

مقایسه اثر اسید فرولیک و اسید تانیک بر پایداری رنگ و ویژگیهای ارگانولپتیکی آب انار در زمان های مختلف نگهداری در دمای 5°C

سیما صبحی¹، محمد حسین عزیزی^{2*}، محسن برزگر³، اقدس تسلیمی⁴

1- فارغ التحصیل دوره کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و 3- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
4 - مربی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
(تاریخ دریافت: 87/9/17 تاریخ پذیرش: 88/3/23)

چکیده

رنگ قرمز آب انار مربوط به رنگدانه آنتوسیانین می باشد. مطالعات نشان می دهد که آنتوسیانینهای آب انار پایداری کمی در طی فرایند و نگهداری دارند و باگذشت زمان رنگ آب انار بطور مشخصی کاهش می یابد. 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 می رود. آنتوسیانین کوپیگمنت شده دارای رنگ قوی، درخشان و پایداری نسبت به آنتوسیانین کمپلکس نشده می باشد. هدف از این تحقیق، بررسی مقایسه اثر اسید فرولیک و تانیک در سطوح مختلف 230، 460 و 920 mg/lit بر پایداری رنگ و میزان پذیرش آب انار در دمای نگهداری 5°C در طی 60 روز نگهداری می باشد. جهت بررسی پایداری رنگ، در تیمارها و نمونه شاهد تغییرات ماکزیم جذب نور، تغییرات طول موج ماکزیم جذب نور، تغییرات کل رنگ و میزان کل آنتوسیانینها بترتیب با استفاده از اسپکتروفوتومتر، رنگ سنج مجهز به سیستم هانترب و HPLC در روز های 1، 10، 20، 30 و 60 در دمای نگهداری 5°C ارزیابی شد. همچنین میزان پذیرش نمونه ها در روز های 1 و 60 در دمای 5°C توسط ارزیابان آموزش دیده بررسی گردید. نتایج نشان داد میزان کل آنتوسیانینها، میزان قرمزی، ماکزیم جذب نور و طول موج ماکزیم جذب نور نمونه های تیمار شده با 230، 460 و 920 mg/lit اسید فرولیک و 920 mg/lit اسید تانیک در مقایسه با نمونه شاهد بطور مشخصی ($P < 0/05$) در طی 60 روز نگهداری افزایش یافت. با افزایش غلظت اسید فرولیک و اسید تانیک میزان پذیرش طعم ($P < 0/01$) کاهش یافت. همچنین پذیرش طعم آب انار تیمار شده با اسید فرولیک در غلظتهای 230، 460 و 920 mg/lit بیشتر از اسید تانیک در غلظت های مشابه مشاهده شد.

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

1- مقدمه

650000 هزار تن در دنیا است [2]. 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 [3]. لذا توجه به

انار (pomegranate) با نام علمی *punica granatum L.* یکی از قدیمی ترین میوه های شناخته شده می باشد که بطور وسیعی در کشورهای مدیترانه ای و کشورهایی مانند ایران، افغانستان و هند کشت می شود [1]. 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 کوپیگمنتاسیون می تواند پایدار و حفظ گردد و در این حالت آنتوسیانین کوپیگمنت شده رنگ قوی، درخشان و پایداری 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 کوپیگمنتاسیون نام دارد و این کمپلکس با ایجاد تغییرات در ماکزیم جذب ($\Delta A_{\max} = \text{hyperchromic}$) یا (شدت رنگ) و تغییرات در طول موج ماکزیم جذب ($\Delta \lambda_{\max} = \text{bathochromic}$) قابل اندازه گیری است [13]. کوپیگمنتاسیون 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 0/2% و 0/4% در روز اول منجر به افزایش میزان کل آنتوسیانینهای آب انگور قرمز از 1210 mg/lit 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 نظیر 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 ماکزیم به طور مشخصی افزایش یافت [14].

تولید و صادرات آب انار آنها با کیفیت مناسب بسیار حائز اهمیت می باشد. رنگ قرمز آب انار مربوط به رنگدانه های آنتوسیانین می باشد. آنتوسیانینها، مشتقات گلیکوزیدی پلی هیدروکسیل و متوکسیل نمکهای 2- فنیل بنزوپیریلوم، 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 منبع 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 3و5- دی گلوکوزید، پلارگونیدین 3- گلوکوزید، پلارگونیدین 3و5- دی گلوکوزید، دلفنیدین 3- گلوکوزید و دلفنیدین 3و5- دی گلوکوزید یافت می شود. در مرحله پایانی و زمان برداشت، مونوگلوکوزیدها رنگدانه های اصلی انار می باشند و در این حالت مشتقات سیانیدینی غالبند [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 شیمیایی و غلظت آنها، دمای نگهداری، حضور اکسیژن، نور، قندها، آنزیمها، 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 آنتوسیانینهای 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 کنساتره انار نار ایران که در دی ماه 1385 تولید و پس از آن در دمای 18°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 کنساتره 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 460 230 mg/lit و 920 در لیتر به آب انار اضافه گردید و در مجموع 35 نمونه کاملاً همگن و یکنواخت تهیه شد. سپس نمونه ها در دمای 85°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 mg/lit اسید فرولیک (تیمار 1)، 460 mg/lit اسید فرولیک (تیمار 2) و 920 mg/lit اسید فرولیک (تیمار 3) و آب انار با 230 mg/lit اسید تانیک (تیمار 4)، 460 mg/lit اسید تانیک (تیمار 4) و 920 mg/lit اسید تانیک (تیمار 6) بطور تصادفی انتخاب گردید. سایر نمونه ها در یخچال ($5\pm 2^{\circ}\text{C}$) 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 x 0/4cm i.d; 5 μm particale size) نوع ضریب شکست uv-vis (510nm) انجام 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 جریان فاز متحرک 1 ml/min بود. قبل از تزریق نمونه آب انارها را از صافی نایلونی 0/45 μm برای حذف ترکیبات مزاحم، عبور داده و پس از آن به دستگاه HPLC تزریق گردید. حجم تزریق 20 میکرولیتر و دمای ستون 40°C بود. غلظت آنتوسیانینهای آب انار با استفاده از منحنی های استاندارد آنتوسیانینهای سیانیدین-3-گلوکوزید، سیانیدین-3 و 5-دی گلوکوزید، پلارگونیدین-3-

بررسی Darias-Martin و همکارانش در سال 2002 در زمینه اثر اسید کافئیک بر رنگ شراب تهیه شده از دو گونه انگور قرمز listannegro و negramoll در غلظت های مختلف mg/lit 120، 240، 480 و 960 در لیتر نشان داد با بالابردن غلظت اسید کافئیک 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 ماکزیمم به طور مشخصی افزایش یافت بطوریکه در نسبت مولی 1:3 ماکزیمم جذب 2/2 برابر بیشتر از نمونه شاهد (1:0) گردید [16].

Eiro و Heinonen در سال 2002 در بررسی اثر کوپیگمنت های مختلف نظیر اسید گالیک، اسید کافئیک، اسید فرولیک، اسید رزمارینیک و اسید کلروژنیک بر پایداری رنگ آنتوسیانینهای پلارگونیدین-3-گلوکوزید، سیانیدین-3-گلوکوزید، مالویدین-3-گلوکوزید، سیانیدین-3-(کومارویل-گلوکوزیل) گالاتوزید، سیانیدین-3-(گلوکوزیل-گزیلوزیل) گالاتوزید 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 افزایش پایداری رنگ در آبمیوه های مختلف بستگی به ساختار آنتوسیانین دارد. اسیدهای فنولیکی بر پایداری رنگ آب توت فرنگی و آب رزبری که آنتوسیانین آنها از نوع مونوگلوکوزید 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 فلورسانت به ارزیابی ها ارائه گردید. ارزیابی ها ما بین بررسی نمونه ها دهانشان را با آب شستشو می دادند.

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

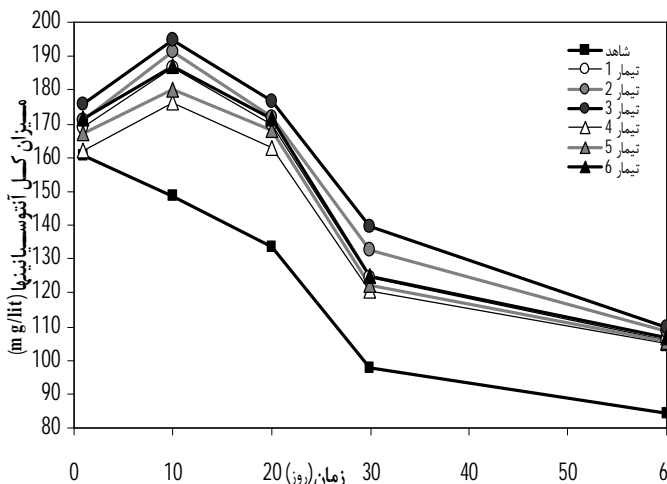
نتایج بدست آمده در مورد هر یک از متغیرها در روزهای مختلف با استفاده از نرم افزار آماری 11 spss و بکارگیری تست کروسکال والیس برای ارزیابی حسی و همچنین تست آماری آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA برای ارزیابی تغییرات کل رنگ، مقدار کل آنتوسیانینها، تغییرات ماکزیمم جذب نور و تغییرات طول موج ماکزیمم جذب نور مورد 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، پلاگونییدین 3و5-دی گلوکوزید، دلفینیدین 3-گلوکوزید و دلفینیدین 3و5-دی گلوکوزید در غلظت 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-vi) مدل Scinco 2100 ساخت کشور کره جنوبی در دامنه طول موج 450 تا 600 نانومتر انجام گرفت. طول موج ماکزیمم جذب نور و ماکزیمم جذب نور نمونه ها در مقایسه با آب مقطر به عنوان نمونه شاهد اندازه گیری و سپس ΔA_{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.

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

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

-آزمون تعیین تغییرات کل رنگ: این آزمون مطابق با روش

Morita و Yawadio (2007) و با استفاده از رنگ سنج

Hunter Colorimeter مدل (Colorflex, VA, USA)

ساخت کشور آمریکا، پارامترهای روشنایی L^* ، زردی b^* ،

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

بعبارت 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 ارزیابی آموزش دیده و تکنیک 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°C با یکدیگر اختلاف معنی دار آماری دارند ($P < 0/05$).

3-2- یافته های مربوط به تعیین تغییرات ماکزیمم جذب نور (ΔA_{\max})

یافته های مربوط به تعیین تغییرات ماکزیمم جذب نور (شدت رنگ) 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 1 نشان داده شده است. بر اساس روش آماری ANOVA و با استفاده از آزمون تکمیلی Tukey مشخص گردید که میزان تغییرات ماکزیمم جذب نور نمونه های شاهد و تمامی تیمارها در روزهای 1، 10، 20، 30 و 60 در دمای 5°C با یکدیگر اختلاف معنی دار آماری دارند ($P < 0/05$).

در شرایط تعریف شده 5°C در طی ده روز اول نگهداری ماکزیمم جذب نور در تمامی نمونه ها بجز نمونه شاهد افزایش یافت و تا روز بیستم نیز میزان ماکزیمم جذب نور نمونه های تیمار شده تقریباً مشابه ماکزیمم 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 ماکزیمم جذب بتدریج کاهش یافت و برای تمامی نمونه ها ΔA_{\max} منفی گردید. اگرچه این کاهش در نمونه های تیمار شده کمتر از نمونه شاهد و در نمونه های تیمار شده با اسید فرولیک کمتر از نمونه های تیمار شده با اسید تانیک مشاهده گردید. از طرفی با توجه به اینکه در روز شصتم و دمای 5°C ماکزیمم جذب نور نمونه تیمار شده با 230mg/lit اسید تانیک بیشتر از نمونه تیمار شده با 230mg/lit اسید فرولیک (هر دو اسید دارای نسبت مولی مساوی) می باشد، می توان نتیجه گرفت که اسید تانیک کوپیگمنت قویتری نسبت به اسید فرولیک می باشد. این یافته ها با نتایج Abyari و همکارانش در سال 2006 مطابقت دارد [11].

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می دهد که افزودن اسید فرولیک 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 فرولیک و اسید تانیک (کوپیگمنت) می گردد و با افزایش غلظت اسید فرولیک و اسید تانیک از 230mg/lit در لیتر به 920mg/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 Darías-Martin و همکارانش در سال 2001 [15]، همچنین با نتایج Talcott و همکارانش در سال 2003 مطابقت دارد [12]. در شرایط تعریف شده 5°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 فرولیک بیشتر از نمونه های تیمار شده با اسید تانیک مشاهده گردید. دلیل این امر بالاتر بودن نسبت مولی اسید فرولیک در غلظت های مشابه در مقایسه با اسید تانیک است، بطوریکه در نمونه تیمار شده با 230mg/lit اسید فرولیک و نمونه تیمار شده با 920mg/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 فرولیک 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°C در نمونه شاهد $52/5\%$ ، در نمونه های حاوی 230mg/lit و 460mg/lit اسید فرولیک بترتیب $65/9\%$ و $67/4\%$ و $68/4\%$ و در نمونه های حاوی 230mg/lit و 460mg/lit اسید تانیک بترتیب $65/3\%$ ، $66/3\%$ 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 ماکزیم جذب نور ($\Delta\lambda_{max}$) دردمای 5°C (میانگین \pm انحراف معیار)

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

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

جدول 2- تغییرات طول موج ماکزیم جذب نور ($\Delta\lambda_{max}$) دردمای 5°C (میانگین \pm انحراف معیار)

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

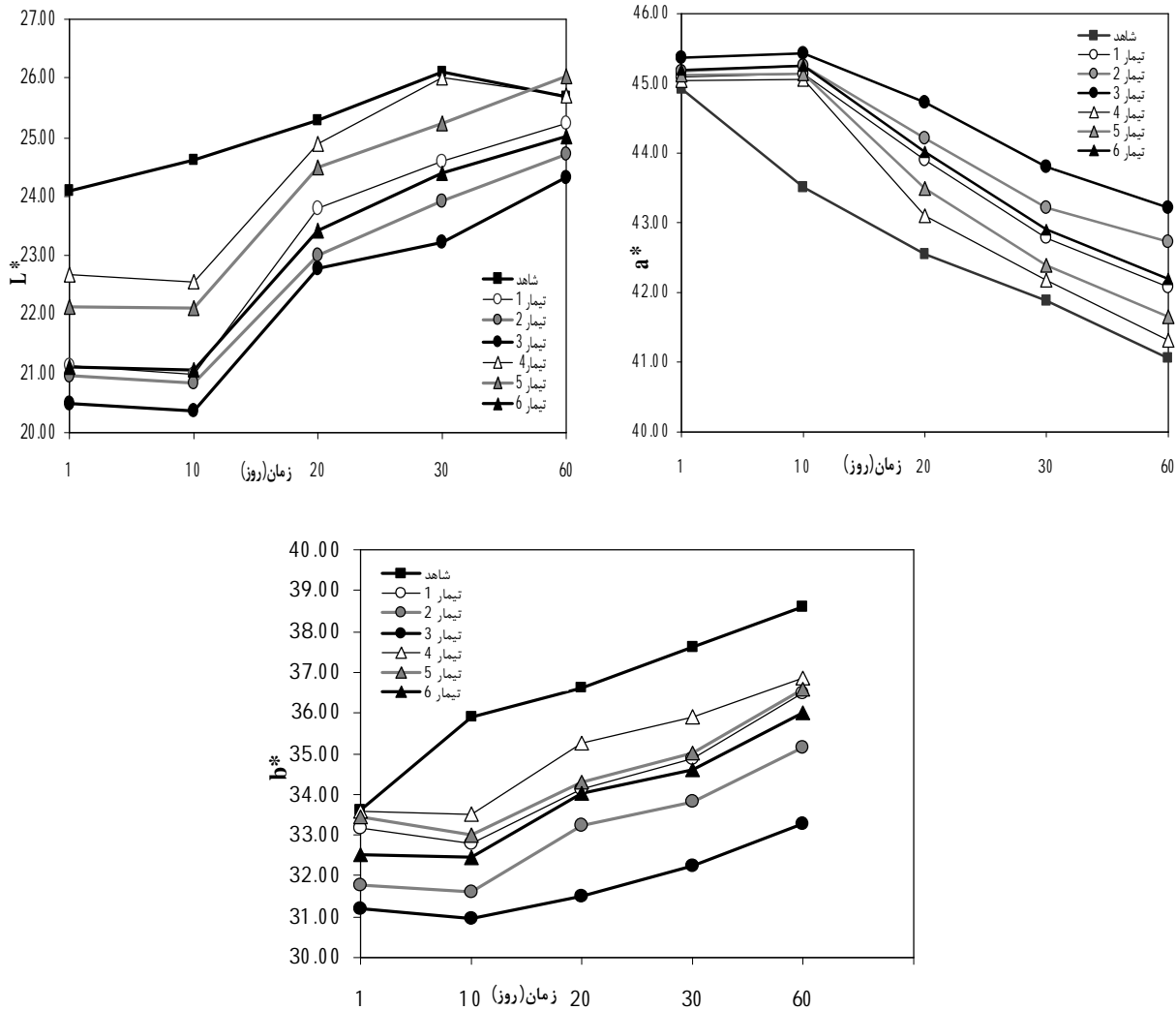
* میانگین هایی که در یک ستون باحروف مختلف نشان داده شده اند با یکدیگر تفاوت آماری معنی دار دارند (P<0/05).

3-3- یافته های مربوط به تعیین تغییرات طول

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

یافته های مربوط به تعیین تغییرات طول موج ماکزیم 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 ماکزیم 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

تعریف شده 5°C طول موج ماکزیم جذب نور (λ_{max}) در طی ده روز اول نگهداری در تمامی نمونه ها بجز نمونه شاهد به دلیل تشکیل کمپلکس آنتوسیانین کوپیگمنت و حفظ آنتوسیانینها 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 شصت روز نگهداری λ_{max} در تمامی نمونه های تیمار شده بیشتر از λ_{max} نمونه شاهد در روز اول بود و این یافته ها با نتایج Markovic و همکارانش در سال 2000 مطابقت دارد [22].



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

ANOVA داده ها و آزمون تکمیلی Tukey، میزان تغییرات کل رنگ بین تمامی گروهها در تمامی روزها در دمای نگهداری 5°C بایکدیگر اختلاف معنی دار آماری دارند ($P < 0/05$). نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می دهد که افزودن اسید فرولیک 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 فرولیک و اسید تانیک می گردد. همچنین مشاهده شد با افزایش غلظت اسید فرولیک و تانیک از 230mg/lit در لیتر به 920mg/lit در لیتر میزان تغییرات کل رنگ بیشتر می شود. از طرفی مطالعات نشان می دهد چنانکه ΔE 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 (ΔE)

جهت تعیین تغییرات کل رنگ ابتدا میزان قرمزی، زردی و روشنایی کلیه نمونه ها اندازه گیری شد، سپس با استفاده از فرمول زیر ΔE 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 برترتیب در شکل 2 نشان داده شده است.

یافته های مربوط به اندازه گیری ΔE 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 3 ذکر گردیده است. بر اساس روش آماری

جدول 3 تغییرات کل رنگ (ΔE) در دمای 5°C (میانگین \pm انحراف معیار)

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

* میانگین هایی که در یک ستون با حروف 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°C در جدول شماره 4 ذکر گردیده است. میزان پذیرش نمونه ها در روزهای اول و روز شصتم در دمای نگهداری 5°C بترتیب الویت شامل نمونه تیمار شده با 230mg/lit در لیتر اسید فرولیک، نمونه شاهد، نمونه حاوی 230mg/lit در لیتر اسید تانیک، نمونه تیمار شده با 460mg/lit در لیتر اسید فرولیک، نمونه تیمار شده با 460mg/lit در لیتر اسید تانیک و نمونه تیمار شده با 920mg/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 920mg/lit در لیتر و اسید تانیک در غلظت های 460mg/lit و 920 در لیتر به دلیل ایجاد تغییر در طعم آب انار مورد پذیرش نمی باشند.

بر اساس آنالیز K Independent داده ها و آزمون تکمیلی Kruskal-Wallis H اختلاف میزان پذیرش بین تمامی گروهها

ΔE در تمامی تیمارها در روز اول بزرگتر از یک بود و بیشترین ΔE در نمونه تیمار شده با 920mg/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°C در طی ده روز اول نگهداری ΔE در تمامی تیمارها در نتیجه افزایش قرمزی (a^*)، کاهش روشنایی (L^*) و زردی (b^*) به دلیل تشکیل پدیده کوپیگمتاسیون و حفظ رنگدانه های آب انار، افزایش یافت. همچنین ΔE برای نمونه شاهد در روز دهم و دمای نگهداری 5°C ، در نتیجه کاهش قرمزی، 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°C افزایش بد رنگی و برای نمونه های تیمار شده، افزایش شدت رنگ می باشد. در روز بیستم و دمای نگهداری 5°C ، ΔE (بد رنگی) در نمونه شاهد و نمونه حاوی 230mg/lit اسید تانیک در نتیجه کاهش میزان قرمزی و افزایش میزان زردی و روشنایی نسبت به نمونه شاهد در روز اول، افزایش یافت. در سایر تیمارها با توجه به بالاتر بودن میزان قرمزی و کمتر بودن میزان زردی و روشنایی نسبت به نمونه شاهد در روز اول، تنها ΔE (شدت رنگ) کاهش یافت. در روز سی ام و دمای نگهداری 5°C در تمامی نمونه ها بجز نمونه حاوی 920mg/lit اسید فرولیک، ΔE (بد رنگی) افزایش یافت. در روز شصتم و دمای 5°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. 4th edn. Rajinder Nagar, Ludhiana, India: Kalyani Publisher.
- [2]Anonymous, 2005. Iran statcal year book 2005. 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	روز 1	روز 60
1 آب انار شاهد	29/80	40/50	
2 تیمار 1	22/00	23/00	
3 تیمار 2	63/85	53/85	
4 تیمار 3	89/50	73/05	
5 تیمار 4	47/35	62/75	
6 تیمار 5	113/00	112/00	
7 تیمار 6	128/00	128/40	
	$\chi^2(6)=129.58; P<0.01$	$\chi^2(6)=115.206; P<0.01$	

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 آنتوسیانینها در تمامی تیمار بطور مشخصی (P<0/05) درمقایسه 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 درمقایسه 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 و 920 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., Carrilo-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.

Comparison 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. ¹, Azizi, M. H. ^{2*}, Barzegar, M. ², Taslimi, A. ⁴

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, Callege 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 (ΔA_{\max}), Total color difference (ΔE), 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 60th day in 5°C.

The results showed that Total anthocyanin content, Redness (a^*), maximum absorbance (A_{\max}), and absorption maximum wavelength (λ_{\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