

# مقایسه اثر اسید فرولیک و اسید تانیک بر پایداری رنگ و ویژگیهای آرگانولپتیکی آب انار در زمان‌های مختلف نگهداری در دمای ۵°C

سیما صبحی<sup>۱</sup>، محمد حسین عزیزی<sup>۲\*</sup>، محسن برزگر<sup>۳</sup>، اقدس تسلیمی<sup>۴</sup>

۱- فارغ التحصیل دوره کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۳- مریب، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

(تاریخ دریافت: ۸۷/۹/۱۷ تاریخ پذیرش: ۸۸/۳/۲۳)

## چکیده

رنگ قرمز آب انار مربوط به رنگدانه آنتوسیانین می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که آنتوسیانینهای آب انار پایداری کمی در طی فرایند و نگهداری دارند و باگذشت زمان رنگ آب انار بطور مشخصی کاهش می‌یابد. کوپیگمتاسیون بین آنتوسیانینها و ترکیبات کوپیگمنت نظیر اسیدهای فنولیکی و فلاونوئیدها، مکانیسم اصلی پایداری رنگ آنتوسیانینها است و در حال حاضر به عنوان یکی از فاکتورهای مهم پایدار کننده ساختار و رنگ آنتوسیانینها در سیستمهای زنده بشمار می‌رود. آنتوسیانین کوپیگمنت شده دارای رنگ قوی، درخشان و پایدارتری نسبت به آنتوسیانین کمپلکس نشده می‌باشد.

هدف از این تحقیق، بررسی مقایسه اثر اسید فرولیک و تانیک در سطوح مختلف ۹۲۰، ۴۶۰ و ۲۳۰ mg/lit در طی ۶۰ روز نگهداری می‌باشد. جهت بررسی پایداری رنگ، در تیمارها و نمونه شاهد تغییرات ماکریم جذب نور، تغییرات طول موج ماکریم جذب نور، تغییرات کل رنگ و میزان کل آنتوسیانینها بر ترتیب با استفاده از اسپکتروفوتومتر، رنگ سنج مجهز به سیستم هانتر لب و HPLC در روزهای ۱، 10، 20، 30 و 60 در دمای نگهداری ۵°C ارزیابی شد. همچنین میزان پذیرش نمونه‌ها در روزهای ۱ و 60 در دمای ۵°C توسط ارزیابان آموزش دیده بررسی گردید. نتایج نشان داد میزان کل آنتوسیانینها، میزان قرمزی، ماکریم جذب نور و طول موج ماکریم جذب نور نمونه‌های تیمار شده با ۹۲۰ mg/lit، ۴۶۰ و ۲۳۰ mg/lit اسید تانیک در مقایسه با نمونه شاهد بطور مشخصی ( $P<0/05$ ) در طی 60 روز نگهداری افزایش یافت. با افزایش غلاظت اسید فرولیک و اسید تانیک میزان پذیرش طعم آب انار تیمار شده با اسید فرولیک در غلاظتهای ۹۲۰، ۴۶۰ و ۲۳۰ mg/lit بیشتر از اسید تانیک در غلاظت‌های مشابه مشاهده شد.

کلید واژه گان: آب انار، اسید فرولیک، اسید تانیک، آنتوسیانینها، ارزیابی حسی

## ۱- مقدمه

۶۵۰۰۰ هزار تن در دنیا است [۲]. مطالعات بیولوژیکی اخیر ثابت کرده که ترکیبات ویژه موجود در آب انار در کاهش فشار خون، کاهش اکسیداسیون کلسترول بد خون، جلوگیری از بیماریهای قلبی عروقی و انسداد رگهای خونی مؤثر است [۳]. لذا توجه به

انار (pomegranate) با نام علمی *L. punica granatum* بکی از قدیمی ترین میوه‌های شناخته شده می‌باشد که بطور وسیعی در کشورهای مدیترانه‌ای و کشورهایی مانند ایران، افغانستان و هند کشت می‌شود [۱]. ایران اولین تولید کننده انار با بیش از

\*مسئول مکاتبات: azizit\_m@modares.ac.ir

تاکنون تحقیقی در زمینه اثر افزودن ترکیبات کوپیگمنت بر افزایش پایداری و شدت رنگ آب انار در دما و زمانهای مختلف نگهداری انجام نشده است. مطالعات نشان می دهد که یکی از راههای مؤثر در حفظ رنگ آنتوسیانینها در سیستم های زنده اتصال و تجمع آنها با ترکیباتی به نام کوپیگمنت می باشد. رنگ آنتوسیانین ها با پدیده کوپیگمتاسیون می تواند پایدار و حفظ گردد و در این حالت آنتوسیانین کوپیگمنت شده رنگ قوی، درخشان و پایدارتری نسبت به آنتوسیانین کمپلکس نشده دارد [12]. کوپیگمنت ها قادرند از طریق اتصال با آنتوسیانینها، آنها را از دسترس آب و واکنشهای نابود کننده حفظ نمایند. تشکیل کمپلکس بین آنتوسیانین و ترکیبات کوپیگمنت، واکنش کوپیگمتاسیون نام دارد و این کمپلکس با ایجاد تغییرات در ماکریم جذب (ΔA<sub>max</sub>=hyperchromic) یا (شدت رنگ) و تغییرات در طول موج ماکریم جذب (Δλ=bathochromic) قابل اندازه گیری است [13]. کوپیگمتاسیون قویاً تحت تأثیر ساختار و غلظت مولکول آنتوسیانین و بویژه کوپیگمنت، pH، دما، نور و اشعه UV می باشد. کوپیگمنت ها بطور طبیعی در گیاهان عالی یافت می شوند و تا کنون محدوده بسیار وسیعی از ترکیبات با ساختار متفاوت به عنوان کوپیگمنت شناسایی شده اند که متداولترین آنها فلاونوئیدها، اسیدهای آلی و ترکیبات فنولی می باشد [14].

در مطالعه ای که توسط Talcott و همکارانش در سال 2003 روی افزایش شدت رنگ آب انگور قرمز صورت گرفت، نتایج نشان داد افزودن اسید رزمارینیک در مقادیر 0/0% و 0/4% در روز اول منجر به افزایش میزان کل آنتوسیانینهای آب انگور قرمز از mg/lit 1210 در لیتر در نمونه شاهد بترتیب به 1220 و 1240 در لیتر گردید [12].

Mazza و Brouillard در سال 1990 در سیستم مدل با بررسی اثر اسید کلروژنیک بر پایداری رنگ آنتوسیانینهای مختلف نظری سیانیدین 3-5-دی گلوکوزید، مالویدین 3- گلوکوزید، سیانیدین 3- گلوکوزید در نسبتهای مولی مختلف 1:10، 1:20، 1:40، 1:80، 1:100 کوپیگمنت: آنتوسیانین، دریافتند با افزایش میزان کوپیگمنت و همچنین افزایش غلظت آنتوسیانین، میزان جذب و تغییرات طول موج ماکریم به طور مشخصی افزایش یافت [14].

تولید و صادرات آب انار آنهم با کیفیت مناسب بسیار حائز اهمیت می باشد. رنگ قرمز آب انار مربوط به رنگدانه های آنتوسیانین می باشد. آنتوسیانینها، مشتقان گلیکوزیدی پلی هیدروکسیل و متوكسیل نمکهای 2-فنیل بنزوپیریلیوم، رنگدانه غیر سمی و محلول در آب است که بطور گسترده ای در طبیعت یافت می شود و رنگهای قرمز، آبی، بنفش، ارغوانی و سیاه در بسیاری از میوه ها، سبزیجات و گلها مربوط به آن می باشد، امروزه به دلیل خواص فراوان نظیر فعالیت آنتی اکسیدانی و ویژگیهای فیزیولوژیکی مختلف از جمله خواص ضد سرطانی، ضد التهاب، ضد حساسیت و پیشگیری از انسداد شریان قلب، کاهش کلسترول و فشار خون بالا و... مصرف آنتوسیانینها در دنیا بسیار مورد توجه قرار گرفته است [4]. انار منع بسیار خوبی از آنتوسیانین است که در قسمت های مختلف آن از جمله پوست و دانه وجود دارد. در آب انار 6 نوع آنتوسیانین شامل سیانیدین 3- گلوکوزید، سیانیدین 3 و 5-دی گلوکوزید، پلارگونیدین 3 و 5-دی گلوکوزید، پلارگونیدین 3 و 5-دی گلوکوزید، دلفینیدین 3- گلوکوزید و دلفینیدین 3 و 5-دی گلوکوزید یافت می شود. در مرحله پایانی و زمان برداشت، مونو گلوکوزیدها رنگدانه های اصلی انار می باشند و در این حالت مشتقات سیانیدینی غالبد [5]. مطالعات نشان می دهد که آنتوسیانینهای آب انار پایداری کمی در طی نگهداری دارند و با گذشت زمان میزان آنها بویژه در دمای بالای نگهداری بطور مشخصی کاهش می یابد [6]. با توجه به اینکه رنگ از جنبه های کیفی مهم غذاهای فرآوری شده و فرآوری نشده می باشد و همراه با طعم و بافت نقش مهمی را در مقبولیت آنها دارد، لذا حفظ این رنگدانه ها در طی فرایند و زمان نگهداری از اهمیت ویژه ای برخوردار است. پایداری رنگ آنتوسیانینها تا حدود زیادی تحت تأثیر ساختمان شیمیابی و غلظت آنها، دمای نگهداری، حضور اکسیژن، نور، قندها، آنزیمهها، اسید اسکوربیک، pH و حضور ترکیبات کمپلکس شونده (کوپیگمنت ها) با آنها است [7]. تاکنون مطالعاتی در زمینه اثر دماهای مختلف نگهداری بر سرعت تخریب آب انار بر کنسانتره و آب انار [8]، اثر روشهای مختلف استخراج آب انار بر ویژگیهای کیفی آن در طی نگهداری [9]، اثر مواد بسته بندی مختلف [10] و همچنین اثر اسید اسکوربیک و دماهای مختلف نگهداری [11] بر رنگ و ترکیبات ویژه آب انار صورت گرفته اما

## 2- مواد و روشها

در این تحقیق برای تهیه آب انار از کنسانتره انار نار ایران که در دی ماه 1385 تولید و پس از آن در دمای  $18^{\circ}\text{C}$ - نگهداری شده بود، استفاده گردید. اسید فرولیک و اسید تانیک از شرکت Merck خریداری شد. برای تهیه نمونه ها ابتدا بر اساس ویژگیهای آب انار تعریف شده در استاندارد ملی 2616 ایران، مواد اولیه شامل کنسانتره انار، شکر و آب بطور یکنواخت توسط میکسر مخلوط و آب انار با بریکس 14 تهیه شد[19]. برای تهیه تیمارها، اسید فرولیک و اسید تانیک در سطوح مختلف  $230\text{ mg/lit}$  و  $460\text{ mg/lit}$  و  $920\text{ mg/lit}$  در لیتر به آب انار اضافه گردید و در مجموع 35 نمونه کامل همگن و یکنواخت تهیه شد. سپس نمونه ها در دمای  $85^{\circ}\text{C}$  به مدت حدود 5 دقیقه پاستوریزه شدند. برای آنالیز نمونه ها و انجام آزمون ارزیابی حسی در روز اول از هر 7 نمونه شامل نمونه شاهد، آب انار با  $230\text{ mg/lit}$  اسید فرولیک (تیمار 1)،  $460\text{ mg/lit}$  اسید فرولیک (تیمار 2) و  $920\text{ mg/lit}$  اسید فرولیک (تیمار 3) و آب انار با  $230\text{ mg/lit}$  اسید تانیک (تیمار 4)،  $460\text{ mg/lit}$  اسید تانیک (تیمار 5) و  $920\text{ mg/lit}$  اسید تانیک (تیمار 6) بطور تصادفی انتخاب گردید. سایر نمونه ها در يخچال ( $5\pm2^{\circ}\text{C}$ ) جهت آنالیز در روزهای 10، 20، 30 و 60 نگهداری شد.

- آزمون اندازه گیری مقدار کل آنتوسیانینها: برای اندازه گیری مقدار کل آنتوسیانینها مطابق با روش Miguel و همکارانش(2004) و با استفاده از دستگاه HPLC شرکت Waters مدل 600 ساخت کشور آمریکا با ستون C18 (25cm  $\times$  0.4cm i.d; 5  $\mu\text{m}$  particale size نوع ضریب شکست (510nm) uv-vis شد. فاز متحرک شامل اسید فرمیک 5% (A) و متانول (B) بود که متانول در 15 دقیقه اول بصورت گرادیان خطی از 15% به 35% افزایش یافت و بعد از آن بصورت ایزوکراتیک تا 20 دقیقه ادامه یافت. سرعت جريان فاز متحرک 1 ml/min بود. قبل از تزریق نمونه آب انارها را از صافی نایلونی 0/45  $\mu\text{m}$  برای حذف ترکیبات مزاحم، عبور داده و پس از آن به دستگاه HPLC تزریق گردید. حجم تزریق 20 میکرولیتر و دمای ستون  $40^{\circ}\text{C}$  بود. غلظت آنتوسیانینهای آب انار با استفاده از منحنی های استاندارد آنتوسیانینهای سیانیدین 3- گلوکوزید، سیانیدین 3 و 5- دی گلوکوزید، پلارگونیدین 3-

Darias-Martin و همکارانش در سال 2002 در زمینه اثر اسید کافیک بر رنگ شراب تهیه شده از دو گونه انگور قرمز negramoll و listannegro در غلظت های مختلف اسید 240، 480 و 960 در لیتر نشان داد با بالا بدن غلظت اسید کافیک رنگ هر دو نوع شراب بطور مشخصی افزایش یافت و غلظت 960mg/lit در لیتر منجر به افزایش شدت رنگ در حدود 75% در شراب انگور negramoll و 45% در شراب انگور listannegro شد[15].

نتایج بررسی Bakowska و همکارانش در سال 2003 در زمینه اثر فلاون scutellaria بر پایداری رنگ آنتوسیانین سیانیدین 3- گلوکوزید در نسبتهای مولی مختلف 1:0، 1:1، 1:2 و 1:3 کوپیگمنت: آنتوسیانین، نشان داد با افزایش نسبت مولی کوپیگمنت: آنتوسیانین، میزان جذب و تغییرات طول موج ماکریم به طور مشخصی افزایش یافت بطور تیکه در نسبت مولی 1:3 ماکریم جذب 2/2 برابر بیشتر از نمونه شاهد (1:0) گردید[16]. Heinonen و Eiro در سال 2002 در بررسی اثر کوپیگمنت های مختلف نظری اسید گالیک، اسید کافیک، اسید فرولیک، اسید رزمارینیک و اسید کلروژنیک بر پایداری رنگ آنتوسیانینهای پلارگونیدین 3- گلوکوزید، سیانیدین 3- گلوکوزید، مالویدین 3- گلوکوزید، سیانیدین 3- (کومارویل- گلوکوزیل) گالاكتوزید، سیانیدین 3- (گلوکوزیل- گزیلوزیل) گالاكتوزید دریافتند قویترین کوپیگمنت برای تمامی آنتوسیانینها اسید فرولیک و اسید رزمارینیک بود اما افزایش رنگ آنتوسیانینها در طول 6 ماه انبار مانی توسط اسید رزمارینیک پایداری کمی در طی نگهداری داشت .[17]

Rein و Heinonen در سال 2004 با بررسی اثر اسیدهای فنولیکی مختلف شامل اسید فرولیک، اسید سیناپیک، اسید رزمارینیک بر پایداری رنگ آب توت فرنگی، آب رزبری (raspberry) و آب کرن بری (cranberry) نشان دادند میزان آنتوسیانین دارد. اسیدهای فنولیکی بر پایداری رنگ آب توت فرنگی و آب رزبری که آنتوسیانین آنها از نوع مونو گلوکوزید است مؤثرتر از آبمیوه کرن بری می باشد که آنتوسیانین آن از نوع آسیله است [18].

و همچنین پس از خارج شدن از یخچال در روز 60 در لیوان های شفاف بی رنگ که با اعداد سه رقمی تصادفی کد گذاری شده بودند با نظم معین در اتاق حاوی نور سفید فلورسانست به ارزیاب ها ارائه گردید. ارزیاب ها ما بین بررسی نمونه ها دهانشان را با آب شستشو می دادند.

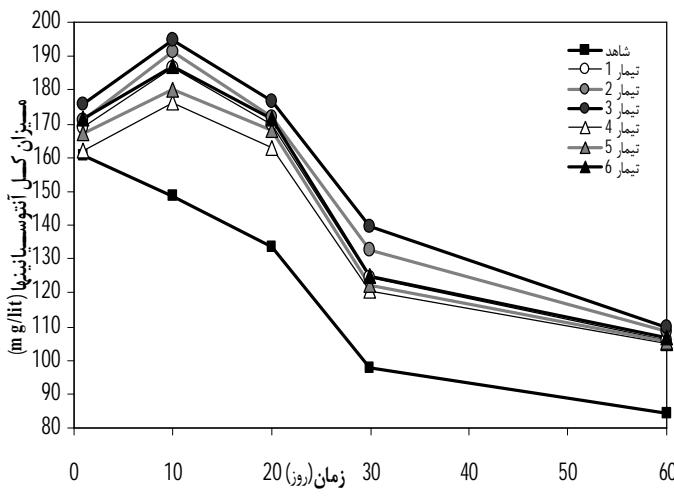
## 1-2- روش آماری و تجزیه و تحلیل داده ها

نتایج بدست آمده در مورد هر یک از متغیرها در روزهای مختلف با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 11 و بکارگیری تست کروکال والیس برای ارزیابی حسی و همچنین تست آماری آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA برای ارزیابی تغییرات کل رنگ، مقدار کل آنتوسیانینها، تغییرات ماکزیمم جذب نور و تغییرات طول موج ماکزیمم جذب نور مورد بررسی قرار گرفتند.

## 3- نتایج

### 3-1- یافته های مربوط به اندازه گیری مقدار کل آنتوسیانینها

یافته های مربوط به اندازه گیری مقدار کل آنتوسیانینها در نمونه شاهد و نمونه های تیمار شده با اسید فرولیک و اسید تانیک در روز اول و روزهای مختلف دهم، بیستم، سی ام و شصتم در دمای 5°C در شکل شماره 1 نشان داده شده است.



شکل 1 مقدار کل آنتوسیانینها در دمای 5°C طی مدت 60 روز نگهداری

گلوکوزید، پلارگونیدین 3 و 5-دی گلوکوزید، دلفینیدین 3-گلوکوزید و دلفینیدین 3 و 5-دی گلوکوزید در غلط های مختلف (0/01, 0/02, 0/04, 0/08 mg/L) و حجم تزریق 20 میکرولیتر محاسبه گردید. آزمایش فوق برای هر نمونه در 2 تکرار انجام شد [9].

- آزمون تعیین تغییرات ماکزیمم جذب و طول موج ماکزیمم جذب: این آزمون مطابق با روش Mazza و Brouillard (1990) و با استفاده از دستگاه طیف سنج نوری (uv-vis) مدل Scinco 2100 ساخت کشور کره جنوبی در دامنه طول موج 450 تا 600 نانومتر انجام گفت. طول موج ماکزیمم جذب نور و ماکزیمم جذب نور نمونه ها در مقایسه با آب مقطر به عنوان نمونه شاهد اندازه گیری و سپس  $\Delta A_{max}$  و  $\Delta \lambda_{max}$  در هر روز با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید [14]. آزمایش فوق برای هر نمونه در 3 تکرار انجام شد.

$$\text{نمونه } - \lambda_{max} \text{ تیمارها و نمونه شاهد در سایر روزها} = \Delta \lambda_{max} \text{ شاهد (روز اول)}$$

$$\text{نمونه } - A_{max} \text{ تیمارها و نمونه شاهد در سایر روزها} = \Delta A_{max} \text{ شاهد (روز اول)}$$

- آزمون تعیین تغییرات کل رنگ: این آزمون مطابق با روش Yawadio و Morita (2007) و با استفاده از رنگ سنج Colorflex, VA, USA مدل Hunter Colorimeter ساخت کشور آمریکا، پارامترهای روشنایی  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  = زردی، قرمزی = a\* اندازه گیری شد و نمونه ها در ظرف مخصوص کدورت سنج (30 ml) به دستگاه منتقل گردید [20]. آزمایش فوق برای هر نمونه در 3 تکرار انجام شد.

$$\Delta E = [(\Delta a^*)^2 + (\Delta L^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

- آزمون ارزیابی حسی: جهت تعیین میزان لذت بخشی یا عبارت ساده تر میزان دوست داشتن یا دوست نداشتن نمونه های آب انار تیمار شده با اسید تانیک و اسید فرولیک در روز 1 و روز 60 از 20 ارزیاب آموزش دیده و تکینگ لذت بخشی (Hedonic scale) استفاده گردید. در این روش پذیرش نهایی توسط مقیاس 5 نقطه ای شامل 1 برای دوست داشتن، 2 کمی دوست داشتن، 3 بی تفاوت بودن، 4 کمی دوست نداشتن و 5 دوست نداشتن تعیین گردید. نمونه ها پس از تهیه در روز اول

با استفاده از آزمون تکمیلی Tukey مشخص گردید میزان کل آنتوسیانینها در نمونه شاهد و نمونه های تیمار شده با هر دو نوع اسید در دمای نگهداری  $5^{\circ}\text{C}$  با یکدیگر اختلاف معنی دار آماری دارند ( $P<0/05$ ).

### 3-2- یافته های مربوط به تعیین تغییرات ماکریزیم ( $\Delta A_{\max}$ )

یافته های مربوط به تعیین تغییرات ماکریزیم جذب نور (شدت رنگ) در نمونه شاهد و نمونه های تیمار شده با اسید فروولیک و اسید تانیک در روز اول و روزهای مختلف دهم، بیستم، سی ام و شصتم در دمای  $5^{\circ}\text{C}$  در جدول شماره 1 نشان داده شده است. بر اساس روش آماری ANOVA و با استفاده از آزمون تکمیلی Tukey مشخص گردید که میزان تغییرات ماکریزیم جذب نور نمونه های شاهد و تمامی تیمارها در روزهای 1، 10، 20 و 30 در دمای  $5^{\circ}\text{C}$  با یکدیگر اختلاف معنی دار آماری دارند ( $P<0/05$ ).

در شرایط تعریف شده  $5^{\circ}\text{C}$  در طی ده روز اول نگهداری ماکریزیم جذب نور در تمامی نمونه ها بجز نمونه شاهد افزایش یافت و تا روز بیستم نیز میزان ماکریزیم جذب نور نمونه های تیمار شده تقریباً مشابه ماکریزیم جذب نور آنها در روز اول بود که این مسئله نشان می دهد رنگدانه های آب انار تا بیست روز توسط کوپیگمنت ها حفظ شده اند. اما از روز بیستم به بعد میزان ماکریزیم جذب بتدریج کاهش یافت و برای تمامی نمونه ها  $\Delta A_{\max}$  منفی گردید. اگرچه این کاهش در نمونه های تیمار شده کمتر از نمونه شاهد و در نمونه های تیمار شده با اسید فروولیک کمتر از نمونه های تیمار شده با اسید تانیک مشاهده گردید. از طرفی با توجه به اینکه در روز شصتم و دمای  $5^{\circ}\text{C}$  ماکریزیم جذب نور نمونه تیمار شده با  $920\text{mg/lit}$  اسید تانیک بیشتر از نمونه تیمار شده با  $230\text{mg/lit}$  اسید فروولیک (هر دو اسید دارای یافته های با نتایج Abyari و همکارانش در سال 2006 مطابقت دارد [11].

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می دهد که افزودن اسید فروولیک و اسید تانیک به آب انار در روز اول منجر به افزایش میزان کل آنتوسیانین ها در تمامی تیمارهای آب انار نسبت به نمونه شاهد به دلیل تشکیل کمپلکس آنتوسیانین با اسید فروولیک و اسید تانیک (کوپیگمنت) می گردد و با افزایش غلظت اسید فروولیک و اسید تانیک از  $230\text{mg/lit}$  در لیتر به  $920\text{mg/lit}$  افزایش میزان کل آنتوسیانینها بیشتر می گردد زیرا هر چه مولکول کوپیگمنت بیشتری در محیط وجود داشته باشد امکان تشکیل کمپلکس کوپیگمنت-آنتوسیانین نیز بیشتر گشته و در نتیجه آنتوسیانینها کمتر در معرض حملات نوکلئوفیلی مولکولهای آب قرار می گیرند و این یافته ها با نتایج Darias-Martin و همکارانش در سال 2001 [15]، همچنین با نتایج Talcott و همکارانش در سال 2003 مطابقت دارد [12]. در شرایط تعریف شده  $5^{\circ}\text{C}$  در طی 20 روز اول نگهداری، میزان کل آنتوسیانینها در تمامی نمونه ها بجز نمونه شاهد افزایش یافت و این افزایش در نمونه های حاوی اسید فروولیک بیشتر از نمونه های تیمار شده با اسید تانیک مشاهده گردید. دلیل این امر بالاتر بودن نسبت مولی اسید فروولیک در غلظت های مشابه در مقایسه با اسید تانیک است، بطوریکه در نمونه تیمار شده با  $230\text{mg/lit}$  اسید فروولیک و نمونه تیمار شده با  $920\text{mg/lit}$  اسید تانیک که نسبت مولی (هر دو اسید) مساوی می باشد، میزان کل آنتوسیانینها در نمونه تیمار شده با اسید تانیک بیشتر بود و این مسئله نشان می دهد که اسید تانیک کوپیگمنت قویتری نسبت به اسید فروولیک در حفظ رنگدانه های آب انار می باشد و این یافته ها با نتایج Abyari و همکارانش در سال 2006 مطابقت دارد [21]. با گذشت زمان نگهداری در روز های سی ام و شصتم میزان کل آنتوسیانینها بتدریج کاهش یافت و نتایج نشان می دهد که پس از شصت روز نگهداری در دمای  $5^{\circ}\text{C}$  در نمونه شاهد  $52/5\%$ ، در نمونه های حاوی  $460\text{mg/lit}$  و  $920\text{mg/lit}$  اسید فروولیک بترتیب  $65/9\%$  و  $68/4\%$  و در نمونه های حاوی  $230\text{mg/lit}$  و  $460\text{mg/lit}$  اسید تانیک بترتیب  $65/3\%$ ،  $65/7\%$  و  $66/3\%$  از کل آنتوسیانینها باقی می ماند. این یافته ها با نتایج Rein و Heinonen در سال 2004 مطابقت دارد [18]. بر اساس آنالیز واریانس ANOVA و

جدول 1- تغییرات ماکرییم جذب نور ( $\Delta\lambda_{max}$ ) در دمای 5°C (میانگین ± انحراف معیار)

ردیف	تیمار ها	روز 1	روز 10	روز 20	روز 30	روز 60
آب انار شاهد	1	-0/094±0/007 a	-0/269±0/01 a	-0/405±0/014 a	-0/576±0/016 a	
تیمار 1	2	0/039±0/005 a	0/045±0/003 b	0/032±0/004 b	-0/109±0/008 b	-0/379±0/009 ab
تیمار 2	3	0/069±0/003 b	0/081±0/002 c	0/060±0/005 c	0/018±0/008 c	-0/353±0/008 b
تیمار 3	4	0/165±0/009 c	0/171±0/008 d	0/156±0/009 d	0/083±0/002 d	-0/282±0/009 b
تیمار 4	5	0/016±0/002 d	0/023±0/003 e	0/012±0/004 e	-0/169±0/009 e	-0/423±0/014 ab
تیمار 5	6	0/027±0/003 ad	0/037±0/005 eb	0/025±0/003 eb	-0/098±0/004 b	-0/392±0/010 ab
تیمار 6	7	0/070±0/004 b	0/077±0/006 c	0/069±0/005 c	-0/017±0/007 c	-0/361±0/009 ab

\* میانگین هایی که در یک ستون با حروف مختلف نشان داده شده اند با یکدیگر تفاوت آماری معنی دار دارند ( $P<0/05$ ).

جدول 2- تغییرات طول موج ماکرییم جذب نور ( $\Delta\lambda_{max}$ ) در دمای 5°C (میانگین ± انحراف معیار)

ردیف	تیمار ها	روز 1	روز 10	روز 20	روز 30	روز 60
آب انار شاهد	1	-0/1±0/009 a	-0/21±0/011 a	0/36±0/024a	-	-0/64±0/048a
تیمار 1	2	4/60±0/35 a	4/90±0/29 bc	4/51±0/31 b	4/17±0/31 b	3/60±0/25 b
تیمار 2	3	5/00±0/41 a	5/60±0/38 c	5/00±0/37 b	4/70±0/16 b	4/11±0/27 b
تیمار 3	4	6/60±0/44 b	7/32±0/43 d	6/30±0/46 c	6/02±0/41 c	5/63±0/34 c
تیمار 4	5	1/71±0/11 c	2/02±0/15 e	1/62±0/17 d	1/48±0/35 d	1/19±0/14 d
تیمار 5	6	2/50±0/19 cd	3/47±0/50 f	3/00±0/24 e	2/02±0/26 d	1/60±0/19 d
تیمار 6	7	3/01±0/31 d	4/00±0/26 fb	3/41±0/27 e	3/05±0/21 e	2/64±0/17 e

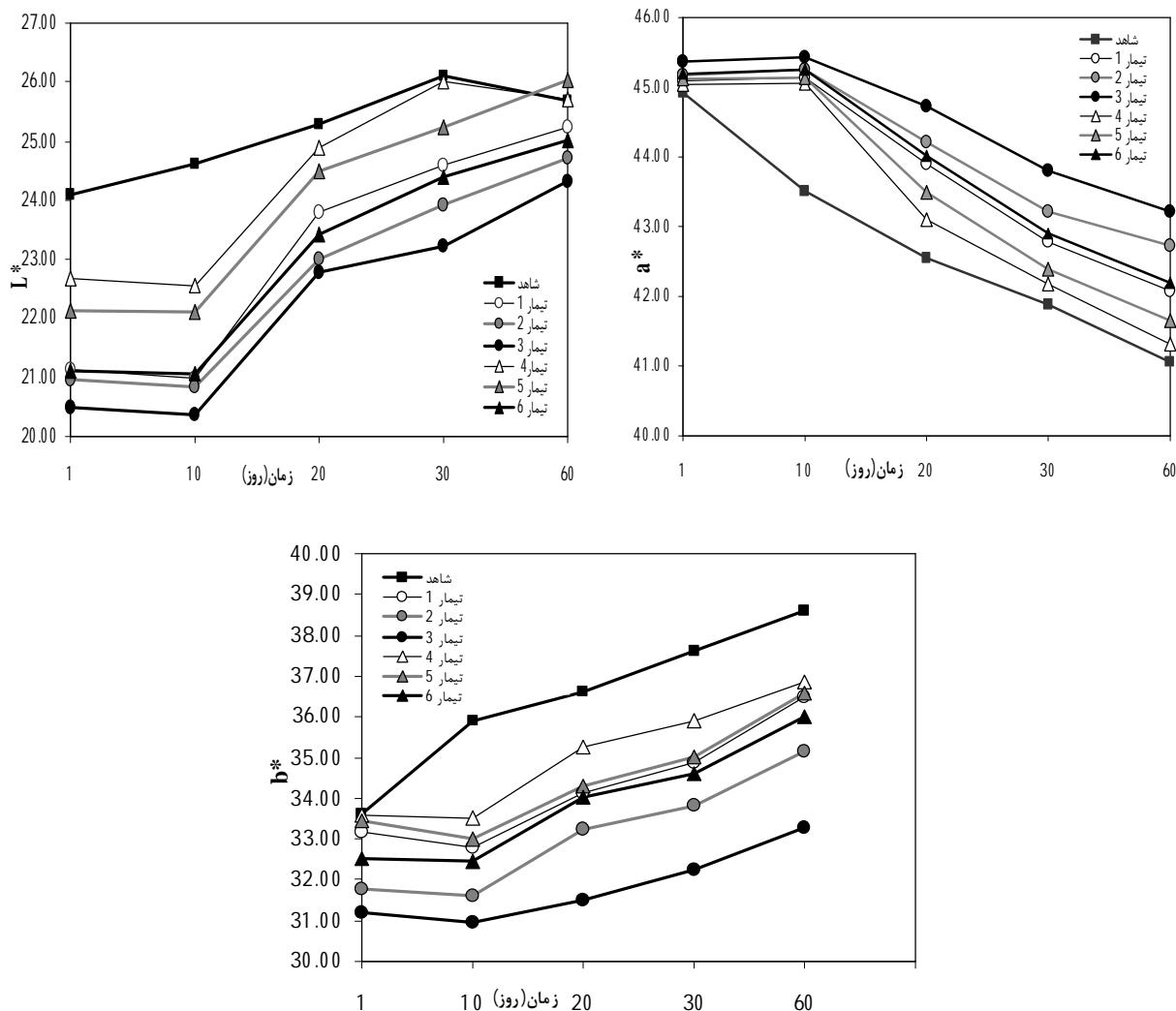
\* میانگین هایی که در یک ستون با حروف مختلف نشان داده شده اند با یکدیگر تفاوت آماری معنی دار دارند ( $P<0/05$ ).

تعريف شده 5°C طول موج ماکرییم جذب نور ( $\lambda_{max}$ ) در طی ده روز اول نگهداری در تمامی نمونه ها بجز نمونه شاهد به دلیل تشکیل کمپلکس آنتوسباین کوپیگمنت و حفظ آنتوسباینها افزایش یافت و این افزایش در نمونه های حاوی اسید فرولیک بیشتر از نمونه های اسید تانیک مشاهده گردید. میزان  $\Delta\lambda_{max}$  از روز دهم به بعد، بتدریج کاهش یافت و این کاهش در نمونه های تیمار شده کمتر از نمونه شاهد بود. لازم به ذکر است پس از شست روز نگهداری  $\lambda_{max}$  در تمامی نمونه های تیمار شده بیشتر از  $\lambda_{max}$  نمونه شاهد در روز اول بود و این یافته ها با نتایج Markovic و همکارانش در سال 2000 مطابقت دارد [22].

### 3-3- یافته های مربوط به تعیین تغییرات طول

#### موج ماکرییم جذب نور ( $\Delta\lambda_{max}$ )

یافته های مربوط به تعیین تغییرات طول موج ماکرییم جذب نور در نمونه شاهد و نمونه های تیمار شده با اسید فرولیک و اسید تانیک در روز اول و روزهای مختلف دهم، بیستم، سی ام و شصتم در دمای 5°C در جدول شماره 2 نشان داده شده است. بر اساس روش آماری ANOVA داده ها و آزمون تکمیلی ، Tukey میزان تغییرات طول موج ماکرییم جذب نور ( $\Delta\lambda_{max}$ ) بین تمامی گروهها در تمامی روزها در دمای نگهداری 5°C با یکدیگر اختلاف معنی دار آماری دارند ( $P<0/05$ ). در شرایط



شکل 2 میزان قرمزی a، زردی b، روشنایی L طی مدت 60 روز نگهداری در دمای 5°C

4-5- یافته های مربوط به تعیین تغییرات کل رنگ بین تمامی گروهها در تمامی روزها در دمای نگهداری 5°C با یکدیگر اختلاف معنی دار آماری دارند ( $P<0.05$ ). نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می دهد که افروتن اسید فروولیک و اسید تانیک به آب انار در روز اول منجر به افزایش قرمزی (a\*), کاهش روشنایی (L\*) و زردی (b\*) و در نتیجه تغییر در کل رنگ نمونه های تیمار شده با اسید فروولیک و اسید تانیک می گردد. همچنین مشاهده شد با افزایش غلظت اسید فروولیک و تانیک از رنگ بیشتر می شود. از طرفی مطالعات نشان می دهد چنانکه  $\Delta E$  از یک بزرگتر باشد تغییرات ایجاد شده در رنگ نمونه، توسط چشم انسان قابل تشخیص است.

#### 4-5- یافته های مربوط به تعیین تغییرات کل رنگ ( $\Delta E$ )

جهت تعیین تغییرات کل رنگ ابتدا میزان قرمزی، زردی و روشنایی کلیه نمونه ها اندازه گیری شد، سپس با استفاده از فرمول زیر تعیین گردید.

$$\Delta E = [(\Delta a^*)^2 + (\Delta L^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

میزان قرمزی، زردی و روشنایی کلیه نمونه ها در دمای 5°C بترتیب در شکل 2 نشان داده شده است.

یافته های مربوط به اندازه گیری  $\Delta E$  در نمونه شاهد و نمونه های تیمار شده با اسید فروولیک و اسید تانیک در روز اول و روزهای مختلف دهم، بیستم، سیم و شصتم در دمای 5°C در جدول شماره 3 ذکر گردیده است. بر اساس روش آماری

جدول 3 تغییرات کل رنگ ( $\Delta E$ ) در دمای  $5^{\circ}\text{C}$ (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

ردیف	تیمار ها	آب انار شاهد	روز 60	روز 30	روز 20	روز 10	روز 1
1	شاهد	6/49 $\pm$ 0/4 a	5/38 $\pm$ 0/4 a	3/99 $\pm$ 0/3 a	2/74 $\pm$ 0/1 ab		
2	تیمار 1	4/18 $\pm$ 0/3 b	2/51 $\pm$ 0/2 be	1/22 $\pm$ 0/1 b	3/22 $\pm$ 0/1 bc	3/00 $\pm$ 0/2 a	
3	تیمار 2	2/72 $\pm$ 0/2 c	1/70 $\pm$ 0/1 c	1/35 $\pm$ 0/1 b	3/85 $\pm$ 0/2 c	3/66 $\pm$ 0/3 ab	
4	تیمار 3	1/74 $\pm$ 0/1 d	1/95 $\pm$ 0/2 bc	2/50 $\pm$ 0/2 c	4/60 $\pm$ 0/4 d	4/38 $\pm$ 0/3 b	
5	تیمار 4	5/10 $\pm$ 0/4 e	4/03 $\pm$ 0/4 d	2/56 $\pm$ 0/2 c	1/56 $\pm$ 0/1 e	1/43 $\pm$ 0/1 c	
6	تیمار 5	4/80 $\pm$ 0/4 eb	3/19 $\pm$ 0/3 e	1/60 $\pm$ 0/2 b	2/10 $\pm$ 0/1 ae	1/99 $\pm$ 0/1 c	
7	تیمار 6	4/19 $\pm$ 0/4 b	2/33 $\pm$ 0/3 bc	1/02 $\pm$ 0/1 b	3/27 $\pm$ 0/4 bc	3/19 $\pm$ 0/4 a	

\* میانگین هایی که در یک ستون باحروف مختلف نشان داده شده اند با یکدیگر تفاوت آماری معنی دار دارند ( $P<0.05$ ).

شده با اسید فرولیک و اسید تانیک، در مقایسه با نمونه شاهد کمتر بود. این یافته ها با نتایج Rein و Heinonen در سال 2004 مطابقت دارد [18].

### 3-5- یافته های مربوط به اندازه گیری ویژگیهای حسی آب انار

یافته های مربوط به اندازه گیری ویژگیهای حسی نمونه شاهد و نمونه های تیمار شده با اسید فرولیک و اسید تانیک در روز اول و شصتم در دمای  $5^{\circ}\text{C}$  در جدول شماره 4 ذکر گردیده است. میزان پذیرش نمونه ها در روزهای اول و روز شصتم در دمای نگهداری  $5^{\circ}\text{C}$  بترتیب الیت شامل نمونه تیمار شده با  $230\text{mg/lit}$  در لیتر  $5^{\circ}\text{C}$  اسید فرولیک، نمونه شاهد، نمونه حاوی  $230\text{mg/lit}$  در لیتر اسید تانیک، نمونه تیمار شده با  $460\text{mg/lit}$  در لیتر اسید فرولیک، نمونه تیمار شده با  $460\text{mg/lit}$  در لیتر اسید تانیک و نمونه تیمار شده با  $920\text{mg/lit}$  در لیتر اسید تانیک می باشد. نتایج نشان می دهد که با گذشت زمان و تخریب آنتوسیانینها در نمونه شاهد میزان پذیرش طعم بطور مشخصی کاهش می یابد. همچنین اسید فرولیک در غلظت بالای  $920\text{mg/lit}$  در لیتر و اسید تانیک در غلظت های  $460\text{mg/lit}$  و  $920\text{mg/lit}$  در لیتر به دلیل ایجاد تغییر در طعم آب انار مورد پذیرش نمی باشند.

بر اساس آنالیز Kruskal-Wallis H اختلاف میزان پذیرش بین تمامی گروهها

$\Delta E$  در تمامی تیمارها در روز اول بزرگتر از یک بود و بیشترین  $\Delta E$  در نمونه تیمار شده با  $920\text{mg/lit}$  اسید فرولیک به میزان 4/38 مشاهده گردید. این یافته ها با نتایج Gonnet در سال 1999 مطابقت دارد [23].

در شرایط تعریف شده  $5^{\circ}\text{C}$  در طی ده روز اول نگهداری  $\Delta E$  در تمامی تیمارها در نتیجه افزایش قرمzi (a\*)، کاهش روشنایی (L\*) و زردی (b\*) به دلیل تشکیل پدیده کوپیگمتاتاسیون و حفظ رنگدانه های آب انار، افزایش یافت. همچنین  $\Delta E$  برای نمونه شاهد در روز دهم و دمای نگهداری  $5^{\circ}\text{C}$  در نتیجه کاهش قرمzi، افزایش زردی و روشنایی، به دلیل تخریب رنگدانه ها افزایش یافت. لذا افزایش تغییرات رنگ برای نمونه شاهد در روز دهم و دمای نگهداری  $5^{\circ}\text{C}$  افزایش بد رنگی و برای نمونه های تیمار شده، افزایش شدت رنگ می باشد. در روز بیستم و دمای نگهداری  $\Delta E$   $5^{\circ}\text{C}$  (بد رنگی) در نمونه شاهد و نمونه حاوی 230mg/lit اسید تانیک در نتیجه کاهش میزان قرمzi و افزایش میزان زردی و روشنایی نسبت به نمونه شاهد در روز اول، افزایش یافت. در سایر تیمارها با توجه به بالاتر بودن میزان قرمzi و کمتر بودن میزان زردی و روشنایی نسبت به نمونه شاهد در روز اول، تنها  $\Delta E$  (شدت رنگ) کاهش یافت. در روز سیام و دمای 920mg/lit در تمامی نمونه ها بجز نمونه حاوی اسید فرولیک،  $\Delta E$  (بد رنگی) افزایش یافت. در روز شصتم و دمای  $5^{\circ}\text{C}$  تغییرات رنگ (بد رنگی) در تمامی نمونه ها افزایش یافت اگرچه میزان افزایش بد رنگی در تمامی نمونه های تیمار

## 5-منابع

- [1]Singh, a., 1997. Fruit physiology and production. 4<sup>th</sup> edn. Rajinder Nagar, Ludhiana, India: Kalyani Publisher.
- [2]Anonymous, 2005. Iran statical year book 2005. [http://eamar.Sci.org.ir/index\\_e.asp](http://eamar.Sci.org.ir/index_e.asp).
- [3]Aviram, M., Dornfeld, L., Kaplan, M., Coleman, R., Gaitini, D., Nitecki, S., Hofman, A., Rosenblat, M., Volkova N. Presser D. Attias J. Hayek T. Fuhrman B. 2002.
- [4]Tzulker, R., Glazer, I., Bar-Ilan, I., Holland, D., Aviram, M., Amir, R., 2007. Antioxidant activity, polyphenol content and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. *J. Agric. Food Chem.* 55, 9559-957.
- [5]Gill M. I, Tomas-Barberan F. A. Hess-Pierce B. Holcroft D. M. Kader A. A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4581-4589
- [6]Marti N, Perez-Vicente A. Garcia-Viguera C. 2002. Influence of stronge temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. *J Sci Food Agric.* 82: 217-221.
- [7]Malien-Aubert, C., Dangles, O., Amiot, M., 2001. Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra and intermolecular copigmentation. *J. Agric Food Chem* 49, 170-176.
- [8]Asafi, N., 2004. Degradation kinetics of anthocyanins from sourcherry, pomegranate juices and their concentrates. The Joint Agriculture and Natural Resources Symposium, Tabriz-Ganja, May 14-16, 2004
- [9]Miguel, Graca., Dandlen, Susan., Antunes, Dulce., Neves, Alcinda., Martins, Denise., 2004. The effect of two methods of pomegranate juice extraction on quality during storage at 4°C. *J. Biomedicine and Biotechnology.* 5, 332-337.
- [10]Garcia-Viguera C, Preze-Vicente A, Serrano P, Abellan P. 2004. Influence of Packaging material on pomegranate juice colour and bioactive compounds, during storage. *J.Sci Food Agric.* 84: 639-644

در روز اول و همچنین روز شصتم در دمای نگهداری 5°C معنی دار بود ( $P<0/01$ ).

جدول 4 نتایج آزمون لذت بخشی در روز اول و روز شصتم دمای 5°C (میانگین رتبه)

ردیف	تیمارها	روز 60		ردیف	تیمارها
		روز 1	روز 1		
1	آب انار شاهد	40/50	29/80	1	آب انار شاهد
2	تیمار 1	23/00	22/00	2	تیمار 1
3	تیمار 2	53/85	63/85	3	تیمار 2
4	تیمار 3	73/05	89/50	4	تیمار 3
5	تیمار 4	62/75	47/35	5	تیمار 4
6	تیمار 5	112/00	113/00	6	تیمار 5
7	تیمار 6	128/40	128/00	7	تیمار 6

$$\chi^2 (6) = 115.206, P < 0.01 \quad \chi^2 (6) = 129.58, P < 0.01$$

## 4- نتیجه گیری

نتایج نشان می دهد که پایداری رنگ و میزان پذیرش طعم آب انار با گذشت زمان بطور مشخصی کاهش می یابد. با افزودن اسید فرولیک و اسید تانیک میزان کل آنتوسبیانینها در تمامی تیمار بطور مشخصی ( $P<0/05$ ) در مقایسه با نمونه شاهد در طی 60 روز نگهداری افزایش می یابد. نتایج حاصل از اندازه گیری پارامترهای رنگ نیز بطور مشخصی ( $P<0/05$ ) افزایش میزان قرمزی و کاهش میزان زردی و روشنایی را در نمونه های تیمار شده در مقایسه با نمونه شاهد نشان می دهد. با افزایش غلظت اسید فرولیک و اسید تانیک میزان شدت رنگ (ماکزیمم جذب نور) آب انار بطور مشخصی ( $P<0/05$ ) توسعه می یابد. براساس نتایج حاصل از تمامی آزمونها اسید فرولیک در پایداری رنگ آب انار مؤثرتر از اسید تانیک در غلظت های ذکر شده می باشد. از طرفی میزان پذیرش طعم آب انار تیمار شده با اسید فرولیک بیشتر از اسید تانیک است و با افزایش غلظت اسید فرولیک و اسید تانیک میزان پذیرش طعم (P<0/01) کاهش می یابد. بر اساس نتایج آماری، نمونه های تیمار شده با 460 mg/lit اسید فرولیک کمترین ناپایداری و تغییر رنگ را دارند ولی به دلیل افت طعمی که ایجاد می نمایند غلظت 230 mg/lit اسید فرولیک پیشنهاد می گردد.

- [17]Eiro, M., Heinonen, M., 2002. Anthocyanin color behavior and stability during storage. *J. Agric. Food Chem* 4, 7461-7466.
- [18]Rein, M., Heinonen, M., 2004 . Stability and enhancement of berry juice color. *J. Agric. Food Chem* 52, 3106-3114.
- [18]Institute of Standards and Industrial Research of Iran, ISIRI NUMBER 2616, Pomegranate juice- Specification.3th.edition (Amendment No.1).
- [19]Yawadio, R., Morita, N., 2007. Color enhancing effect of carboxylic acids on anthocyanin. *Food Chem* 105, 421-427.
- [20]Abyari, M., Heidari, R., Jamei, R., 2006. The effect of heating, UV irradiation and PH on stability of Siahe Sardasht Grape anthocyanin-copigment complex. *Journal of Biological Science* 6(4),638-645
- [21]Dimitric-Markovic, J., M, Petranovic N.A., Branac, J.M., 2000. A Spectrophotometric study of the copigmentation of malvin with caffeic & ferulic acids. *J. Agric. Food Chem*. 48, 5530-5536
- [22]Gonnet J-F. 1999. Color effect of copigmentation of anthocyanins revisited a colorimetric look at the solution of cyanin copigmented by rutin using the CIELAB scale. *J.Food Chem*. 66: 387-394
- [11]Garcia-Viguera, C., Preze-Vicente, A., Marti, N., 2001. Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82,217-221.
- [12]Talcott, ST., Brenes, CH., Pires, DM., Del Pozo-Insfran, D., 2003. phytochemical stability and color retention of copigmented and processed muscadine grape juice .*J Agric Food Chem* 51,957-963.
- [13]Asen, S., Stewart, RN., Norris, KH., 1972. Copigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. *Phytochemistry*11, 1139-1144.
- [14]Mazza, G., Brouillard, R., 1990. The mechanism of copigmentation of anthocyanins in aqueous solution. *Phytochemistry* 29, 1097 - 1102.
- [15]Darias-Martin, J., Martin-Luis, B., Carrillo-Lopez, M., Lamuela-Raventos, R., Diaz-Romero, C., Boulton, R., 2002. Effect of caffeic acid on the color of red wine *J. Agric. Food Chem* 50, 2062-2067.
- [16]Bakowska, A., Kucharska, AZ., Oszmianski, J., 2003. The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin-polyphenol copigment complex. *Food Chem* 81, 349-35.

## Comparision of the effect of Ferolic and Tanic acid on color stability and organoleptic properties of pomegranate juice at different time of strong in 5 °C

**Sobhi, S. <sup>1</sup>, Azizi, M. H. <sup>2\*</sup>, Barzegar, M. <sup>2</sup>, Taslimi, A. <sup>4</sup>**

1- M.Sc. graduate, Faculty of Nutrition Science and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Science

2-Associate Proffesor, Dept. of Food Science and Technology, College of Agriculture, Tarbiat Modares University

3- Instructor, Dept of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition Science and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Science

**(Received:87/9/17 Accepted:88/3/23)**

The red color of pomegranate juice is primarily associated with anthocyanin pigment. Studies showed that anthocyanin has low stability during processing and storage time and color of pomegranate juice decreased significantly over time.

Copigmentation between Anthocyanins and copigments such as phenolic acids and flavonoids, is the main color stabilizing mechanism and is regarded today as one of the significant factors of structure stabilization, colorant of Anthocyanin under in vivo conditions. Anthocyanin copigmentation gives brighter, stronger and more stable colors than those expressed by anthocyanin alone.

The objective of this study was to compare the effects of Ferulic acid and Tannic acid in concentrations of 230, 460, and 920 mg/lit on the color stability and sensory acceptance of pomegranate juice kept in 5°C during 60 days of storage. In order to investigate the color stability, change in absorption maximum wavelength ( $\Delta\lambda_{max}$ ) and change in maximum absorbance ( $\Delta A_{max}$ ), Total color difference ( $\Delta E$ ), and total anthocyanin content, all treatments and control were evaluated by spectrophotometer, hunterlab colorimeter, and HPLC respectively in day 1,10,20,30, and 60 in 5°C. Furthermore, the sensory acceptance level of samples was evaluated by trained panelists in first and 60<sup>th</sup> day in 5°C.

The results showed that Total anthocyanin content, Redness ( $a^*$ ), maximum absorbance ( $A_{max}$ ), and absorption maximum wavelength ( $\lambda_{max}$ ) in treated samples with 230, 460, and 920 mg/lit of Ferulic acid and in treatment with 920 mg/lit Tannic acid increased significantly ( $P<0.05$ ) during storage period of 60 days compare with the control. Increase in Ferulic acid and Tannic acid concentration decreased the sensory acceptance significantly ( $P<0.01$ ), Also in treatments with 230, 460, 920 mg/lit of Ferulic acid, the sensory acceptance was higher compared to similar concentrations.

**Keyword:** pomegranate juice, anthocyanins, ferulic acid, tannic acid, sensory evaluation

---

\* Corresponding author E-mail address: [azizit\\_m@modares.ac.ir](mailto:azizit_m@modares.ac.ir)