سینتیک تغییرات محتوای اسید اسکوربیک، محتوای فنول کل و ظرفیت ضداکسایشی آب نارنج طی فرآوری حرارتی

سارا آقاجان‌زاده سورکی[1*]، امان محمد ضیائی‌فر[2]، مهدی کاشانی‌نژاد[3]، یحیی مقصودلو[4]، ابراهیم اسماعیل‌زاده[5]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- استادیار دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳ - دانشیار دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
٤- دانشیار دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۵- دکتری تخصصی، گروه مکانیک ماشین های کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱/٦ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۲٦)

چکیده

نارنج یکی از انواع مرکبات با محتوای ضداکسایشی بالا (عمدتاً اسید اسکوربیک و ترکیبات فنولی) است که از عصاره‌ی آن به عنوان چاشنی در تهیه‌ی غذاها استفاده می‌شود. یکی از مرسوم‌ترین روش‌های سالم‌سازی آب نارنج، پاستوریزاسیون حرارتی است. با توجه به حساسیت بالای ترکیبات ضداکسایشی نسبت به حرارت، هدف از این تحقیق بررسی سینتیک تخریب حرارتی اسید اسکوربیک، محتوای فنول کل و ظرفیت ضداکسایشی آب نارنج در دماهای ۷۰، ۷۵، ۸۰، ۸۵ و ۹۰ درجه‌سانتی‌گراد به ترتیب به مدت ۷٦، ٦٦، ٤۸، ۳۵ و ۲۱ دقیقه است. محتوای اسید اسکوربیک و فنول کل به ترتیب به روش‌های یدومتری و فولین سیوکالته اندازه‌گیری شدند. تغییرات محتوای اسید اسکوربیک و فنول کل آب نارنج طی فراوری حرارتی با استفاده از دو مدل آرنیوس و آیرینگ مورد ارزیابی قرارگرفت. اندیس مقاومت حرارتی (۲۹/۱۵ درجه‌سانتی‌گراد) و انرژی آزاد گیبس (۱۰۱/۱۱ تا ۱۰۲/٦٤ کیلوژول بر مول) بالای اسید اسکوربیک عامل تغییرات ناچیز انتالپی این ویتامین طی فراوری حرارتی است. نتایج نشان داد که به ازای هر ۵ درجه‌سانتی‌گراد افزایش دمای فرایند، نیمه عمر تخریب اسید اسکوربیک و محتوای فنول کل نمونه به ترتیب، حدود ۱/۳۱ تا ۱/۸۰ و ۱/۳۹ تا ۲/۰۵ برابر کاهش یافت. همچنین در این بررسی همبستگی قابل قبولی میان محتوای فنول کل و DPPH آب نارنج (R^2> ۰/۹۷) مشاهده شد.

کلید واژگان: آب نارنج، اسید اسکوربیک، ظرفیت ضداکسایشی، فرایند حرارتی، فنول کل

* مسئول مکاتبات: saraaghajanzadeh@yahoo.com

۱- مقدمه

میوه‌ها و سبزیجات حاوی بسیاری از ترکیبات مغذی مورد نیاز بدن انسان می‌باشند. به دلیل محتوای رطوبتی و ارزش غذایی بالای این دسته از محصولات، پس از برداشت احتمال فساد آن‌ها بر اثر رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها وجود دارد. از طرفی به دلیل فصلی بودن اغلب این محصولات و همچنین امکان رویش آن‌ها در برخی از مناطق جهان تحت شرایط آب و هوایی خاص، فراوری و تولید محصولات مختلف و متنوع از میوه‌ها و سبزیجات حائز اهمیت می‌باشد. نارنج (نام علمی: *Citrus aurantium* L.) یکی از انواع مرکبات است که در نواحی شمالی ایران کشت می‌شود. قسمت‌های مختلف نارنج مانند عصاره، پوست و بافت میوه مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما با توجه به طعم ترش و تلخ بافت میوه، اغلب از عصاره‌ی نارنج به عنوان جایگزین آب لیمو در تهیه غذا استفاده می‌شود [۱].

ترکیبات ضداکسایشی[1] با از بین بردن رادیکال‌های آزاد و اکسیژن فعال، موجب کاهش خطر ابتلا به انواع سرطان‌ها و گرفتگی عروق قلبی می‌شوند [۲]. مرکبات یکی از مهم‌ترین منابع تامین‌کننده‌ی ترکیبات مغذی از جمله ترکیبات ضداکسایشی (اسید اسکوربیک[2]، فلاونوئیدها[3] و ترکیبات فنولی[4]) به شمار می‌روند و از این‌رو جایگاه ویژه‌ای در رژیم غذایی مردم جهان دارند [۳ و ٤]. اسید اسکوربیک از جمله ترکیبات ضداکسایشی است که از طریق واکنش با اکسیژن و تولید دهیدرواسکوربیک اسید قادر به ایجاد سیستم اکسایش- کاهش جهت تخریب رادیکال‌های آزاد است [٥]. به دلیل عدم فعالیت آنزیم تولیدکننده‌ی این ویتامین (L-Gulonolactone Oxidase [EC 1.1.3.8.]) در بدن انسان، نیاز به تامین اسید اسکوربیک از طریق رژیم غذایی مناسب است [٦]. محتوای فنولی موجود در آب مرکبات نیز نشان‌گر کیفیت محصول می‌باشد چرا که بر ارزش غذایی و همچنین خواص ظاهری مانند رنگ و طعم محصول اثرگذار است [۷]. گورینستین و همکاران (۲۰۰٤) دریافتند که میزان ترکیبات فنولی موجود در آب پرتقال با ظرفیت ضداکسایشی بر اساس میزان مهار رایکال‌های آزاد (DPPH) ارتباط مستقیم دارد [۸]. میلر و رایس- اوانس (۱۹۹۷) نیز در بررسی در زمینه‌ی ترکیبات ضداکسایشی محصولات مختلف از جمله پرتقال به نقش مهم ترکیبات پلی‌فنولی در فعالیت ضداکسایشی این محصول اشاره‌کردند [۹]. عرب شاهی و عروج (۲۰۰۷) و گاردنر و همکاران (۲۰۰۰) همبستگی بالایی میان محتوای فنول کل و ظرفیت ضداکسایشی بر اساس میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره‌ی میوه‌های مختلف به دست آوردند [۱۰ و ۱۱].

یکی از مرسوم‌ترین روش‌های مورد استفاده در فراوری آب مرکبات، استفاده از تیمار حرارتی است. فرایند پاستوریزاسیون حرارتی که با هدف افزایش مدت زمان ماندگاری و سالم‌سازی محصول انجام می‌گیرد، دارای اثرات منفی بر ویژگی‌های حسی و تغذیه‌ای محصول از جمله تخریب ترکیبات ضداکسایشی نیز می‌باشد، چرا که ترکیبات ضداکسایشی به عوامل مختلف از جمله اکسیژن، نور، حرارت، نوع و شرایط فرایند محصول حساس بوده و به سرعت تخریب می‌شوند [١٤-١٢]. بوردورلو و همکاران (۲۰۰٦) و ویکرام و همکاران (۲۰۰٥) بیان نمودند که تغییرات محتوای اسید اسکوربیک طی زمان حرارت‌دهی از سینتیک درجه اول پیروی کرد [١٥و ١٦]. همچنین ویکرام و همکاران (۲۰۰٥) اندیس مقاومت حرارتی، میزان انتالپی و انتروپی تخریب حرارتی اسید اسکوربیک آب پرتقال را (بر اساس مدل‌های آرنیوس و ایرینگ) اندازه‌گیری کردند [١٦]. هونگ و همکاران (۲۰۰٤) و ایگوال و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که با افزایش دما و افزایش نرخ تخریب ترکیبات فنولی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی محصول نیز کاهش می‌یابد [۱۷ و ۱۸]. با توجه به این که تاکنون مطالعه‌ای پیرامون تغییرات محتوای ترکیبات ضداکسایشی آب نارنج طی فراوری حرارتی انجام نگرفته‌است، هدف از این تحقیق بررسی سینتیک تخریب اسید اسکوربیک، محتوای فنولی و ظرفیت ضداکسایشی بر اساس تعیین میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH آب نارنج طی فراوری حرارتی در بن ماری در دماها و زمان‌های مختلف است.

1. Antioxidant
2. Ascorbic Acid
3. Flavonoid
4. Phenolic Compounds

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه و آماده‌سازی آب نارنج

نارنج از بازار محلی شهرستان گرگان (استان گلستان) خریداری شد. کلیه نارنج‌ها تا زمان عصاره‌گیری در مکانی خنک (دمای $^{\circ}C$ ۲۵) نگهداری شدند. پس از شست و شو و نصف کردن میوه‌ها، عمل عصاره‌گیری با آب میوه‌گیری دستی در شرایط یکسان برای تمامی نمونه‌ها (دمای محیط و فشار اعمال شده بر میوه) انجام شد. به منظور جداسازی ذرات معلق پالپ و اجزای بافت، عصاره‌ی میوه از الک با مش ۱۷۰ عبور داده و سپس نمونه‌ها بلافاصله حرارت‌دهی شدند.

۲-۲- فرایند حرارتی

در این بررسی به منظور افزایش سطح تبادل حرارت و همچنین حرارت‌دهی یکنواخت‌تر و سریع‌تر محصول از لوله‌های آزمایش (قطر، طول و ضخامت دیواره به ترتیب برابر ۱۵، ۱۶۰ و ۱ میلی‌متر) استفاده شد. ۱۵ میلی‌لیتر آب نارنج صاف‌شده به یک لوله‌ی آزمایش منتقل و در بن‌ماری در دماهای ۷۰، ۷۵، ۸۰، ۸۵ و ۹۰ درجه‌سانتی‌گراد به ترتیب به مدت ۷۶، ٦٦، ٤٨، ۳۵ و ۲۱ دقیقه حرارت داده‌شد. آنزیم پکتین متیل‌استراز[5] به دلیل مقاومت حرارتی بالا و نیز تاثیر منفی بر حالت ابری مطلوب آب مرکبات به عنوان شاخص پاستوریزسیون این دسته از محصولات در نظر گرفته می‌شود [۱۹]. با توجه به این‌که بخشی از مرحله‌ی افزایش دمای محصول[6] موجب غیرفعال‌سازی آنزیم پکتین متیل‌استراز آب مرکبات می‌شود [۱۹]؛ تعیین زمان دقیق فرایند در هر یک از دماهای ۷۰، ۷۵، ۸۰، ۸۵ و ۹۰ درجه‌سانتی‌گراد با در نظر گرفتن میزان اثر این مرحله و کم کردن آن از زمان مرحله‌ی نگهداشتن در دمای ثابت[7] تخمین زده شد. اندازه‌گیری دمای نمونه با قرار دادن ترموکوپل نوع T با ضخامت یک میلی‌متر در نقطه سرد لوله آزمایش حاوی نمونه (حدود یک سوم انتهایی لوله آزمایش) و ثبت دمای نمونه در هر ثانیه توسط سیستم ثبت‌کننده‌ی داده‌های دمایی (Data logger: Pico - TC-08) انجام گرفت. بلافاصله پس از فرایند حرارتی و به دنبال آن خنک کردن سریع نمونه‌ها در حمام آب یخ تا رسیدن به دما محیط (۲۵ درجه‌سانتی‌گراد)، ترکیبات ضداکسایشی مورد نظر اندازه‌گیری شدند.

۲-۳- اندازه‌گیری اسید اسکوربیک

در این بررسی جهت اندازه‌گیری میزان اسیداسکوربیک از روش تیتراسیون ید (یدومتری) استفاده شد [۲۰]. در این روش ابتدا ۲۰ میلی‌لیتر آب نارنج را به یک بالن حجمی ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و با ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. پس از افزودن یک میلی‌لیتر محلول شاخص نشاسته ۱٪، محلول حاصل با محلول ید تا ظهور رنگ آبی سیاه تیتر شد. میزان میلی‌گرم اسیداسکوربیک در ۱۰۰ میلی‌لیتر نمونه بر اساس معادله (۱) محاسبه شد:

معادله ۱.

حجم معرف مصرفی×۰/۸۸ = میزان اسید اسکوربیک (mg/100ml)

جهت آماده‌سازی محلول ید ابتدا ۵ گرم پتاسیم یدید و ۰/۲٦۸ گرم پتاسیم یدات را در بالن ۵۰۰ میلی‌لیتری با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌خوبی حل شد و سپس به محلول حاصل ۳۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۳ مولار افزوده و با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسانده شد.

۲-٤- اندازه‌گیری محتوای فنول کل

میزان فنول کل بر اساس روش فولین- سیوکالته[8] با اندکی اصلاح انجام شد [۲۱ و ۲۲]. طبق این روش ۲۰ میکرولیتر آب نارنج سانتریفوژ شده (۳۵۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه) با ۱/۱٦ میلی‌لیتر آب مقطر به خوبی مخلوط و سپس ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین خالص به آن اضافه شد. پس از گذشت مدت زمان ۵ دقیقه، به محلول تهیه‌شده ۳۰۰ میکرولیتر محلول سدیم کربنات ٪۲۰ افزوده شد. محلول حاصل را به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ٤۰ درجه‌سانتی‌گراد حرارت داده و سپس جذب آن را در دستگاه اسپکتوفتومتر (T-80, UV/VIS Double Beam Spectrophotometer) در طول موج ۷٦۰ نانومتر خوانده‌شد. میزان فنول کل از روی منحنی استاندارد بر حسب غلظت اسید تانیک (میلی‌گرم در لیتر) بیان شد.

۲-۵- میزان مهار رادیکال‌های آزاد

ظرفیت ضداکسایشی آب نارنج بر اساس خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد ۲ و ۲- دی‌فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH)

5. Pectin Methylestrase
6. Come Up Time
7. Holding Time
8. Folin- Ciocalteu

با روش ارائه شده توسط رمدان و همکاران (۲۰۰۸) با اندکی اصلاح انجام گرفت [۲۳]. در این روش یک میلی‌لیتر آب نارنج سانتریفوژ شده (۳۵۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه) با ۵ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۶ میلی‌مولار DPPH به خوبی مخلوط شد و پس از قرار دادن محلول حاصل به مدت ۲ ساعت در مکانی تاریک با دمای محیط جذب آن در دستگاه اسپکتوفتومتر (T-80, UV/VIS Double Beam Spectrophotometer) در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد. میزان بازدارندگی قدرت مهار رادیکال‌های آزاد طبق معادله (۲) محاسبه شد:

معادله ۲.

$$\%DPPH= [(A_0 - A_1)/ A_0] \times 100$$

در رابطه فوق A_0 میزان جذب شاهد DPPH و A_1 برابر میزان جذب نمونه حاوی DPPH است.

۲-۶- آنالیز داده‌ها

تجزیه‌ی حرارتی ترکیبات شیمیایی از معادله‌ی درجه اول لگاریتمی (۳) تبعیت می‌کند:

معادله ۳.

$$\log_e (A/ A_0) = -Kt$$

در معادله‌ی فوق، A بیان‌گر غلظت ترکیب مورد نظر پس از فرایند حرارتی، A_0 غلظت اولیه‌ی ترکیب، t زمان حرارت دهی (min) و K ثابت سرعت واکنش (min^{-1}) می‌باشد. میزان ثابت سرعت واکنش برابر قرینه شیب رگرسیونی منحنی $\log_e (A/ A_0)$ در برابر زمان است. بر اساس مقادیر ثابت سرعت واکنش به دست-آمده از معادله (۳) می‌توان نیمه عمر[9] ترکیب شیمیایی را محاسبه نمود (معادله ٤):

معادله ٤.

$$t_{1/2} = -Ln (1/2). K^{-1}$$

زمان کاهش اعشاری[10] عبارت است از مدت زمان لازم برحسب دقیقه جهت کاهش ۹۰٪ فعالیت ترکیب مورد نظر در دمایی معین که با استفاده از معادله (۵) محاسبه می‌شود:

معادله ۵.

$$D = 2.303/K$$

تغییرات زمان کاهش اعشاری در دماهای مختلف بیان‌گر مقاومت حرارتی[11] ترکیب مورد نظر می‌باشد. مقاومت حرارتی عبارت از میزان افزایش درجه حرارت لازم جهت کاهش یک سیکل لگاریتمی در زمان کاهش اعشاری و یا کاهش به میزان یک سیکل لگاریتمی در منحنی زمان غیرفعال‌سازی حرارتی ترکیب شیمیایی مورد نظر است. میزان اندیس مقاومت حرارتی ترکیب با استفاده از معادله (٦) به‌دست می‌آید:

معادله٦.

$$Z= (T_2 - T_1) / (\log D_1 - \log D_2)$$

در معادله‌ی فوق T_2 و T_1 به ترتیب دماهای متناسب با D_2 و D_1 می‌باشند. میزان اندیس مقاومت حرارتی نیز برابر قرینه و معکوس شیب رگرسیونی منحنی زمان کاهش اعشاری در برابر دما است.

در این تحقیق از دو مدل آرنیوس[12] و آیرینگ[13] جهت بررسی اثر فرایند حرارتی بر تخریب اسید اسکوربیک آب نارنج استفاده شد [۲٤ و ۲۵]. طبق مدل آرنیوس انرژی فعال‌سازی واکنش (ΔE) برابر عکس و قرینه شیب رگرسیونی نمودار ثابت سرعت واکنش در برابر دما می‌باشد که میزان آن نشان‌دهنده‌ی وابستگی دمایی ثابت سرعت غیرفعال‌سازی ترکیب شیمیایی است (معادله ۷):

معادله۷.

$$K= K_0 e^{-Ea/ (RT)}$$

در معادله فوق E_a انرژی فعال‌سازی ($J.mole^{-1}$)، K_0 ثابت آرنیوس یا ضریب تصادم (min^{-1})، R ثابت جهانی گازها ($8/3144\ J.mole^{-1} K^{-1}$) و T دمای مطلق (K) است.

میزان انتالپی (ΔH)، انتروپی (ΔS) و انرژی آزاد گیبس (ΔG) بر اساس مدل ایرینگ بیان می‌گردد. میزان انتالپی (ΔH) $J.mole^{-1}$ در هر دما با استفاده از معادله (۸) محاسبه می‌شود:

معادله۸.

$$\Delta H= \Delta E - RT$$

در معادله‌ی فوق ΔE انرژی فعال‌سازی ($J. mole^{-1}$)، R ثابت جهانی گازها ($8/3144\ J.mole^{-1}.K^{-1}$) و T دمای مطلق (کلوین) است. انرژی آزاد گیبس (ΔG) $J.mole^{-1}$ جهت غیرفعال‌سازی ترکیبات شیمیایی در دماهای مختلف بر اساس معادله‌ی درجه اول (۹) به دست می‌آید:

9. Half-Life
10. Thermal Decimal Time (D- value)
11. Thermal Resistance (Z-value)
12. Arrhenius model
13. Eyring model

معادله ۹.

$$\Delta G = -RT \ln (Kh / k_bT)$$

در معادله‌ی (۹) K ثابت سرعت تجزیه‌ی حرارتی ترکیب شیمیایی، h ثابت پلانک[14] ($J.s$ $^{-34}$۱۰× ۶/۶۲۶۲)، k_b ثابت بولتزمن[15] ($J.K^{-1}$ $^{-23}$۱۰×۱/۳۸۰۶) و T دمای مطلق[16] (K) است. با استفاده از معادلات (۶) و (۷) میزان انتروپی (ΔS) K^{-1} $J.mole^{-1}$ در هر دما طبق معادله (۱۰) محاسبه می‌شود:

معادله ۱۰.

$$\Delta S = (\Delta H - \Delta G) / T$$

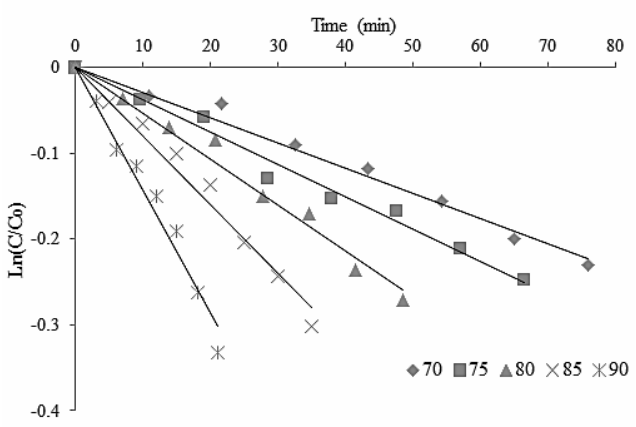
۲-۷- تحلیل آماری

در این تحقیق اثر سطوح مختلف دما و زمان حرارت‌دهی بر محتوای ضداکسایشی (اسید اسکوبیک، فنول کل و DPPH) در قالب طرح فاکتوریل کاملا تصادفی با استفاده نرم‌افزار SAS نسخه ۱. ۹ در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. میانگین‌ها به روش دانکن در سطح معناداری ۹۵ درصد مقایسه و به صورت Mean ± SD ارائه شدند. در این تحقیق، ارتباط میان میزان تغییرات ترکیبات ضداکسایشی مختلف در هر دما، نسبت به زمان فراوری با رگرسیون خطی و به وسیله‌ی نرم افزار Microsoft Excel 2010 تعیین شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- سینتیک تخریب حرارتی اسید اسکوربیک آب نارنج

در این بررسی میزان اسید اسکوربیک آب نارنج تازه برابر ۱/۳۳ ± ۲۶/۲۷ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره بود. با توجه به شکل (۱) محتوای اسید اسکوربیک نمونه‌ها در دماها و زمان‌های مختلف، مشابه نتایج به دست آمده توسط اسیری و همکاران (۲۰۰۳) و ویکرام و همکاران (۲۰۰۵) با ضریب همبستگی بالا (R^2>۰/۹۷) و پیروی از سینتیک درجه‌ی اول کاهش یافت [۱۶ و ۲۶]. آنالیز واریانس (ANOVA) و نیز مقایسه میانگین محتوای اسید اسکوربیک تیمارهای مختلف نشان داد که سطوح متفاوت دما و زمان حرارت‌دهی آب نارنج، تاثیر معناداری (P <۰/۰۵) در مقدار تخریب این ویتامین داشت.



شکل ۱ سینتیک تخریب حرارتی اسید اسکوربیک طی فراوری حرارتی آب نارنج در دماهای ۷۰، ۷۵، ۸۰، ۸۵ و ۹۰ درجه‌سانتی‌گراد

میزان ثابت سرعت واکنش تخریب اسید اسکوربیک آب نارنج طی فراوری حرارتی با توجه به شیب هر خط در شکل (۱) محاسبه شد (جدول ۱).

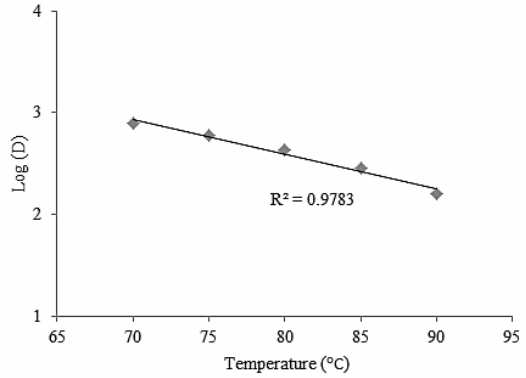
مشابه نتایج گزارش شده توسط بوردورلو و همکاران (۲۰۰۶)، ویکرام و همکاران (۲۰۰۵)، در این بررسی نیز با توجه به شیب هر خط در شکل (۱) می‌توان بیان نمود که با افزایش دما، سرعت تخریب اسید اسکوربیک افزایش یافت [۱۵ و ۱۶]. با استفاده از معادله‌ی (٤) نیمه عمر تخریب اسید اسکوربیک نمونه‌های فراوری‌شده در دماهای مختلف محاسبه و در جدول (۱) نشان داده‌شد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود نیمه عمر تخریب اسید اسکوربیک نمونه به ازای هر ۵ درجه‌سانتی‌گراد افزایش دما حدود ۱/۳۱ تا ۱/۸۰ برابر کاهش یافت که این موضوع نشان‌دهنده‌ی حساسیت حرارتی بالای اسید اسکوربیک نسبت به دمای فراوری می‌باشد.

14. Planck constant
15. Boltzmann constant
16. Absolute Temperature

جدول ۱ نیمه عمر، ثابت سرعت واکنش و زمان کاهش اعشاری تخریب حرارتی اسید اسکوربیک آب نارنج

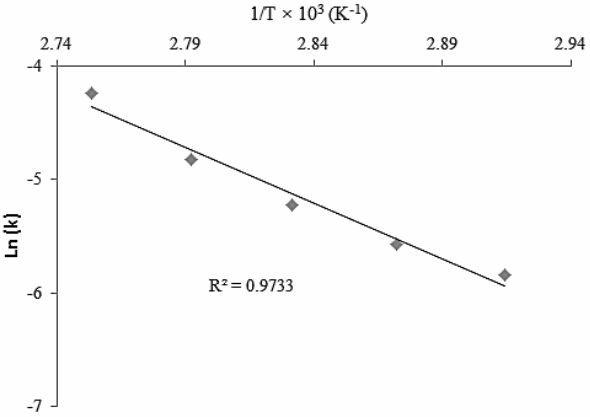
دما (°C)	ثابت سرعت واکنش (min^{-1})	ضریب همبستگی	زمان کاهش اعشاری (min)	نیمه عمر (h)
۷۰	۰/۰۰۲۹± ۰/۰۰۱٤	۰/۹۸	۷۹٤/۱۳	۳/۹۸
۷۵	۰/۰۰۳۸± ۰/۰۰۰۲	۰/۹۸	٦۰٦/۰۵	۳/۰٤
۸۰	۰/۰۰۵٤± ۰/۰۰۰۱۵	۰/۹۷	٤۲٦/٤۸	۲/۱٤
۸۵	۰/۰۰۸±۰/۰۰۰۹	۰/۹۷	۲۸۷/۸۷	۱/٤٤
۹۰	۰/۰۱٤٤± ۰/۰۰۰۱	۰/۹۷	۱۵۹/۹۳	۰/۸

با توجه به میزان ثابت سرعت واکنش تخریب اسید اسکوربیک، زمان کاهش اعشاری این ویتامین در هر دما در جدول (۱) نشان داده‌شد. مطابق شکل (۲) با رسم منحنی نیمه‌لگاریتمی زمان‌های کاهش اعشاری به دست آمده در برابر دما، مقاومت حرارتی اسید اسکوربیک آب نارنج در این بررسی برابر ۲۹/۱۵ درجه‌سانتی‌گراد محاسبه شد که بالا بودن این شاخص به معنی مقاومت حرارتی قابل توجه این ویتامین نسبت به دما می‌باشد.



شکل ۲ منحنی مقاومت حرارتی اسید اسکوربیک آب نارنج

انرژی فعال‌سازی میزان انرژی مورد نیاز جهت شروع یک واکنش است. لی و لابوزا (۱۹۷۵) میزان انرژی فعال‌سازی جهت تخریب اسید اسکوربیک با استفاده از روش‌های مختلف را در محدوده بین ۷/۵٤ تا ۱۲۵/٦ کیلوژول بر مول به دست آوردند [۲۷]. همچنین بوردورلو و همکاران (۲۰۰٦) میزان انرژی فعال سازی مرکبات مختلف را در دامنه بین ۱۲/۷۷ تا ۲۵/۳۹ کیلوژول بر مول گزارش کردند [۱۵]. در این بررسی نیز میزان انرژی فعال‌سازی جهت شروع تخریب حرارتی این ویتامین در آب نارنج با توجه به شیب خط حاصل در شکل (۳) معادل ۸۱/٦۲ $kJ.\ mole^{-1}$ محاسبه شد (R^2>۰/۹۷).



شکل ۳ تغییرات ثابت سرعت غیرفعال‌سازی حرارتی اسید اسکوربیک آب نارنج نسبت به عکس دمای مطلق.

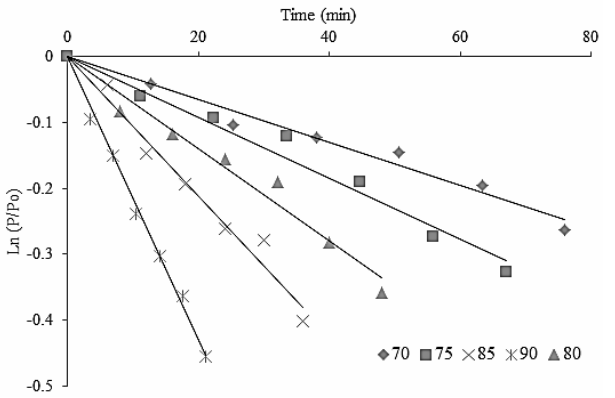
در جدول (۲) با توجه به معادلات ۸، ۹ و ۱۰ میزان انتالپی، انتروپی و انرژی آزاد گیبس تخریب حرارتی اسید اسکوربیک ذکر شد. انتالپی (ΔH) برابر میزان انرژی ممانعت‌کننده‌ای است که باید توسط واکنش‌های مولکولی غلبه شود. انتروپی (ΔS) بیان‌گر تعداد مولکول‌های دارای میزان انرژی کافی جهت انجام واکنش و انرژی آزاد گیبس (ΔG) معیاری جهت تعیین امکان خود به خودی بودن یک واکنش است [۲۸]. در بررسی انجام‌گرفته توسط ویکرام و همکاران (۲۰۰۵)، مقاومت حرارتی، میزان انتالپی و انتروپی تخریب حرارتی اسید اسکوربیک آب پرتقال به ترتیب برابر ۲٤/۳۹ درجه سانتی‌گراد، ۳۷/۰۳ ، ۰/۱٦ کیلوژول بر مول محاسبه شد [۱٦]. از دلایل اختلاف نتایج به دست‌آمده در این بررسی با نتایج گزارش‌شده توسط ویکرام و همکاران (۲۰۰۵) می‌توان به بالاتر بودن مقاومت حرارتی اسید اسکوربیک در آب نارنج، تفاوت در نوع محصول و شرایط آزمایش اشاره کرد.

جدول ۲ تغییرات میزان انتالپی، انتروپی و انرژی آزاد گیبس تخریب حرارتی اسید اسکوربیک آب نارنج

دما (°C)	انتالپی ($KJ.mole^{-1}$)	انرژی آزاد گیبس ($KJ.mole^{-1}$)	انتروپی ($KJ.mole^{-1}.K^{-1}$)
۷۰	۷۸/۷۷	۱۰۱/۱۱	-۰/۰۶۵
۷۵	۷۸/۷۳	۱۰۱/۸۵	-۰/۰۶۶
۸۰	۷۸/۶۹	۱۰۲/۳۲	-۰/۰۶۷
۸۵	۷۸/۶۴	۱۰۲/۶۴	-۰/۰۶۷
۹۰	۷۸/۶۰	۱۰۲/۳۴	-۰/۰۶۵

۳-۲- سینتیک تغییرات حرارتی محتوای فنول کل آب نارنج

محتوای فنول کل آب نارنج تازه برابر ۳/۳۷ ± ۱۴۸/۲۱۴ میلی‌گرم در لیتر عصاره بود. مشابه نتایج گزارش شده توسط ایگوال و همکاران (۲۰۱۰) با توجه به حساسیت حرارتی ترکیبات ضداکسایشی، طی فراوری محتوای فنول کل نمونه کاهش یافت [۱۸]. در شکل (٤) روند تخریب حرارتی خطی ترکیبات فنولی آب نارنج طی فرایند حرارتی نشان داده شد (R^2>۰/۹۷). مشابه تخریب حرارتی اسید اسکوربیک، آنالیز واریانس (ANOVA) و نیز مقایسه میانگین نشان داد که سطوح متفاوت دما و زمان حرارت‌دهی تاثیر معناداری در مقدار تخریب محتوای فنول کل داشت (P <۰/۰۵).



شکل ٤ پروفایل تخریب حرارتی ترکیبات فنولی طی فراوری حرارتی آب نارنج در دماهای ۷۰، ۷۵، ۸۰، ۸۵ و ۹۰ درجه‌سانتی‌گراد

با توجه به شیب هر خط در شکل (٤) ثابت سرعت واکنش کاهش محتوای فنول کل آب نارنج طی فراوری حرارتی در دماهای مختلف محاسبه شد (جدول ۳).

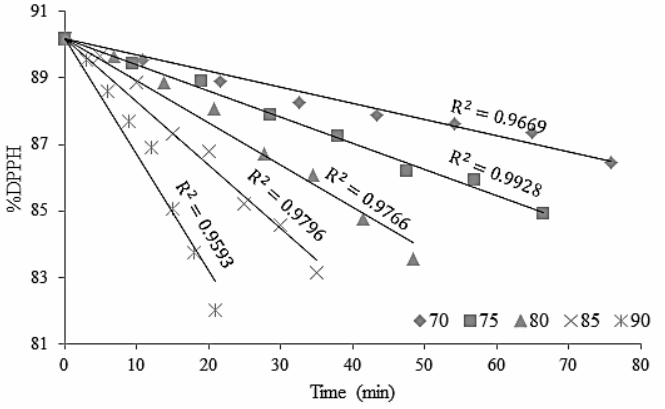
جدول ۳. ثابت سرعت واکنش تخریب فنول کل آب نارنج در دماهای ۷۰، ۷۵، ۸۰، ۸۵ و ۹۰ درجه‌سانتی‌گراد

دما (°C)	ثابت سرعت واکنش (min^{-1})	ضریب همبستگی	نیمه عمر (h)
۷۰	۰/۰۰۳۳± ۰/۰۰۰۳۵	۰/۹۸	۳/۵۰
۷۵	۰/۰۰٤٦± ۰/۰۰۰۰۵	۰/۹۷	۲/۵۱
۸۰	۰/۰۰۷± ۰/۰۰۰۹	۰/۹۷	۱/٦۵
۸۵	۰/۰۱۰٦± ۰/۰۰۰۲	۰/۹۷	۱/۰۹
۹۰	۰/۰۲۱٦± ۰/۰۰۱	۰/۹۹	۰/۵۳

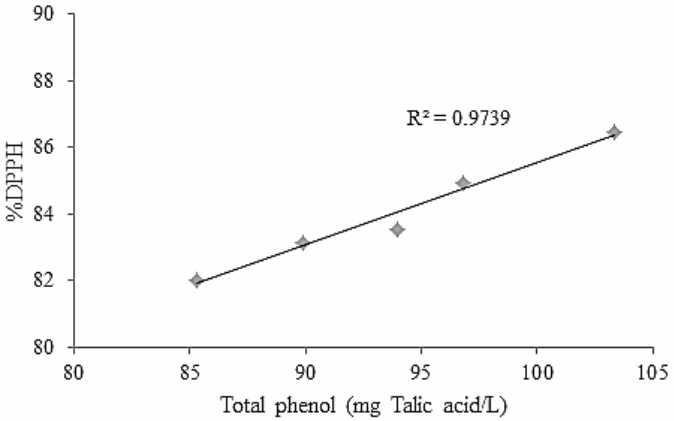
با توجه به ثابت سرعت واکنش به دست آمده می‌توان بیان نمود که با افزایش دما، محتوای فنول کل آب نارنج با سرعت بالاتری کاهش یافت. همچنین می‌توان بیان نمود که به ازای هر ۵ درجه سانتی‌گراد افزایش دمای فراوری نیمه عمر تخریب محتوای فنولی کل در حدود ۱/۳۹ تا ۲/۰۵ برابر کاهش یافت که این موضوع نیز تاییدی بر حساسیت حرارتی بالای ترکیبات ضد اکسایشی می‌باشد.

۳-۳- سینتیک تغییرات ظرفیت ضداکسایشی آب نارنج طی فراوری حرارتی

اساس روش اندازه‌گیری تغییرات ظرفیت ضداکسایشی، بی‌رنگ شدن محلول DPPH توسط ترکیبات ضداکسایشی موجود درآب نارنج است. از این‌رو با افزایش دما و افزایش نرخ تخریب ترکیبات فنولی آب نارنج، ظرفیت ضداکسایشی محصول نیز مطابق شکل (۵) به صورت خطی کاهش یافت (R^2>۰/۹۵). این نتیجه مشابه نتایج به دست آمده توسط هونگ و همکاران (۲۰۰٤) و ایگوال و همکاران (۲۰۱۰) است [۱۷ و ۱۸]. سطوح مختلف دما و زمان طی حرارت‌دهی آب نارنج، تاثیر معناداری در مقدار تخریب این فاکتور داشت (P <۰/۰۵). از این‌رو، با افزایش دما و تخریب ترکیبات ضداکسایشی، مطابق شکل (٦) همبستگی بالایی میان محتوای فنولی محصول و میزان مهار رادیکال‌های آزاد مشاهده شد (R^2> ۰/۹۷)، نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده توسط توسط عرب شاهی و عروج (۲۰۰۷) و گاردنر و همکاران (۲۰۰۰) تاییدی بر تاثیر بالای محتوای فنولی کل محصول بر میزان ظرفیت ضداکسایشی بر اساس میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH است [۱۰ و ۱۱].



شکل ۵ پروفایل تخریب حرارتی ظرفیت ضداکسایشی طی فراوری حرارتی آب نارنج در دماهای ۷۰، ۷۵، ۸۰، ۸۵ و ۹۰ درجه‌سانتی‌گراد



شکل ٦ ارتباط رگرسیونی میان محتوای فنول کل و ظرفیت ضداکسایشی آب نارنج پس از فراوری حرارتی

٤- نتیجه‌گیری

فراوری حرارتی آب نارنج از مرسوم‌ترین روش‌های مورد استفاده جهت سالم‌سازی محصولات غذایی به شمار می‌رود. با توجه به حساسیت ترکیبات ضداکسایشی به دما، کاهش این ترکیبات طی فراوری حرارتی اجتناب ناپذیر است. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این بررسی و مقایسه آن با سایر پژوهش‌های انجام شده توسط دیگر محققان می‌توان بیان نمود که با افزایش دما نرخ تخریب اسید اسکوربیک و محتوای فنول کل نمونه افزایش می‌یابد. با توجه به همبستگی بالای میان محتوای فنول کل و DPPH آب نارنج، مشاهده شد که با افزایش دما و افزایش نرخ تخریب محتوای فنول کل، میزان ظرفیت ضداکسایشی نمونه نیز کاهش یافت. همچنین بر اساس نتایج به دست‌آمده مشاهده شد که با کاهش دمای فرایند، نیمه عمر تخریب اسید اسکوربیک و ترکیبات فنولی و در نتیجه ظرفیت ضداکسایشی نمونه افزایش یافت. تغییر کم انتالپی طی فرایند حرارتی آب نارنج نشان‌دهنده‌ی تغییر ناچیز ساختار اسید اسکوربیک با تغییر دما است که دلیل آن مقاومت حرارتی و انرژی آزاد گیبس نسبتاً بالای این ویتامین است [۲۹].

۵- منابع

[1] He, X., Lian, L., Lin, L. and Bernart, M. 1997. High-performance liquid chromatography–electrospray mass spectrometry in phytochemical analysis of sour orange (*Citrus aurantium* L.). *Journal of Chromatography A*, 791, 127-134.

[2] Di Majo, D., Giammanco, M., La Guardia, M., Tripoli, E., Giammanco, S. and Finotti, E. 2005. Flavanones in Citrus fruit: Structure-antioxidant activity relationships. *Food Research International*, 38, 1161-1166.

[3] Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., PerezAlvarez, J. A. and Kuri. V. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *American Meat Science*, 69 (3), 371-380.

[4] Jayaprakasha, G. K. and Patil, B. S. 2007. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Journal of Food Chemistry*, 101(1), 410-418.

[5] Zulueta, A., Esteve, M. J., Frasquet, I. and Frigola A. 2007. Vitamin C, vitamin A, Phenolic compunds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain. *Journal of Food chemistry*, 103, 1365-1374.

[6] Davey, M. W., Montagu, M. V., Inze, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., Benzie, I. J. J., Strain, J. J., Favell, D. and Fletcher, J. 2000. Review: plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 (7), 825-860.

[7] Yu, L. L., Zhou, K. K., and Parry, J. 2005. Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry and hemp seed oils. *Journal of Food Chemistry*, 91, 723−729.

[8] Gorinstein, S., Haruenkit, R., Park, Y. S., Jung, S. T., Zachwieja, Z., Jastrzebski, Z., Katrich, E., Trakhtenberg, S. and Belloso, O. M. 2004. Bioactive compounds and antioxidant potential in fresh and dried Jaffa sweeties, a new kind of citrus fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84 (12), 1459–1463.

[9] Miller, N. J. and Rice-Evans, C. A. 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidants to the activity of orange and apple fruit juices and black currant drink. *Journal of Food Chemistry*. 60 (3), 331–337.

[10] Arabshahi-Delouee, S. and Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. *Journal of Food Chemistry*, 102: 1233–1240.

[11] Gardner, P. T., White, T. A. C., McPhail, D. B., Duthie, G. G. 2000. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Journal of Food Chemistry*, 68, 471-474.

[12] Polydera, A. C., Stoforos, N. G. and Taoukis, P. S. 2003. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurized and high pressure processed reconstituted orange juice. *Journal of Food Engineering*, 60 (1), 21-29.

[13] Lima, M., Heskitt, B. F., Burianek, L. L., Nokes, S. E., and Sastry, S. K. 1999. Ascorbic acid degradation kinetics during conventional and ohmic heating. *Journal of Food Processing and Preservation*, 23(5), 421–434.

[14] Manso, M. C., Oliveira, F. A. R., Oliveira, J. C., and Frias, J. M. 2001. Modeling ascorbic acid thermal degradation and browning in orange juice under aerobic conditions. International *Journal of Food Science and Technology*, 36, 303–312.

[15] Burdulu, H. S., Koca, N. and Karadeniz, F. 2006 Degradation of vitamin C in citrus juice concentration during storage. *Journal of Food Engineering*, 74 (2), 211-216.

[16] Vikram, V. B., Ramesh, M. N. and Prapulla, S. G. 2005. Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. *Journal of Food Engineering*, 69, 31-40.

[17] Hong, Yun-jeong, Barrett, Diane M., Mitchell, Alyson E. 2004. Liquid chromatography/mass spectrometry investigation of the impact of thermal processing and storage on peach procyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 2366-2371.

[18] Igual, M., Garcia-Martinez, E., Camacho, M. M. and Martinez-Navarrete, N. 2010. Effect of thermal treatment and storage on stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice. *Journal of Food chemistry*, 118, 291-299.

[19] Tajchakavit, S. & Ramaswamy, H.S. 1997. Thermal vs. Microwave inactivation kinetics of pectin methylesterase in orange juice under batch mode heating conditions. *Lwt - Food Science and Technology*, 30, 85-93.

[20] Kashyap, G. and Gautam, M. D. 2012. Analysis of Vitamin C in Commercial and Naturals substances by Iodometric Titration found in Nimar and Malwaregeion. *Journal of Scientific Research in Pharmacy*. 1(2), 77-78.

[21] Vasco, C., Ruales, J. and Kamal-Eldin, A. 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Journal of Food Chemistry*, 111: 816–823.

[22] National Standard of Iran, No. 8986-1, Green and black tea- determination of substances characteristic of green and black tea- Part 1: content of total polyphenols in tea- colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent, First Edition.

[23] Ramadan-Hassanien, M. F. 2008. Total antioxidant potential of juices, beverages and hot drink consumed in Egypt screened by DPPH in vitro assay. *Grasas y Aceites*, 59 (3), 254-259.

[24] Eyring, H. 1935. The activated complex and the absolute rate of chemical reactions. *Chemical Reviews*, 17, 65-77.

[25] Sensoy I., Zhang, Q. H. and Sastry, S. K. 1997. Inactivation kinetics of Salmonella Dublin by pulsed electric field. *Journal of Food Process Engineering*, 20(5), 367-381.

[26] Assiry, A., Sastry, S. K. and Samaranayake, C. 2003. Degradation kinetics of ascorbic acid during ohmic heating with stainless steel electrodes. *Journal of Applied Electrochemistry*, 33,187-196.

[27] Lee, S. H., and Labuza, T. P. 1975. Destruction of ascorbic acid as function of water activity. *Journal of Food Science*, 40, 370–373.

[28] Klavons, J. A., Bennett, R. D. and Vannier, S. H. 1991. Nature of the protein constituent of commercial orange juice cloud. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 1546−1548.

[29] Kouadio, E. J. P., Konan, H. K., Dabonne, S., Due, E. A. Kouame, L. P. 2013. Study of thermal stability of α- amylases sourced from digestive tract of the tropical house cricket Gryllodes sigillatus (orthoptera: gryllidae): kinetic and thermodynamic analysis. *Journal of Novel Applied Sciences*. 2 (3), 74-82.

Degradation kinetics of ascorbic acid, total phenolic and antioxidant content of sour orange juice during thermal processing

Aghajanzadeh Suraki, S. [1*], Ziaiifar, A. M. [2], Kashaninejad, M. [3], Maghsoudlou, Y. [4], Esmailzadeh, E. [5]

1. Master degree student in Food Science and Technology. Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
2. Assistant Professor in Food Engineering Department of Food Process Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
3. Associate Professor in in Food Engineering Department of Food Process Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
4. Associate Professor in Food Science and Technology Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
5. Ph.D in Biosystem Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

(Received: 93/1/6 Accepted: 93/9/26)

Sour orange is a citrus with high antioxidant content (mainly ascorbic acid and phenolic compound). Its juice is consumed as a food seasoning. Thermal pasteurization is a common way to improve safety of sour orange juice. By considering the high thermal sensitivity of ascorbic acid and phenolic compounds, the aim of this study is the investigation of the effect of thermal processing on ascorbic acid, total phenol and an antioxidant capacity of sour orange juice at 70, 75, 80, 85 and 90 °C in 76, 66, 48, 35 and 21 min, respectively. Ascorbic acid and total phenolic content were measured according iodine titration and Folin-Ciocalteu methods, respectively. Ascorbic acid and total phenol degradation during thermal processing were evaluated by Arrhenius and Eyring models. Enthalpy of ascorbic acid degradation changed slightly due to its high thermal resistance (29.15°C) and free energy (101.11-102.64 kJ. $mole^{-1}$). With 5°C increase in temperature, the half-life of ascorbic acid and the total phenol content decreased about 1.31 to 1.80 and 1.39 to 2.05 times, respectively. Also there was a good correlation between total phenol content and DPPH of sour orange juice (R^2> 0.97).

Key Words: Sour Orange Juice, Ascorbic Acid, Antioxidant Capacity, Thermal Processing, Total Phenol

*Corresponding Author E-Mail Address:saraaghajanzadeh@yahoo.com