخص قهوه‌ای شدن انجام می‌گیرد. در این مطالعه، سینتیک تشکیل پیگمان‌های قهوه‌ای در کنسانتره انگور سیاه سردشت (رقم رشه) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور نمونه‌ها با سه بریکس (۶۰/۵، ۶۵/۶ و ۷۰/۷)، در سه دمای (۵، ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۸۵ روز نگهداری شدند. علاوه بر شاخص‌های فوق، رنگ نمونه‌ها توسط دستگاه هانتر لیب نیز مورد آزمون قرار گرفت. آنالیز داده‌ها نشان داد که هر سه فاکتور مورد مطالعه یعنی بریکس، زمان و دمای نگهداری کنسانتره بر میزان تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال تاثیر معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$). با افزایش هر سه فاکتور مقدار تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال در کنسانتره افزایش یافت و میزان آن بین ۰/۵۷ (mg/kg) الی ۵۰/۶ (mg/kg) بود. همچنین هر سه فاکتور مورد مطالعه بر میزان شاخص قهوه‌ای شدن تاثیر معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$) و میزان آن بین ۱/۰۵۴ و ۱/۳۳۳ بود.

کلید واژگان: هیدروکسی متیل فورفورال، شاخص قهوه‌ای شدن، کنسانتره انگور رقم رشه، نگهداری.

۱- مقدمه

رنگ قهوه‌ای، باعث ایجاد طعم نامطلوب در ماده غذایی، کاهش ارزش تغذیه‌ای محصولات و تولید مواد سمی و عوامل ایجاد کننده جهش (موتاسیون) در سیستم بیولوژیک می‌باشد [۹ و ۱۰]. انواع قندها و قدرت احیاکنندگی آنها، انواع آمینواسیدها، pH، دما، اسیدیته، فعالیت آبی و غلظت یون‌های فلزی مثل سدیم، کلسیم و منیزیم در قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی دخالت دارند [۱۱ و ۱۲]. ۵-هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) یک آلدهید فورانیک است که در طی فرایند حرارتی و رطوبت پایین تحت شرایط اسیدی از طریق واکنش مایلارد از قندها تشکیل می‌شود [۱۳]. به منظور پی بردن به شدت واکنش‌های قهوه‌ای شدن (واکنش مایلارد) اندازه‌گیری مقدار تشکیل HMF به ویژه در شرایط اسیدی و شاخص قهوه‌ای شدن (BI) انجام می‌گیرد [۱۴ و ۱۵]. با توجه به اینکه ۶۰ درصد کنسانتره کشور در استان آذربایجان غربی تولید می‌شود باید تحقیقات اساسی در زمینه بهبود کیفیت این محصول صورت گیرد. همچنین با توجه به اثرات زیانبار واکنش قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی در کنسانتره لازم است شرایط مناسب برای ممانعت از تشکیل پیگمان‌های قهوه‌ای در کنسانتره بررسی شود. برای جلوگیری از واکنش فوق باید عوامل درجه حرارت، غلظت کنسانتره و همچنین مدت زمان نگهداری آن تحت کنترل قرار بگیرد [۱۶]. هدف از انجام این تحقیق، مطالعه و بررسی فاکتورهای موثر بر واکنش قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی در کنسانتره انگور سیاه سردشت در طول نگهداری آن می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده سازی نمونه‌ها

۲۴ نمونه کنسانتره انگور سیاه، که از کارخانه پاکدیس ارومیه تهیه شده بود، طبق جدول ۱ در شیشه‌های ۳۰۰ گرمی و در سه بریکس (۶۰/۵ و ۶۵/۶ و ۷۰/۷) آماده سازی شد (طبق طرح Box-Behnken) و در دماهای ۵، ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در سه انکوباتور نگهداری شد و در سه بازه زمانی ۵، ۴۵ و ۸۵ روز و در سه تکرار مورد آزمایش قرار گرفت.

۲-۲- آزمایش تعیین هیدروکسی متیل

فورفورال

در این روش، هیدروکسی متیل فورفورال با باربیتوریک اسید و محلول پاراتولوئیدین واکنش داده و رنگ قرمز ایجاد می‌کند که

درخت انگور که درخت مو نیز نامیده می‌شود، درختچه‌ای است بالا رونده که از دیوار و درختان مجاور بالا می‌رود. ساقه آن گره‌دار و دارای برگ‌های متناوب است. برگ‌های انگور دارای پنج لوب دنداندار و به رنگ سبز تیره می‌باشند گل‌های آن کوچک، مجتمع و بصورت خوشه ظاهر می‌شود. میوه درخت انگور، گوشتی و شیرین است [۱]. انگور میوه‌ای است که شامل ویتامین‌های A، B و C می‌باشد همچنین دارای مقادیری از منیزیم، کلسیم، آهن، فسفر، پتاسیم و آلومین است. این میوه یکی از محصولات باغی مهم می‌باشد که در سراسر جهان کشت می‌گردد [۲]. انگور سیاه سردشت به صورت دیم و در مناطق طبیعی شیب‌دار و کوهستانی شهرستان سردشت در جنوب استان آذربایجان غربی کشت می‌شود. انگور سیاه، بنفش مایل به آبی یا بنفش مایل به سیاه بوده و برتری‌های بیشتری نسبت به سایر انواع انگور دارد و به دلیل دارا بودن محتوای قند بالا، محصولات متعددی از آن تولید می‌شود که عمده ترین آن کنسانتره است [۳]. با توجه به وضعیت کنونی کنسانتره در جهان لازم است برای رقابت با سایر تولیدکنندگان به کیفیت آن، اهمیت بیشتری داده شود و کاهش کیفیت آن در طول نگهداری در انبار باید تحت کنترل قرار گیرد. زیرا تمام کنسانتره تولیدی در فصل تولید آن بلافاصله صادر یا فروخته نمی‌شود و قسمت اعظم آن در کارخانجات تولیدکننده کنسانتره انبار شده و در سایر فصول سال صادر یا فروخته می‌شود که در این مدت به علت عدم توجه به شرایط نگهداری آن، کیفیت کنسانتره شدیداً کاهش یافته به طوری که در بازارهای جهانی توان رقابت خود را از دست می‌دهد [۴]. در کنسانتره آبیوم‌ها یکی از مهمترین علت‌های کاهش کیفیت در طول نگهداری آن‌ها قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی می‌باشد. بنابراین بررسی فاکتورهای موثر بر قهوه‌ای شدن کنسانتره در طول نگهداری برای پیش بینی تغییرات شاخص‌های کیفی بسیار مهم است [۵]. واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی شامل کاراملیزاسیون، تجزیه اسید آسکوربیک و واکنش مایلارد می‌باشد [۶ و ۷]. واکنش مایلارد واکنش میان گروه‌های آمین آزاد پروتئین و گروه کربونیل قندهای احیاءکننده یا ترکیبات کربونیلی می‌باشد و مهمترین عامل قهوه‌ای شدن کنسانتره‌های سیب و انگور می‌باشد، که در میان واکنش‌های قهوه‌ای شدن بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است [۸]. واکنش مایلارد علاوه بر ایجاد

۲-۴- آنالیز آماری

در این مطالعه از روش سطح پاسخ (Response surface Methodology) برای برآورد میزان تأثیر گذاری سه فاکتور بریکس (BX)، دمای نگهداری (Te) و زمان نگهداری (Ti) هر کدام در سه سطح (طبق جدول ۱)، استفاده شد و از روش حداقل مربعات برای یافتن مدل استفاده گردید و سپس ارزیابی آماری انجام گرفت. اساس ارزیابی آماری انجام آنالیز واریانس و استفاده از توزیع فیشر بود. نرم افزار مورد استفاده برای انجام محاسبات نرم افزار SAS می باشد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- هیدروکسی متیل فورفورال در کنسانتره

انگور سیاه

آنالیز داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که از سه فاکتور مطالعه شده، هر سه فاکتور دمای نگهداری، بریکس کنسانتره و زمان نگهداری روی محتوای هیدروکسی متیل فورفورال کنسانتره اثر معنی داری داشتند ($P < 0.05$). مدل تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال به عنوان تابعی از فاکتورهای مطالعه شده به صورت غیر کد شده تعیین شد.

$$\text{HMF (mg/kg)} = (-49/895) + (0/599 \times \text{Bx}) + (0/761 \times \text{Te}) + (0/509 \times \text{Ti}) + (0/013 \times \text{Bx} \times \text{Ti}) - (0/0094 \times \text{Te} \times \text{Ti}) - (0/0094 \times \text{Ti}^2)$$

که در این مدل با وارد کردن میزان Ti (زمان نگهداری کنسانتره)، Te (دمای نگهداری کنسانتره) و Bx (بریکس کنسانتره) مقدار هیدروکسی متیل فورفورال بر اساس mg/kg پیش بینی می شود. ضریب تبیین مدل فوق ۰/۹۷۵۹ و ضریب تبیین تعدیل شده مدل فوق ۰/۹۶۶۲ می باشد و با توجه به اینکه ضریب تبیین مدل بالاتر از ۰/۸ است مدل آماری نهایی فوق معتبر و کارآمد بوده و همانطور که در جدول شماره ۱ مشاهده می شود قادر است به طور رضایت بخشی میزان هیدروکسی متیل فورفورال را در کنسانتره انگورسیاه پیشگویی نماید [۱۶]. همانطور که شکل ۱، نشان داد با افزایش بریکس و زمان نگهداری کنسانتره میزان هیدروکسی متیل فورفورال افزایش یافت و در بریکس ۷۰/۷ در روز ۶۹ و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به بیشترین مقدار خود یعنی ۸/۹۵۵ (mg/kg) رسید و بعد از روز ۶۹ میزان هیدروکسی متیل فورفورال تقریباً ثابت

دانسیته نوری آن در طول موج ۵۵۰ نانومتر قابل اندازه گیری می باشد. برای این منظور ۲۵ گرم کنسانتره انگور قرمز را به یک بالن مدرج ۵۰ میلی لیتری منتقل نموده و به آن بی کربنات سدیم جامد اضافه شد تا قلیایی شود (pH ۷-۸). سپس ۴ میلی لیتر محلول نشاسته ۰/۵ درصد به آن اضافه کرده و چند قطره محلول ید ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ آبی افزوده شد. یک میلی لیتر از محلول های شفاف کننده (۱۵ درصد وزنی/حجمی فروسیانور پتاسیم سه آبه و ۳۰ درصد وزنی/حجمی استات روی دو آبه) اضافه کرده و سپس محلول با آب مقطر به حجم رسیده و صاف شد. سپس ۲ میلی لیتر از محلول صاف شده را به سل شیشه ای منتقل و دانسیته نوری آن در مدت ۳ دقیقه در طول موج ۵۵۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (Pharmacia LKB Biochrom, England, 80-2088-64) اندازه گیری شد. برای انجام آزمون شاهد ۵ میلی لیتر محلول پاراتولوئیدین و یک میلی لیتر آب مقطر اضافه و دانسیته نوری مخلوط در همان شرایط تعیین گردید. برای تهیه منحنی استاندارد خطی محلول هیدروکسی متیل فورفورال خالص غلظت های مختلف از ۰/۱ تا ۵ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر تهیه شد [۱۷].

۲-۳- اندازه گیری رنگ

برای تعیین میزان توسعه قهوه ای شدن، از دو روش برای اندازه گیری رنگ استفاده شد.

۲-۳-۱- تعیین پیگمان های قهوه ای محلول در کنسانتره

(شاخص قهوه ای شدن)

برای تعیین پیگمان های قهوه ای محلول در کنسانتره (شاخص قهوه ای شدن)، نمونه های مورد آزمایش تا بریکس ۱۱/۲ با آب مقطر رقیق شدند و جذب آنها در طول موج ۴۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر wave scan مدل ۱۰۳۳۶۱ - Bio wave II در سل های ۱۰ میلیمتری اندازه گیری شد و نتایج ثبت گردید [۱۸].

۲-۳-۲- تعیین رنگ توسط دستگاه هانتربل

شاخص L^* ، a^* و b^* نمونه ها توسط دستگاه هانتربل Color Flex مدل ۴/۵۱۰ کشور آمریکا مورد آزمون قرار گرفت، قبل از استفاده از رنگ سنج با استفاده از صفحه سرامیکی سفید دستگاه هریک از سه پارامتر رنگی مورد بررسی کالیبره شدند [۱۹].

که به همراه دارد ممکن است خود باعث کاهش میزان یا توقف این واکنش شود [۸].

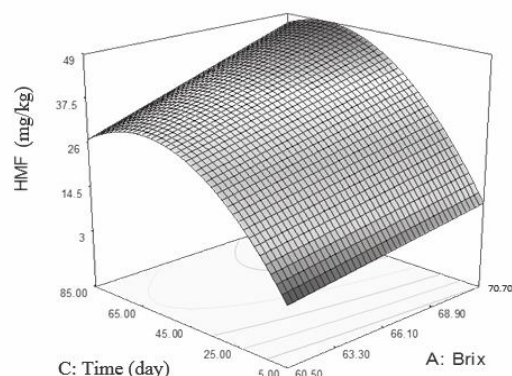


Fig 1 Response surface diagram of the effect of brix and storage time on hydroxymethylfurfural

باقی ماند. نتایج حاصله با تحقیق Lyu و همکاران در سال ۲۰۱۸ مطابقت دارد که احتمالاً دلیل این امر ناشی از این باشد که در طی فرآیند قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی، گروه‌های آمین وارد واکنش شده و از بین می‌روند در نتیجه pH کنسانتره کاهش پیدا می‌کند و به این ترتیب می‌توان گفت که کاهش pH نقش ممانعت‌کننده در انجام واکنش میلارد و تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال دارد، از طرفی در جریان کندانه شدن ترکیبات حاصل از واکنش میلارد و تولید ملانوئیدین‌ها، مقداری آب تولید می‌گردد که اگر میزان این آب از حدی تجاوز نماید، به دلیل رقیق نمودن محیط از نظر مواد لازم برای این واکنش و کاهش تماس میان آنها به منزله مانعی در مقابل ادامه واکنش میلارد عمل می‌کند. بنابراین می‌توان گفت که نظیر مورد pH، تداوم واکنش میلارد از جهت افزایش رطوبتی

Table 1 Box-Behnken experiment design and measured and predicted model results for hydroxymethylfurfural (HMF) and browning index (A_{420}) in black grape concentrate

Run	Factors			Responses			
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	HMF (mg/kg)		A_{420}	
	A: Brix	B: Temperature (°C)	C: Time (day)	Actual	Predict	Actual	Predict
9	60.5	5	45	27.88	27.30	1.18	1.13
1	70.7	5	45	39.90	40.56	1.30	1.29
11	60.5	25	45	39.90	34.06	1.27	1.28
13	70.7	25	45	45.91	47.32	1.32	1.31
3	60.5	15	5	2.47	3.30	1.22	1.17
10	70.7	15	5	9.40	10.73	1.19	1.26
7	60.5	15	85	9.71	27.98	1.29	1.24
6	70.7	15	85	50.60	47.06	1.37	1.34
14	65.6	5	5	0.00	-0.46	1.14	1.10
4	65.6	25	5	12.63	13.82	1.18	1.19
5	65.6	5	85	2.72	37.05	1.21	1.18
8	65.6	25	85	32.40	36.29	1.29	1.27
12	65.6	15	45	35.76	36.72	1.12	1.18
2	65.6	15	45	34.61	36.72	1.17	1.18
15	65.6	15	45	34.13	36.72	1.20	1.18
16	70.7	5	5	2.20	3.59	1.31	1.25
17	70.7	5	85	45.10	47.44	1.32	1.33
18	70.7	5	5	2.70	3.59	1.30	1.25
19	60.5	5	45	26.35	27.30	1.14	1.13
20	65.6	25	5	12.55	13.82	1.26	1.19
21	70.7	25	5	23.85	17.87	1.31	1.27
22	60.5	5	5	0.00	-3.84	1.05	1.10
23	60.5	25	5	6.40	10.44	1.23	1.24
24	70.7	5	85	47.80	47.44	1.34	1.33

میزان هیدروکسی متیل فورفورال معنی دار است ($P < 0.05$) و اثر برهم کنش این دو فاکتور بر میزان هیدروکسی متیل فورفورال تاثیر دارد. Lyu و همکاران در سال ۲۰۱۸ نتایج مشابهی را گزارش کردند.

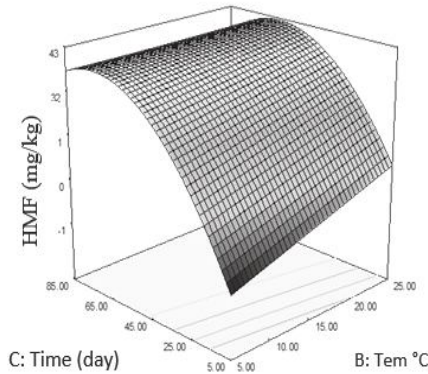


Fig 2 Response surface diagram of the effect of temperature and storage time on hydroxymethylfurfural

با توجه به جدول آنالیز واریانس (جدول ۲)، زمان نگهداری کنسانتره اثر درجه دو یا کوادراتیک معنی داری بر میزان هیدروکسی متیل فورفورال داشت، ولی تاثیر متقابل فاکتورهای بریکس و زمان نگهداری بر میزان هیدروکسی متیل فورفورال معنی دار نیست ($P > 0.05$) و یا به عبارتی دیگر اثر برهم کنش این دو فاکتور بر میزان هیدروکسی متیل فورفورال تاثیر نمی گذارد. شکل ۲، تاثیر دما و زمان نگهداری کنسانتره انگور سیاه بر میزان هیدروکسی متیل فورفورال را نشان می دهد، مشاهده می شود که با افزایش زمان و دمای نگهداری کنسانتره میزان هیدروکسی متیل فورفورال افزایش یافت و زمان نگهداری کنسانتره اثر درجه ۲ معنی داری نیز بر میزان هیدروکسی متیل فورفورال داشت ($P < 0.05$)، به طوری که در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در روز ۶۰ به بیشترین مقدار خود یعنی (mg/kg) ۴۱/۸۳۱ رسید. با توجه به جدول آنالیز واریانس (جدول ۲)، تاثیر متقابل فاکتورهای دما و زمان نگهداری بر

Table 2 Analysis of variance of hydroxymethyl furfural in red grape concentrate

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	6320.09	6	1053.35	101.11	< 0.0001	significant
A-Brix	297.67	1	297.67	28.57	< 0.0001	
B-Tem	133.05	1	133.05	12.77	0.0028	
C-Time	1376.38	1	1376.38	132.12	< 0.0001	
AC	32.8	1	32.8	3.15	0.0963	
BC	100.95	1	100.95	9.69	0.0071	
C ²	705.83	1	705.83	67.75	< 0.0001	
Residual	156.27	15	10.42			
Lack of Fit	149.92	9	16.66	15.75	0.0016	significant
Pure Error	6.35	6	1.06			
Cor Total	6476.36	21				
R-Squared	0.9759		Adj R-Squared	0.9662		

$$A_{\text{HMF}} = 9/0.25 - (0.25 \times Bx) + (0.41 \times Te) + (0.000935 \times Ti) - (0.000555 \times Bx \times Te) + (0.00207 \times Bx^2)$$

که در این مدل با وارد کردن میزان Ti (زمان نگهداری کنسانتره) و Te (دمای نگهداری کنسانتره) و Bx (بریکس نگهداری کنسانتره)، مقدار شاخص قهوه ای شدن (A_{HMF}) آن پیش بینی میشود و ضریب تبیین مدل فوق ۰/۷۸۸۴ و ضریب تبیین تعدیل شده مدل فوق ۰/۷۲۹۶ می باشد. با توجه به شکل ۳، با افزایش دمای نگهداری کنسانتره میزان شاخص قهوه ای شدن (A_{HMF}) افزایش یافت. این یافته ها با نتایج تحقیقات قبلی که Bozkurt و همکاران در سال ۱۹۹۹، بر روی کنسانتره انگور انجام داده اند، مطابقت دارد. ولی بریکس کنسانتره علاوه

۲-۳- شاخص قهوه ای شدن (A_{HMF}) در کنسانتره انگور سیاه

بطور کلی در آبمیوه ها برای تعیین میزان توسعه واکنش های قهوه ای شدن غیر آنزیمی جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر به عنوان یک روش سریع و آسان به کار رفته است [۵]. آنالیز داده ها (جدول ۳) نشان داد که از سه فاکتور مطالعه شده (دمای نگهداری، بریکس کنسانتره و زمان نگهداری)، هر سه فاکتور روی شاخص قهوه ای شدن (A_{HMF}) کنسانتره اثر معنی داری داشت ($P < 0.05$). مدل شاخص قهوه ای شدن (A_{HMF}) به عنوان تابعی از فاکتور های مطالعه شده به صورت زیر تعیین شد:

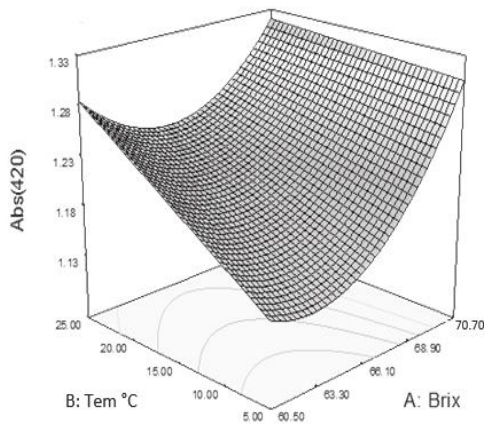


Fig 3 Response surface diagram of the effect of brix and temperature on browning index (A_{420})

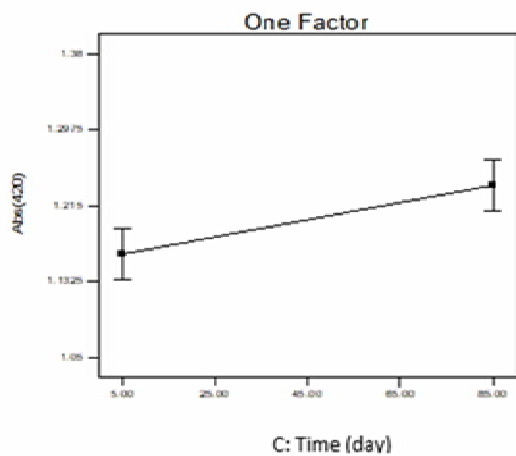


Fig 4 The effect of storage time on browning index (A_{420})

Table 3 Analysis of variance of browning index (A_{420}) in red grape concentrate

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	0.12	5	0.023	13.41	< 0.0001	Significant
A-Brix	0.033	1	0.033	19.28	0.0004	
B-Tem	0.022	1	0.022	12.9	0.0021	
C-Time	0.021	1	0.021	11.87	0.0029	
AB	0.01	1	0.01	6.02	0.0246	
A ²	0.021	1	0.021	11.95	0.0028	
Residual	0.031	18	1.74E-03			
Lack of Fit	0.023	12	1.92E-03	1.39	0.3566	not significant
Pure Error	8.25E-03	6	1.37E-03			
Cor Total	0.15	23				
R-Squared	0.7884		Adj R-Squared	0.7296		

برهم کنش این دو فاکتور بر میزان شاخص قهوه‌ای شدن تأثیر دارد. با توجه به شکل ۴، با افزایش زمان نگهداری کنسانتره میزان (A_{420}) افزایش یافته است. Bozkurt در سال ۱۹۹۹ و همچنین Makhlouf-Gafsi در سال ۲۰۱۸، به نتایج مشابهی دست یافتند که نشان دهنده

بر اثر خطی دارای اثر درجه ۲ معنی داری نیز بر میزان شاخص قهوه‌ای شدن است ($P < 0.05$)، به این صورت بریکس با توان ۲ تأثیر مثبت بر میزان شاخص قهوه‌ای شدن دارد. اثر درجه ۲ در دماهای بالا نسبت به دماهای پایین بیشتر است به طوریکه در دماهای پایین با افزایش بریکس، میزان جذب تقریباً ثابت بوده ولی در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد وقتی بریکس را از ۶۰/۵ به ۶۶ افزایش می‌دهیم میزان جذب از ۱/۲۸۵ به ۱/۲۳۷ کاهش پیدا می‌کند و سپس با افزایش بریکس میزان جذب افزایش پیدا می‌کند به طوری که در بریکس ۷۰/۷ میزان جذب به ۱/۳۲ می‌رسد، بنابراین نتیجه‌گیری می‌کنیم که با افزایش بریکس کنسانتره ابتدا میزان شاخص قهوه‌ای شدن کاهش یافته و سپس بعد از رسیدن به یک بریکس معین میزان آن افزایش پیدا می‌کند. این تغییرات در شاخص قهوه‌ای شدن ناشی از پیش بینی مدل می‌باشد ولی با توجه به پایین بودن ضریب تبیین دارای درجه اعتبار پایینی است و از لحاظ صنعتی و تولید انبوه زیاد نمی‌توان به آن اعتماد کرد، ولی با توجه به اندازه گیری‌های واقعی، مشاهده شد که با افزایش بریکس و دمای نگهداری کنسانتره میزان شاخص قهوه‌ای شدن افزایش یافت. Buedo و همکاران در سال ۲۰۰۱، گزارش کردند که با افزایش بریکس، زمان و دمای نگهداری کنسانتره هلو میزان شاخص قهوه‌ای شدن افزایش می‌یابد.

با توجه به جدول آنالیز واریانس (جدول ۳)، تأثیر متقابل فاکتورهای بریکس و دمای نگهداری کنسانتره بر میزان شاخص قهوه‌ای شدن معنی دار است ($P < 0.05$) و یا به عبارتی دیگر اثر

معنی‌دار است. بنابراین می‌توان گفت که با افزایش زمان نگهداری کنسانتره، میزان شاخص a^* افزایش یافت. Karadeniz و Burdurlu در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که شاخص a^* در کنسانتره هلو پس از نگهداری به مدت ۴۰ روز از ۱ به ۱/۴۸ افزایش یافت.

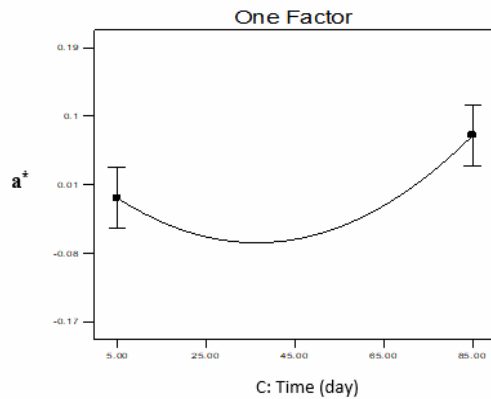


Fig 6 The effect of storage time on a^*

با توجه به جدول آنالیز واریانس شماره ۶ از سه فاکتور مورد مطالعه هیچکدام از آنها بر روی شاخص b^* اثر معنی‌داری نداشتند ($P > 0/05$)، همچنین شکل ۷ مشخص کرد، از لحاظ عملی و تولید کنسانتره انگور سیاه در صنعت به میزان انبوه میزان شاخص b^* با گذشت زمان تغییرات قابل توجهی نکرده است.

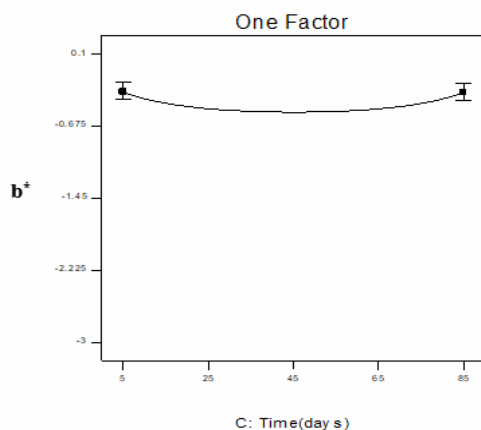


Fig 7 The effect of storage time on b^*

افزایش شاخص قهوه‌ای شدن کنسانتره با افزایش مدت زمان نگهداری است.

۳-۳- شاخص L^* و a^* و b^* در کنسانتره انگور سیاه

با توجه به جداول آنالیز واریانس (جداول شماره ۴ و ۵)، از سه فاکتور مورد مطالعه فقط فاکتور زمان نگهداری کنسانتره بر روی شاخص L^* و a^* اثر معنی‌داری داشت ($P < 0/05$)، ولی با توجه به پایین بودن ضریب تبیین و ضریب تبیین تعدیل شده آن مدل مناسبی برای تعیین مقدار شاخص L^* و a^* حاصل نشد. شکل ۵ نشان داد که با گذشت زمان شاخص L^* کاهش یافت و آن نشان دهنده این است که کنسانتره رفته رفته تیره‌تر شده است که احتمالاً دلیل آن افزایش نرخ واکنش میلارد بود. Karadeniz و Burdurlu در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند شاخص L^* در کنسانتره سیب در طول ۱۶ هفته نگهداری از ۲۳/۰۵ به ۱۹/۶۵ کاهش یافت، همچنین Lyu در سال ۲۰۱۸، نشان دادند شاخص L^* کنسانتره هلو در ۴۰ روز از ۱ به ۰/۸۲ کاهش یافت.

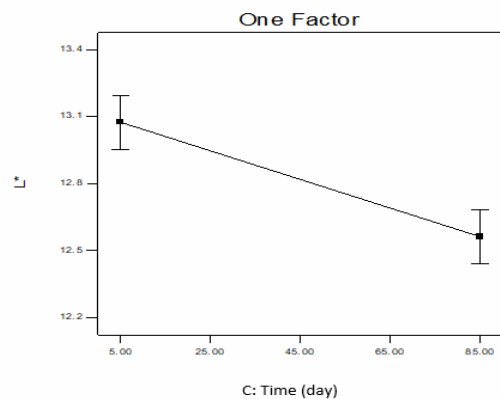


Fig 5 The effect of storage time on L^*

همچنین جدول شماره ۵ نشان داد که اثر درجه ۲ زمان نگهداری نیز بر میزان شاخص a^* معنی‌دار است ($P < 0/05$)، ولی شکل ۶، مشخص کرد میزان شاخص a^* با گذشت زمان کاهش قابل توجهی پیدا نکرده است اگر چه از لحاظ آماری این تغییرات

Table 4 Analysis of variance of L^* index in red grape concentrate

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	1.01	1	1.01	15.93	0.0006	Significant
C-Time	1.01	1	1.01	15.93	0.0006	
Residual	1.39	22	0.063			
Lack of Fit	1.03	16	0.064	1.06	0.5096	not significant
Pure Error	0.36	6	0.061			
Cor Total	2.4	23				
R-Squared	0.42		Adj R-Squared	0.3937		

Table 5 Analysis of variance of index a* in red grape concentrate

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	0.064	2	0.032	5.68	0.0107	Significant
C-Time	0.025	1	0.025	4.49	0.0461	
C^2	0.047	1	0.047	8.43	0.0085	
Residual	0.12	21	5.61E-03			
Lack of Fit	0.1	15	6.91E-03	2.93	0.0958	not significant
Pure Error	0.014	6	2.36E-03			
Cor Total	0.18	23				
R-Squared	0.351		Adj R-Squared	0.2892		

Table 6 Analysis of variance of index b* in red grape concentrate

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	5.68	3	1.89	8.01	0.0011	Significant
B-Tem	0.77	1	0.77	3.27	0.0855	
C-Time	4.40E-04	1	4.40E-04	1.86E-03	0.966	
C^2	4.77	1	4.77	20.17	0.0002	
Residual	4.73	20	0.24			
Lack of Fit	3.39	14	0.24	1.08	0.495	not significant
Pure Error	1.35	6	0.22			
Cor Total	10.41	23				
R-Squared	0.5457		Adj R-Squared	0.4776		

۴- نتیجه گیری

رنگی L^* و a^* موثر بود ($P < 0.05$) و با افزایش زمان نگهداری، میزان شاخص L^* کاهش و میزان شاخص a^* افزایش یافت ولی تغییر معنی‌داری در شاخص b^* مشاهده نشد. لذا می‌توان از یافته‌های پژوهش فوق در بررسی سینتیک ویژگی‌های کیفی و مشتری پسندی سایر محصولات صنایع تبدیلی کنسانتره انگور سیاه سود جست.

در این تحقیق تاثیر سه متغیر بریکس (۶۰/۵، ۶۵/۶ و ۷۰/۷)، زمان نگهداری (۵، ۴۵ و ۸۵ روز) و دمای انبارداری (۵، ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) بر روی شاخص‌های فرآیند قهوه‌ای شدن (میزان هیدروکسی متیل فورفورال و شاخص قهوه‌ای شدن) و ویژگی‌های رنگی (L^* ، a^* ، b^*) در محصول کنسانتره انگور سیاه سردشت (رقم رشه) بررسی گردید. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که از سه فاکتور مطالعه شده (دمای نگهداری، بریکس کنسانتره و زمان نگهداری)، هر سه فاکتور روی شاخص قهوه‌ای شدن (A_{420}) و همچنین محتوای هیدروکسی متیل فورفورال کنسانتره اثر معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$) و با افزایش بریکس، زمان و دمای نگهداری کنسانتره، سبب تولید مقادیر بیشتر هیدروکسی متیل فورفورال و افزایش میزان شاخص قهوه‌ای شدن (جذب در ۴۲۰ نانومتر) گردید. همچنین متغیر زمان نگهداری بر روی شاخص‌های

۵- منابع

- [1] Huang, D. J., LIN, C. D., Chen, H. G. & LIN, Y. H. (2004). Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam 'Tainong 57') constituents. *Botanical Bulletin of Academia Sin*, 45, 179- 186.
- [2] Fraige, K., Edenir, R. & Carrilho, E. (2013). Fingerprinting of anthocyanins from grapes produced in Brazil using HPLC-DADMS and exploratory analysis by principal component analysis. *Journal of Food Chemistry*, 56, 69-75.
- [3] Bagheri, N., Heidari, R., Ilkhanipur, M. & Amiri, S. (2016). Comparison of Biochemical and Antioxidant Characteristics of Urmia Red

- and thiol groups of amino acids. *Journal of Food Chemistry*, 240, 354-360.
- [14] Lozano, J. E. (1991). Kinetics of non-enzymatic browning in model systems simulating clarified apple juice. *Journal of Food Science and Technology*, 24, 335-360.
- [15] Teresa, G. C., Margaluz, A., Robert, M., Carmeno, A. & Bond, O. M. (2007). Effects of thermal and non-thermal processing treatments of fatty acids and free amino acids of grape juice. *Journal of Food Control*, 18, 473-479.
- [16] Bakeshlou, H., Pirouzifard, M. Kh. & Alizadeh Khaledabad, M. (2017). Effect of storage conditions on non-enzymatic browning of white grape juice concentrate. *Journal of Food Research (Agricultural Science)*, 27(1), 151-158. (In Farsi).
- [17] Lyu, J., Liu, X., Bi, J., Wu, X., Zhou, L., Ruan, W. & Jiao, Y. (2018). Kinetic modelling of non-enzymatic browning and changes of physio-chemical parameters of peach juice during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 55(3), 1003-1009.
- [19] Simsek, A., Ender, S. P., Karacon, S. & Sedatveli oglu, y. (2007). Response surface methodological study on HMF and fluorescent accumulation in red and white grape juices and concentrates. *Journal of Food Chemistry*, 101, 987-994.
- [18] Makhlouf-Gafsi, I., Krichen, F., Mansour, R. B., Mokni, A., Sila, A., Bougatef, A. & Besbes, S. (2018). Ultrafiltration and thermal processing effects on Maillard reaction products and biological properties of date palm sap syrups (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of food chemistry*, 256, 397-404.
- [20] Bozkurt, H., Göğus, F. & Eren, S. (1999). Non-enzymatic browning reactions in boiled grape juice and its models during storage. *Journal of Food Chemistry*, 64, 89-93.
- [21] Buedo, A. P., Elustondo, M. P. & Urbicain M. J. (2001). Non-enzymatic browning of peach juice concentrate during storage. *Innovative Food science & Emerging Technologies*, 1, 255-260.
- Grape Juice and Black Sardasht Grape Juice. In: Proceedings of 4th National Conference on Agriculture and Sustainable Natural Resources, February 22, Higher Education Institute of Mehr Arvand, Tehran, Iran, Page 1-8. (In Farsi).
- [4] Rajauria, G. & Tiwari, B. K. (Eds.). (2017). *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis*. Academic Press.
- [5] Burdurlu, H. S. & Karadeniz, F. (2003). Effect of storage on non-enzymatic browning of apple juice concentrates. *Journal of Food Chemistry*, 80, 91-97.
- [6] Babsky, N. E., Toribio, J. L. & Lozano, J. E. (1986). Influence of storage on the composition of clarified apple juice concentrate. *Journal of Food Science and Technology*, 51(3), 564-567.
- [7] Ibarz, I., Gonzales, C., Esplugas, S. & Miguelsanz, R. (1990). Nonenzymatic browning kinetics of clarified peach juice at different temperatures. *Confructa Medien GmbH*, 34, 152 - 159.
- [8] Fatemi, H. (2015). *Food Chemistry* (12th ed). Tehran: Sahami Enteshar. (In Farsi).
- [9] Marisa, R., Naphaporn, C. & Walaiporn, S. (2005). Effect of thermal processing on the quality loss of pineapple juice. *Journal of Food Engineering*, 66, 259-265.
- [10] Toribio, J. L. & Lozano, J. E. (1984). Non-enzymatic browning in apple juice concentrate during storage. *Journal of Food Science*, 49, 889-892.
- [11] Arena, E., Fallicio, B. & Maccarone, E. (2001). Thermal damage in blood orange juice kinetics of 5-hydroxymethyl-2-furancarboxaldehyde formation. *International Journal of Food Science and Technology*, 36(2), 145-151.
- [12] Göğus, F., Bozkurt, H. & Ereneo, S. (1998). Kinetics of Maillard reactions between the major sugars and amino acids of boiled grape juice. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*, 31, 196-200.
- [13] Hamzaloğlu, A. & Gökmen, V. (2018). Investigation and kinetic evaluation of the reactions of hydroxymethylfurfural with amino

Investigation of non-enzymatic browning characteristics of Sardasht black grape juice concentrate using Response Surface Methodology

Bakeshlou, H. ^{1*}, Pirouzifard, M. Kh. ², Alizadeh Khaledabad, M. ³, Amiri, S. ⁴

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Shahid Beheshti, Urmia Branch, Technical and Vocational University (TVU), Urmia, Iran.
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Iran.
3. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Iran.
4. PhD of Food Microbiology, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

(Received: 2019/10/08 Accepted:2020/02/03)

To study the effect of non-enzymatic browning reactions, quantification of 5-hydroxymethyl furfural (HMF) and on the browning index (BI) was done. In this study, the kinetics of BI in Sardasht black grape (*Rasheh* variety) juice concentrate was studied. Samples with different Brix's (60.5, 65.6 and 70.7) in three temperatures (5°C, 15°C, and 25°C) were kept for 85 days. In addition, the color analysis was also evaluated by a Hunter lab. Analysis of variance showed that all three factors (Brix, storage time and temperature) were effective in HMF content ($P<0.05$). They had a linear positive relation with HMF content in black grape juice concentrate. HMF content of concentrate was in the range of 0.57-50.6 (mg/kg). Also, all three factors had a significant effect on the BI ($P<0.05$) and its content was measured between 1.054 - 1.373.

Key words: 5-hydroxymethyl furfural, Browning index, *Rasheh* variety grape concentrate, Storage.

* Corresponding Author Email Address: hojjatbakeshlou@gmail.com