نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 5، آذر - دی 1396، ص.829-820

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 5, Dec- Jan 2018, p. 820-829

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و عملکردی کنسانتره آب انار رقم رباب طی دوره نگهداری در دماهای مختلف

مریم فرهمند [1]- محمدتقی گلمکانی [2*]- عسگر فرحناکی [3]- غلامرضا مصباحی [4]

تاریخ دریافت: 1395/02/06
تاریخ پذیرش: 1395/06/20

چکیده

کنسانتره صنعتی آب انار رقم رباب به مدت 20 هفته در دماهای 20- ،4، 20 و 35 درجه سلسیوس نگهداری و شاخص‌های شکل‌گیری کدورت ثانویه، رنگ (L*a*b*)، خصوصیات رئولوژیکی، ترکیبات زیست‌فعال (ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی کل) و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی (روش‌های DPPH و FRAP) برای تعیین بهترین شرایط نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌های نگهداری‌شده در دمای 35 درجه سیلسیوس در 4 هفته آخر دوره نگهداری دارای کدورت ثانویه بودند. اگرچه نمونه‌های شاهد رفتار رقیق‌شونده با برش داشتند، اما پس از دوره نگهداری رفتار غلیظ‌شونده با برش از خود نشان دادند. بین ارزش L* نمونه‌ها نگهداری‌شده در دماهای 20-، 4و 20 درجه سلسیوس تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. ارزش a* و b* نمونه‌های نگهداری‌شده در دماهای 20- و 4 درجه سلسیوس به مدت 14 هفته روند کاهشی مشابهی را نشان دادند. میزان محتوای فنولی و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی (هر دو روش DPPH و FRAP) با افزایش دما و مدت زمان نگهداری کاهش یافتند اما ترکیبات فلاونوئیدی با افزایش دما و زمان نگهداری به شکل معنی‌داری افزایش یافتند. به‌طورکلی، دمای 4 درجه سلسیوس به مدت 14 هفته، بهترین شرایط دمای نگهداری برای حفظ کیفیت و کاهش هزینه‌های نگهداری محصول می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، ترکیبات زیست‌فعال، خصوصیات رئولوژیکی، کنسانتره انار

مقدمه

انار با نام علمی *پونیکا گراناتوم*[4] میوه‌ای متعلق به خانواده پونیکاسه[5] است که در نقاط مختلف دنیا مانند ایران، کالیفرنیا، ترکیه، مصر، ایتالیا، هند و اسپانیا کشت می‌شود. ایران یکی از بزرگترین تولیدکنندگان و صادرکنندگان انار در دنیا به‌شمار می‌رود (Bazargani-Gilani *et al*., 2014). مرکز بین‌المللی تجارت، میزان برداشت انار ایران در سال 2014 را 940 هزار تن در سال گزارش کرده است (ITC 2015). میزان مصرف انار در سال‌های اخیر افزایش یافته است که این مهم می‌تواند به دلیل افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان از خصوصیات تغذیه‌ای انار باشد (Fischer *et al*., 2011). میوه انار حاوی ترکیبات با ارزشی با خصوصیات دارویی و درمانی (آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی، ضدتصلب شریانی و غیره) است. این ویژگی‌های تغذیه‌ای ارزشمند بیشتر مربوط به حضور ترکیبات فنولی مانند آنتوسیانین‌ها، الاژیک‌اسید، فلاوونوئیدها و تانن‌ها می‌باشد (Mousavinejad *et al*., 2009).

نگهداری مواد غذایی مانند غذاهای کنسرو شده، منجمد شده، آبمیوه‌ها و تغلیظ شده‌ها (کنسانتره‌ها) می‌تواند کیفیت و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آنها را تحت تأثیر قرار دهد. بر اساس پژوهش‌های انجام شده، نگهداری می‌تواند باعث تخریب و تغییر در رنگدانه‌ها و در نتیجه رنگ موجود در مواد غذایی شود. Burdurlu and Karadeniz (2003) تغییرات شاخص‌های رنگی کنسانتره دو واریته مختلف سیب در طول 4 ماه نگهداری در دماهای 5، 20 و 37 درجه سلسیوس مورد بررسی قرار دادند. نتایج بدست آمده بیانگر آن بود که طی دوره نگهداری در دماهای مختلف شاخص‌های رنگ کاهش یافتند (Burdurlu and Karadeniz, 2003). Van der Sluis و همکاران (2005) ترکیبات زیست‌فعال و آنتی اکسیدانی موجود در آبمیوه‌ها طی دوره نگهداری تحت تأثیر عوامل خارجی قرار دارند و مشاهده کردند که میزان ترکیبات فنولی آب سیب صنعتی بعد از 11 ماه نگهداری در دمای اتاق به شکل چشمگیری کاهش یافت (Van der Sluis *et*

1، 2 و 4- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز.
3- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز و دانشکده علوم بیومدیکال دانشگاه چارلز استورت استرالیا.
(* - نویسنده مسئول (Email: golmakani@shirazu.ac.ir
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.55415
4 *Punic granatum* L.
5 Punicaceae

2005 ,.*al*). Ozturk و همکاران (2016) میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در میوه گیلاس را پس از دوره نگهداری (3 هفته در دمای 2 درجه سلسیوس) مورد ارزیابی قرار دادند و کاهش معنی داری در میزان این ترکیبات زیست‌فعال مشاهده نمودند (Ozturk *et al*., 2016). همچنین، Klimczak و همکاران (2007) تأثیر دما و زمان نگهداری را بر ترکیبات فنولی و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی دو واریته مختلف آب پرتقال صنعتی مورد مطالعه قرار داده و مشاهده کردند که پس از 6 ماه نگهداری در دماهای 18، 28و 38 درجه سلسیوس ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده به دو روش DPPH[1] و FRAP[2] به شکل معنی داری کاهش یافتند (Klimczak *et al*., 2007).

بررسی خصوصیات رئولوژیکی فراورده‌های آبمیوه به‌منظور توسعه صنعت، طراحی و ارزیابی تجهیزات فراوری مانند پمپ‌ها، لوله‌ها و غیره ضروری می‌باشد (Bozdogan., 2015). شاخص‌های مختلفی خصوصیات رئولوژیکی کنسانتره‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. این شاخص‌ها می‌توانند عواملی نظیر میزان مواد جامد محلول، دمای فرایند، دما، غلظت و سایز ذرات تشکیل دهنده باشند(Ahmed *et al*., 2004). تغییر این شاخص‌ها طی دوره نگهداری موجب تغییر در خصوصیات رئولوژیکی محصول خواهد گردید. کنسانتره آب انار کاملاً حساس به شرایط نگهداری بوده که این امر می‌تواند منجر به کاهش کیفیت محصول و کاهش پذیرش مصرف‌کنندگان شود. از این رو این محصول غالباً در دمای 18- درجه سلسیوس (منجمد) نگهداری می‌گردد. نگهداری در این دما هزینه‌های فراوانی به تولیدکنندگان تحمیل می‌کند.

هدف از این مطالعه ارزیابی 1- تخریب رنگ ظاهری، 2- تغییر خصوصیات رئولوژیکی، 3- پایداری ترکیبات زیست‌فعال، 4- خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و 5- شکل‌گیری کدورت ثانویه کنسانتره صنعتی آب انار طی دوره نگهداری در دماهای مختلف به‌منظور مشخص کردن بهترین شرایط نگهداری برای جلوگیری از افت کیفیت و حل مشکلات مربوط به هزینه‌های بالای نگهداری به‌صورت منجمد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها و شرایط نگهداری

کنسانتره آب انار (*Punica granatum* L. cv. Rabab) مورد استفاده در این پژوهش از کارخانه نارنی (مزرعه سبز) تهیه گردید. انار ورودی کارخانه از روستای رودخور واقع در 100 کیلومتری شهر نیریز (استان فارس، ایران) در اواخر مهر ماه برداشت شد. کنسانتره آب انار برای انجام آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی در 5 دمای مختلف قرار گرفتند. نمونه‌ها در فریزر (General Electric, USA) 20- درجه سلسیوس ، اینکوباتورهای یخچال‌دار (Sanyo Electric Co., Japan) 4 درجه سلسیوس، اینکوباتورهای 20 و 35 درجه سلسیوس (Parsian Teb Co., Iran) و همچنین در فریزر (Jal Tajhiz Co., Iran) 80- درجه سلسیوس به‌عنوان شاهد قرار گرفتند. آزمایشات به‌صورت هفتگی و هرکدام در سه تکرار به مدت 20 هفته انجام شد.

معرف فولین سیوکالتیو و 2 و 2- دی فنیل 1- پیکروهیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما آلدریچ (St. Louis, MO, USA) و بقیه مواد شیمیایی از شرکت مرک (Darmstadt, Germany) خریداری شدند.

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

مواد جامد محلول (TSS) کنسانتره آب انار با استفاده از رفراکتومتر دیجیتال (Carl Zeiss, Germany) در 21 درجه سلسیوس و مواد جامد نامحلول با استفاده از سانتریفوژ (Froilabo, SW14R, France) با سرعت بالا (5000 × g) اندازه‌گیری و نتایج برحسب گرم ماده جامد نامحلول در 100 گرم نمونه محاسبه شد (Ibarz *et al*,. 2011). تشکیل کدورت ثانویه در نمونه‌های 10 بار رقیق‌شده (6/5 درجه بریکس) با استفاده از روش ته‌نشینی در لوله شیشه‌ای به مدت سه ساعت در دمای اتاق مورد بررسی قرار گرفت.

pH، اسیدیته، دانسیته، رطوبت، محتوای خاکستر، پروتئین و چربی کنسانتره بر اساس روش‌های مورد استفاده Horwitz و Albert (2006) اندازه‌گیری شدند (Horwitz and Albert., 2006).

اندازه‌گیری شاخص‌های رنگ نمونه‌های کنسانتره پس از ده بار رقیق‌سازی با استفاده از هانترلب (CHROMA METER CR-400/410, KONICA MINOLTA, Japan) انجام شد و ارزش*L (روشنایی/ تاریکی)، ارزش*a (قرمزی/ سبزی)، ارزش*b (زرد/ آبی) نمونه‌ها پس از رقیق‌سازی تا 6/5 درجه بریکس، مورد بررسی قرار گرفت.

خصوصیات رئولوژیکی

خصوصیات رئولوژیکی نمونه‌های کنسانتره نگهداری‌شده در دماهای مختلف (80-، 20-، 20 و 35 درجه سلسیوس) با تزریق 0/5 میلی‌لیتر از نمونه‌ها در ویسکومتر چرخشی صفحه‌ای و مخروطی بروکفیلد مجهز به سیستم کنترل دما (DVII pro Brook field, USA) و اسپیندل CP51 در دمای ثابت 25 درجه سلسیوس در سرعت‌های برشی 0/5 تا 200 (برثانیه) بر اساس روش Cárdenas و همکاران (1997) مورد بررسی قرار گرفت (Cárdenas *et al*., 1997).

1 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
2 Ferrous ion reducing antioxidant power

میزان فنول کل

میزان فنول کل کنسانتره آب انار پس از رساندن به درجه بریکس 12 بر اساس روش رنگ‌سنجی فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. یک‌دهم میلی‌لیتر از نمونه با 75 /0 میلی‌لیتراز محلول فولین سیوکالتیو (ده بار رقیق شده با آب دیونیزه) و 0/75 میلی لیتر محلول سدیم کربنات 2% مخلوط و پس از 60 دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق، میزان جذب در 765 نانومتر اندازه‌گیری شد. از گالیک اسید در غلظت‌های 50 ، 100و 500 میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌عنوان استاندارد ترکیبات فنولی استفاده قرار گردید (Sun *et al*., 2007).

میزان فلاوونوئید کل

میزان فلاوونوئید کل کنسانتره آب انار پس از رساندن به درجه بریکس 12 با استفاده از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید مورد بررسی قرار گرفت. یک میلی‌لیتر از نمونه با 0/1 میلی‌لیتر محلول آلومینیوم کلراید 10% و 0/1 میلی‌لیتر پتاسیم استات یک مولار مخلوط شد. بعد از نیم ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق، 2/8 میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه و جذب نمونه‌ها در 415 نانومتر اندازه‌گیری شد. از کوئرسیتین در غلظت‌های 6/25، 12/5، 25، 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر به عنوان استاندارد ترکیبات فلاوونوئیدی استفاده شد (Chang *et al*. 2002).

فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد

فعالیت مهارکنندگی کنسانتره آب انار پس از رساندن به درجه بریکس 12 با استفاده از رادیکال آزاد DPPH (DPPH^o) اندازه‌گیری شد. یک میلی‌لیتر محلول متانولی نمونه در غلظت‌های 1، 10، 100، 1000 میکروگرم بر میلی‌لیتر متانول به 19 میلی‌لیتر محلول متانولی 0/1 میلی مولار DPPH^o اضافه و به مدت 60 دقیقه در تاریکی نگهداری‌شد. سپس جذب نمونه‌ها در 517 نانومتر در برابر نمونه شاهد خوانده شد. درصد بازدارندگی DPPH^o (I%) بر اساس رابطه 1 اندازه‌گیری شد.

$$\text{درصد بازدارندگی} = ((Ac - A_S)/Ac) \times 100 \quad (1)$$

در این رابطه A_S جذب نمونه شاهد (شامل همه واکنش‌گرها به‌جز نمونه) و Ac جذب نمونه‌ها پس از 60 دقیقه می‌باشد.IC_{50} نمونه‌ها (غلظتی از نمونه که قابلیت مهار50 درصد از DPPH^o را داشته باشد) از معادله به‌دست آمده از نمودار درصد بازدارندگی محاسبه شد (Mazidi *et al*., 2012).

قدرت احیاکنندگی یون آهن

قدرت احیاکنندگی یون آهن (FRAP) کنسانتره آب انار پس از رساندن به درجه بریکس 12 با استفاده از روش رنگ‌سنجی تعیین گردید. یک میلی‌لیتر از نمونه‌ها با 2/5 میلی‌لیتر بافرفسفات (0/2 مولار با pH6/6) و 2/5 میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید (1%) مخلوط و به مدت 20 دقیقه در دمای 50 درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. سپس، 2/5 میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (10%) به مخلوط اضافه و به مدت 10 دقیقه همزده شد در ادامه، 2/5 میلی‌لیتر آب مقطر و 0/5 میلی‌لیتر آهن کلرید (0/1%) به مخلوط اضافه و جذب نمونه‌ها در 700 نانومتر خوانده شد. از ویتامین C در غلظت‌های 1، 10، 100، 1000 میکروگرم بر میلی‌لیتر به عنوان استاندارد استفاده شد (Fawole & Opara , 2013).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

کلیه آزمایشات پژوهش در 3 تکرار انجام شدند. نتایج حاصل در قالب طرح آزمایش فاکتوریل با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. به‌منظور مقایسه میانگین‌ها در آزمون‌های مربوط به تعیین مواد زیست‌فعال و آنتی‌اکسیدانی از آزمون دانکن در سطح احتمال P<0/05 استفاده گردید. رسم منحنی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2013 انجام شد.

نتایج و بحث

ترکیبات کنسانتره آب انار

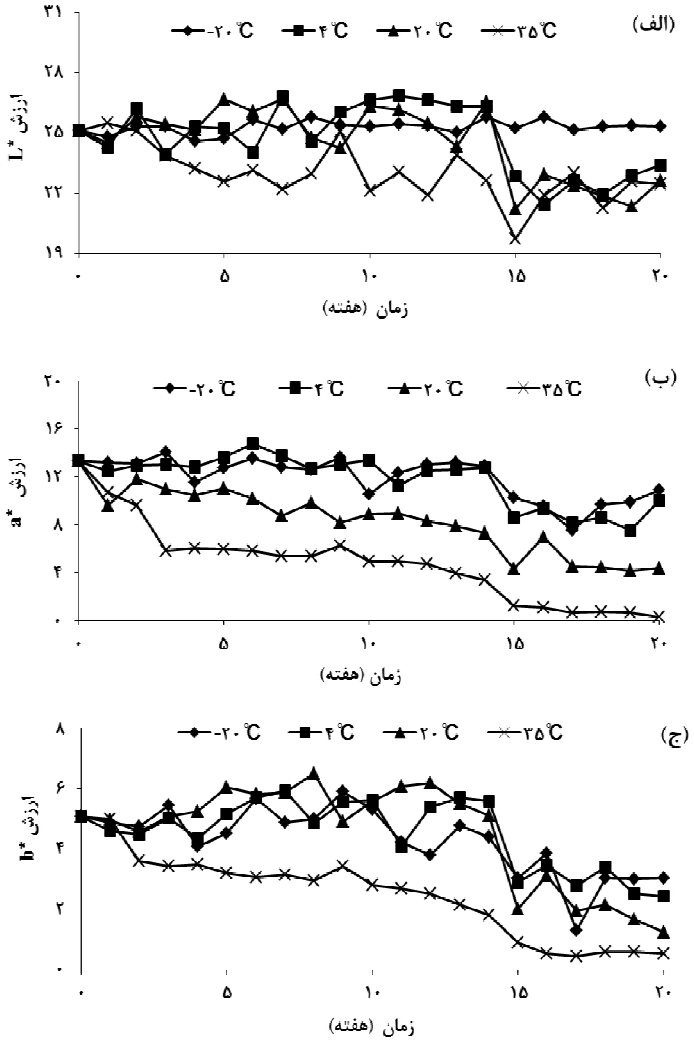
نتایج حاصل از بررسی ترکیبات کنسانتره آب انار در جدول 1 آورده شده است. نتایج بدست آمده با نتایج تحقیقات Kaya & Sözer بر روی کنسانتره آب انار ترش در مقادیر ترکیباتی نظیر pH ، اسیدیته کل و درصد موادجامد محلول همخوانی دارد (Kaya & Sözer, 2005).

جدول 1- شاخص‌های فیزیکوشیمیایی کنسانتره آب انار

شاخص	مقدار
میزان مواد جامدمحلول (درجه بریکس)	65±0/0
مواد جامد نامحلول (درصد)	0/0±0/0
پروتئین کل (درصد)	1/9±0/14
محتوای رطوبت (درصد)	34/2±0/28
محتوای خاکستر (درصد)	1/85±0/21
چربی کل (درصد)	1/11±0/13
کربوهیدرات (درصد)	60/9±0/27
pH	2/8±0/04
دانسیته (گرم بر سانتیمتر مکعب)	1/34±0/0
اسیدیته (درصد اسید سیتریک)	6/3±0/0

بررسی شاخص‌های رنگ (L*a*b*)

همانطور که در شکل 1- الف مشاهده می‌شود اگرچه تا انتهای هفته 14، تفاوت معنی‌داری بین ارزش L* نمونه‌های نگهداری‌شده در دماهای 20- ، 4 و20 درجه سلسیوس مشاهده نشد (شکل 1- الف)، اما در مورد نمونه‌های نگهداری‌شده در دمای 35 درجه سلسیوس از هفته اول شروع نگهداری روند این کاهشی بود. شاخص L* نمونه نگهداری شده در دمای 35 درجه سلسیوس طی 20 هفته نگهداری، 11 درصد کاهش یافت. مشابه یافته‌های این تحقیق، Martí و همکاران (2002) آب انار را در دمای 5 و 25 درجه سلسیوس نگهداری و گزارش کردند که طی 150 روز دوره نگهداری شاخص L* به شکل معنی‌داری کاهش یافت. همچنین شاخص L* و نمونه نگهداری‌شده در دمای 25 درجه سلسیوس با سرعت بیشتری نسبت به دمای 5 درجه سلسیوس کاهش یافت (Martí *et al*., 2002). اگرچه شاخص a* نمونه‌های نگهداری‌شده در دماهای 4 و20- درجه سلسیوس تا هفته 14، تغییر معنی‌داری پیدا نکرد، اما ارزش a* نمونه‌های نگهداری‌شده در دماهای 20 و 35 درجه سلسیوس از روز اول نگهداری به شکل مشهودی کاهش نشان داد (شکل 1-ب).



شکل 1- تغییر در شاخص‌های رنگی (الف) ارزش L*، (ب) ارزش a*، (ج) ارزش b*، کنسانتره آب انار رقیق شده (6/5 درجه بریکس) طی دوره نگهداری در دماهای مختلف

کاهش ارزش a^* و L^* می¬تواند به دلیل متمایل شدن رنگ به سمت قهوه¬ای باشد که این امر می¬تواند به دلیل تخریب آنتوسیانین¬ها و به دنبال آن تشکیل و تراکم پلیمرهای رنگی باشد (Wrolstad *et al*., 2005). از نظر ساختمانی آنتوسیانین¬ها مشتق کاتیون فلاویلیوم هستند که آنها را بسیار واکنش¬پذیر می¬سازد. این واکنش¬ها همچنین ممکن است موجب بی¬رنگ شدن

آنتوسیانین¬ها گردند (Mgaya- Kilima *et al*., 2015).

Pérez-Vicente و همکاران (2004) گزارش کردند که رنگ نمونه¬های آب انار طی دوره نگهداری در دماهای 20 و 35 درجه سلسیوس متمایل به قهوه¬ای می¬گردد (شاخص¬های رنگی (L*a*b*) روندی مشابه با شاخص¬های رنگی در پژوهش حاضر داشتند (Pérez-Vicente *et al*., 2004). در پژوهش حاضر ارزش b* طی 14 هفته اول تقریباً ثابت باقی ماند. اما پس از آن کاهش یافت. (شکل1-ج). در پایان دوره نگهداری ارزش b* نمونه¬های نگهداری¬شده در دمای 35 درجه سلسیوس به شکل معنی¬داری کمتر از نمونه¬های نگهداری¬شده در دماهای 20-، 4 و 20 درجه سلسیوس بود. همچنین، Lee و Coates (2002)، رنگ آب انگور قرمز نگهداری¬شده در دمای 23- درجه سلسیوس را به مدت 12 ماه مورد بررسی قرار داده و کاهش ارزش b* و a* نمونه¬ها را طی دوره نگهداری گزارش کردند (Lee and Coates, 2002). در تحقیق حاضر L*a*b* نمونه¬های نگهداری¬شده در دماهای 4 و 20- درجه سلسیوس در 14 هفته اول دوره نگهداری به شکل مشابهی کاهش یافتند. این کاهش بیانگر تأثیر مشابه این دو دما بر کنسانتره آب انار طی 14 هفته دوره نگهداری می¬باشد.

بررسی شکل گیری کدورت ثانویه

نتایج حاصل از بررسی ایجاد کدورت ثانویه پس از رقیق‌سازی کنسانتره آب انار تا 6/5 درجه بریکس نشان داد که کدورت ثانویه تنها پس از 17 هفته مشاهده گردید. بین نمونه‌های نگهداری‌شده در دمای 35 درجه سلسیوس از هفته 17 تا 20 تفاوت معنی‌داری در میزان کدورت ثانویه مشاهده نشد. نمونه‌های نگهداری‌شده در دماهای پایین‌تر از 35 درجه سلسیوس در تمام مدت دوره نگهداری شفاف باقی مانده و هیچ‌گونه کدورت ثانویه‌ای مشاهده نگردید. این کدورت عمدتاً به دلیل ایجاد ترکیبات پلیمری بین پلی‌ساکاریدها، پلی‌فنول‌ها، قندها، یون‌های فلزی، پروتئین‌ها، قطعات دیواره سلولی و سایر ساختارهای سلولی می‌باشد. ساختارهای پروتئین -پلی‌فنول بیشترین ترکیبات پلیمری تشکیل‌دهنده کدورت ثانویه می‌باشند (Fang *et al*., 2006). این نتایج با یافته‌های Fang و همکاران (2006) بر روی آب تصفیه شده توت قرمز مطابقت داشت. کدورت آب تصفیه شده توت قرمز پس از 6 ماه نگهداری در دمای 25 درجه سلسیوس کدر گردید (Fang *et al*., 2006).

خصوصیات رئولوژیکی

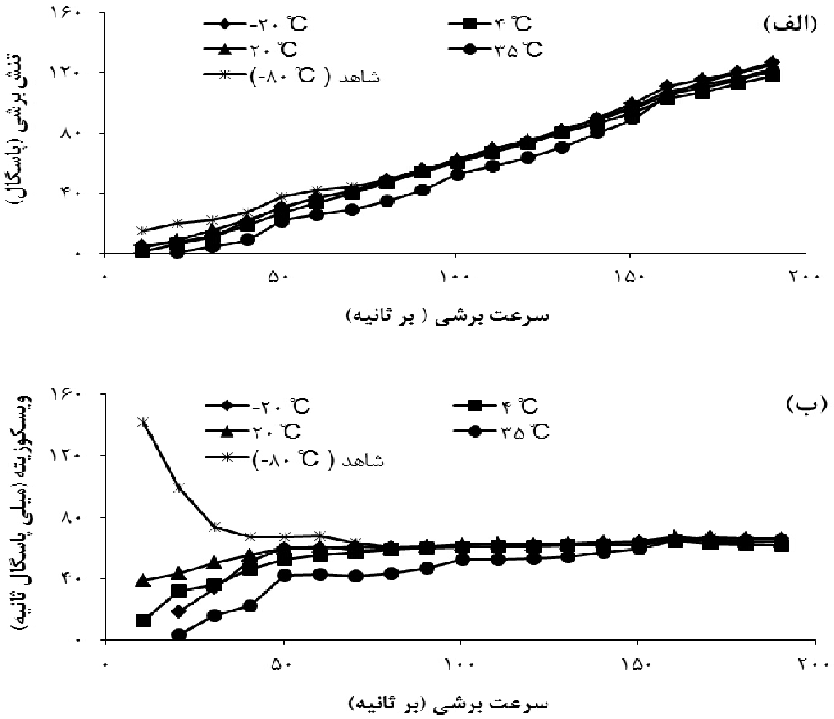
همانطور که در شکل 2- الف مشاهده می‌شود ، اگرچه نمونه شاهد (نگهداری شده در 80- درجه سلسیوس) رفتار رئولوژیکی رقیق شونده با برش (n<1) منطبق با مدل هرشل باکلی از خود نشان داد، اما نمونه‌های نگهداری‌شده در دماهای 20-، 4، 20 و 35 درجه سلسیوس رفتار غلیظ‌شونده با برش (n>1) از خود نشان دادند. در نمونه‌های نگهداری‌شده در دمای 35 درجه سلسیوس رفتار غلیظ‌شونده با برش مشهودتر بود. این رفتار غیرنیوتونی می‌تواندمربوط به شکل‌گیری واحدهای مولکولی سنگین وزن تشکیل شده مانند ساختارهای پروتئین– پلی‌فنول طی دوره نگهداری باشد (Pinelo *et al*., 2010; Fang *et al*., 2006). نمونه‌های نگهداری‌شده در دماهای 20-، 4 و 20 درجه سلسیوس در سرعت‌های برشی 50 – 0/5 بر ثانیه رفتار غیرنیوتنی از خود نشان دادند در حالی‌که نمونه نگهداری‌شده در دمای 35 درجه سلسیوس در سرعت‌های برشی 150 – 0/5 بر ثانیه رفتار غیرنیوتنی از خود نشان داد.

مقایسه میزان ترکیبات زیست‌فعال

طبق جدول 2 با گذشت زمان و در دماهای بالاتر میزان فنول کل به شکل معنی‌داری کاهش یافت. کمترین میزان فنول کل (1650 میلی‌گرم گالیک اسید بر لیتر) پس از 20 هفته نگهداری در دمای 35 درجه سلسیوس مشاهده گردید. از آنجایی که آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در کنسانتره آب انار در مرحله پاستوریزاسیون آب انار ورودی غیرفعال گردیده است، در نتیجه علت اصلی کاهش ترکیبات فنولی فعال، می‌تواند واکنش‌های تجزیه‌ای غیرآنزیمی مانند تخریب آنتوسیانین‌ها (به‌عنوان یکی از ترکیبات فنولی) توسط آسکوربیک اسید و همچنین تشکیل ساختارهای پلیمری از ترکیبات فنولی می‌باشد (Wrolstad *et al*., 2005). همچنین، Klimczak و همکاران (2007) نیز روندی کاهشی را برای میزان فنول کل نمونه‌های آب پرتقال نگهداری‌شده در دماهای 18، 28 و 38 درجه سلسیوس طی 6 ماه دوره نگهداری، گزارش کردند (Klimczak *et al*., 2007). همچنین Boranbayeva و همکاران (2014) تغییر در میزان آنتوسیانین های شاه توت را پس 8 ماه نگهداری در دماهای 20، 30 و 40 درجه سلسیوس مورد بررسی قرار دادند و کاهش معناداری را در میزان آنتوسیانین که جزئی از ترکیبات فنولی است مشاهده نمودند (Boranbayeva *et al*., 2014). میزان فنول کل نمونه‌های کنسانتره آب انار نگهداری‌شده در دماهای 4 و 20- درجه سلسیوس در مقایسه با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. همچنین، Tavarini و همکاران (2008)، میزان فنول کل میوه کیوی را طی دو ماه نگهداری در دمای صفر درجه سلسیوس بررسی و تغییر معنی‌داری مشاهده نکردند (Tavarini *et al*., 2008).

اثر زمان و دما بر میزان فلاوونوئید کل در جدول 2 نشان داده شده است. میزان فلاوونوئید کل نمونه‌های نگهداری شده در دماهای 20- و 4 درجه سلسیوس در مقایسه با نمونه شاهد تغییر معنی‌داری نداشتند. البته نمونه‌های نگهداری شده در 20 و 35 درجه سلسیوس

میزان فلاوونوئید کل به شکل معنی‌داری افزایش یافت. احتمالاً این افزایش مربوط به حضور پیش‌سازهای فلاوونوئیدی در نمونه‌ها می‌باشد مشابه با یافته‌های این تحقیق، Igual و همکاران (2011) نشان داد که میزان فلاوونوئید کل آب انگور طی 60 روز نگهداری در دمای 4 درجه سلسیوس افزایش یافت (Igual *et al*., 2011).



شکل 2- بررسی (الف) تنش برشی-سرعت برشی، (ب) ویسکوزیته-سرعت برشی نمونه های کنسانتره آب انار تازه و پس از 20 هفته نگهداری در دماهای مختلف

خصوصیات آنتی‌اکسیدانی

مطابق نتایج جدول 2، میزان IC_{50} نمونه‌های کنسانتره با افزایش دمای نگهداری افزایش و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها کاهش یافت. تفاوت معنی‌داری بین IC_{50} نمونه‌های نگهداری‌شده در دماهای 4 و 20 درجه سلسیوس (0/55 و 0/53میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در مقایسه با نمونه شاهد (0/45 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) وجود داشت. بیشترین میزان IC_{50} (0/6 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه نگهداری‌شده در دمای 35 درجه سلسیوس مشاهده شد. میزان IC_{50} نمونه نگهداری شده در دمای 20- درجه سلسیوس در مقایسه با نمونه شاهد تغییری معنی‌داری از خود نشان نداد. مشابه نتایج تحقیق حاضر، Klimczak و همکاران (2007) گزارش کردند که خصوصیت بازدارنگی رادیکال آزاد DPPH آب پرتقال طی 6 ماه نگهداری در دمای 38 درجه سلسیوس، کاهش یافت (Klimczak *et al*., 2007). این کاهش می‌تواند مربوط به از دست رفتن اسید آسکوربیک طی دوره نگهداری باشد (Dede *et al*., 2007). همچنین، Igual و همکاران (2011) آب انگور را به مدت 2 ماه در دو دمای 4 و 18- درجه سلسیوس نگهداری و خصوصیات بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH را اندازه‌گیری و نشان دادند که در انتهای دوره نگهداری فعالیت بازدارندگی نمونه‌های نگهداری شده در دمای 4 درجه سلسیوس بیشتر بود (Igual *et al*., 2011).

همانطور که در جدول 3 مشاهده می‌شود میزان شاخص FRAP در نمونه‌های نگهداری‌شده در دماهای 4، 20 و 35 درجه سلسیوس کمتر از نمونه شاهد بود. کاهش ارزش FRAP مربوط به کاهش میزان ویتامین C طی دوره نگهداری می‌باشد. مشابه نتایج این تحقیق، Piljac-Žegara و همکاران (2011) میوه گیلاس را به‌ترتیب 4 و 17 روز در دماهای 4 و 25 درجه سلسیوس نگهداری و کاهش ارزشFRAP در هر دو دما را مشاهده کردند (Piljac-Žegara *et al*., 2011). همچنین، Klimczak و همکاران (2007) ارزش FRAP آب پرتقال را پس از 6 ماه نگهداری در دماهای 18، 28 و 38 درجه سلسیوس مورد ارزیابی قرار داده و گزارش کردند

کاهش میزان ارزش FRAP پس از دوره نگهداری به دلیل کـاهش میزان فنول کل و ویتامینC می‌باشد (Klimczak *et al*., 2007).

جدول 2- ترکیبات زیست‌فعال کنسانتره آب انار پس از 20 هفته نگهداری در دماهای مختلف.

ترکیبات زیست‌فعال	دمای نگهداری (درجه سلسیوس)				
	-80 (شاهد)	-20	4	20	35
میزان فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید در صد گرم)	*93^{a}±2465	71^{a}±2398	130^{a}±2392	436^{ab}±2067	464^{b}±1650
میزان فلاوونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین درصد گرم)	2^{c}±240	2^{c}±245	6^{c}±246	7^{b}±266	8^{a}±341

*در هر ردیف میانگین‌های ارائه شده با حروف کوچک متفاوت، از لحاظ آماری دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$).

جدول 3- فعالیت آنتی‌اکسیدانی کنسانتره آب انار پس از 20 هفته نگهداری در دماهای مختلف.

شاخص آنتی‌اکسیدانی	دمای نگهداری (درجه سلسیوس)				
	-80 (شاهد)	-20	4	20	35
IC_{50} (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	*0/007^{c}±0/45	0/008^{c}±0/47	0/400^{b}±0/55	0/01^{b}±0/53	0/009^{a}±0/60
FRAP (گرم آسکوربیک اسید بر لیتر)	0/5^{a}±1/3	0/5^{a}±1/3	0/1^{b}±1/2	0/1^{b}±1/2	0/1^{b}±1/1

*در هر ردیف میانگین‌های ارائه شده با حروف کوچک متفاوت، از لحاظ آماری دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$).

نتیجه‌گیری

اثر دماهای مختلف طی دوره نگهداری کنسانتره آب انار صنعتی برای تعیین شرایط مناسب نگهداری و همچنین کاهش هزینـه‌هـای تولیدکنندگان برای نگهداری این محصول مورد بررسی قـرار گرفـت. نتایج بیانگر آن بود که کیفیت کلی کنسانتره آب انار شدیداً تحت تأثیر شرایط نگهداری قرار دارد. شاخص‌های کیفی (شـاخص‌هـای رنـگ، کـدورت ثانویـه، خصوصـیات رئولـوژیکی، ترکیبـات زیسـت‌فعـال و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی) نمونه‌های نگهداری‌شـده در دماهـای 4 و 20- درجه سلسیوس به مدت 14 هفته مشابه بودند. اسـتفاده از ایـن مهم (نگهداری در دمای 4 درجه سلسـیوس بـه جـای نگهـداری در حالت منجمد با حفظ کیفیت) می‌تواند به عنوان یکـی از راهکارهـای مهم برای کاهش هزینه‌های نگهداری مورد استفاده قرار گیرد. پس از 20 هفته نگهداری همچنان کنسانتره آب انار میـزان بـالای فعالیـت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان داد.

منابع

Ahmed, J., Shivhare, U., & Singh, P. 2004. Colour kinetics and rheology of coriander leaf puree and storage characteristics of the paste. *Food Chemistry*, 84: 605-611.

Bazargani-Gilani, B., Tajik, H., and Aliakbarlu, J. 2014. Physicochemical and antioxidative characteristics of Iranian pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Rabbab-e-Neyriz) juice and comparison of its antioxidative activity with Zataria multiflora Boiss essential oil.*Veterinary Research Forum*, 5: 313- 318.

Bozdogan, A. 2015. Viscosity behaviour of bitter orange (*Citrus aurantium*) juice as affected by temperature and concentration. *Journal of Food*, 13: 535- 540.

Boranbayeva, T., Karadeniz, F., Yılmaz, E. 2014. Effect of Storage on Anthocyanin Degradation in Black Mulberry Juice and Concentrates. *Food and Bioprocess Technology*, 7: 1894- 1902.

Burdurlu, H. S., & Karadeniz, F. 2003. Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrates. *Food Chemistry*, 80: 91-97.

Cárdenas, A., Higuera-Ciapara, I., & Goycoolea, F. 1997. Rheology and aggregation of cactus (Opuntia ficus-indica) mucilage in solution. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 2:152-159.

Chang, C.-C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10: 178-182.

Dede, S., Alpas, H., & Bayındırlı, A. 2007. High hydrostatic pressure treatment and storage of carrot and tomato juices: antioxidant activity and microbial safety. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 773-782.

Fang, Z., Zhang, M., Tao, G., Sun, Y., & Sun, J. 2006. Chemical composition of clarified bayberry (*Myrica rubra Sieb*.

et Zucc.) juice sediment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 7710-7716.
Fawole, O. A., & Opara, U. L. 2013. Changes in physical properties, chemical and elemental composition and antioxidant capacity of pomegranate (cv. Ruby) fruit at five maturity stages. *Scientia Horticulturae*, 150: 37-46.
Fischer, U. A., Carle, R., & Kammerer, D. R. 2011. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD–ESI/MS n. *Food Chemistry*, 127: 807-821.
Garzon, G., & Wrolstad, R. (2002). Comparison of the Stability of Pelargonidin based Anthocyanins in Strawberry Juice and Concentrate. *Journal of food science*, 67: 1288-1299
Horwitz, W., & Albert, R. 2006. The Horwitz ratio (HorRat): a useful index of method performance with respect to precision. *Journal of AOAC International*, 89: 1095-1109.
Igual, M., García-Martínez, E., Camacho, M., & Martínez-Navarrete, N. 2011. Changes in flavonoid content of grapefruit juice caused by thermal treatment and storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12: 153-162.
International Trade Center 2001-2015 ITC, www.intracen.org/itc//Iran-expects-record-pomegranate-harvest/ Friday, 06 Nov. 2015.
Kaya, A., & Sözer, N. 2005. Rheological behaviour of sour pomegranate juice concentrates (*Punica granatum* L.). *International Journal of Food Science & Technology*, 40: 223-227.
Klimczak, I., Małecka, M., Szlachta, M., & Gliszczyńska-Świgło, A. 2007. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 313-322.
Lee, H. S., & Coates, G. A. 2002. Characterization of color fade during frozen storage of red grapefruit juice concentrates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3988-3991.
Martí, N., Pérez-Vicente, A., & García-Viguera, C. 2002. Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 217-221.
Mazidi, S., Rezaei, K., Golmakani, M., Sharifan, A., & Rezazadeh, S. 2012. Antioxidant activity of essential oil from Black Zira (*Bunium persicum Boiss.)* obtained by microwave-assisted hydrodistillation. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14: 1013-1022.
Mgaya-Kilima, B., Fagertun Remberg, S., Elias Chove, B., and Wicklund, T. 2015. Physiochemical and antioxidant properties of roselle-mango juice blends; effects of packaging material, storage temperature and time. *Food Science and Nutrition*, 3: 100- 109.
Mousavinejad, G., Emam-Djomeh, Z., Rezaei, K., & Khodaparast, M. H. H. 2009. Identification and quantification of phenolic compounds and their effects on antioxidant activity in pomegranate juices of eight Iranian cultivars. *Food Chemistry*, 115: 1274-1278.
Ozturk, B., Celik, S. M., Karakaya, M., Karakaya, O., Islam, A., and. Yarilgac, T. 2016. Storage Temperature Affects Phenolic Content, Antioxidant Activity and Fruit Quality Parameters of Cherry Laurel (*Prunus laurocerasus* L.) *Journal of Food Processing and Preservation, In press.*
Pérez-Vicente, A., Serrano, P., Abellán, P., & García-Viguera, C. 2004. Influence of packaging material on pomegranate juice colour and bioactive compounds, during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84: 639-644.
Piljac-Žegarac, J., & Šamec, D. 2011. Antioxidant stability of small fruits in postharvest storage at room and refrigerator temperatures. *Food Research International*, 44: 345-350.
Pinelo, M., Zeuner, B., & Meyer, A. S. 2010. Juice clarification by protease and pectinase treatments indicates new roles of pectin and protein in cherry juice turbidity. *Food and Bioproducts Processing*, 88: 259-265.
Sun, T., Powers, J. R., & Tang, J. 2007. Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. *Food Chemistry*, 105: 101-106.
Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Remorini, D., Massai, R., & Guidi, L. 2008. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chemistry*, 107: 282-288.
Van der Sluis, A. A., Dekker, M., & van Boekel, M. A. 2005. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. 3. Stability during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:1073-1080.
Wrolstad, R. E., Durst, R. W., & Lee, J. 2005. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology*, 16: 423-428.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 5, Dec- Jan 2018, p. 820-829

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 5، آذر - دی 1396، ص.829-820

Investigation of Psychochemical and Functional Properties of Pomegranate (*Punica granatum* (L.) cv. Rabab) Juice Concentrate during Storage Period at Different Temperatures

M. Farahmand[1] , M. T. Golmakani[2*], A. Farahnaky [3], Gh. R. Mesbahi[4]

Received: 2016.04.25
Accepted: 2016.09.10

Introduction: The pomegranate (*Punica granatum* L.) belongs to the family Punicaceae, which is planted around the world in different microclimatic areas. The pomegranate production has grown uninterruptedly, which is presumably due to the increasing consumer awareness of the benefits attributed to pomegranate and its polyphenols. Pomegranate fruit has valuable compounds with functional and medicinal effects like antioxidant, anticancer, and anti-atherosclerotic effects. Storage of juice concentrate can have a dramatic impact on physicochemical quality. The bioactive compounds and antioxidant activity in fruit juice products are influenced by many external factors like different storage temperatures. Knowledge of the rheological behaviour of juice products is essential for product development, design and evaluation of process equipment like pumps and piping. Pomegranate concentrate is so susceptible to the condition of storage, which results in a reduction in consumer acceptability and quality losses. Accordingly, the industrial concentrate stores frozen (-20 °C) which has a lot of costs to the producer. The objectives of this study were to evaluate the degradation visual color, the rheological characteristics of pomegranate juice concentrates, the stability of phytochemicals, the antioxidant activity, and the haze formation of reconstituted pomegranate juice concentrate during storage at different temperatures to determine the best storage conditions to reduce the quality losses and solving the problem about high cost of storage.

Materials and methods: The concentrated pomegranate (*Punica granatum* (L.) cv. Rabab) juice used in this study supplied from Narni (Green farm, Neyriz, Iran) factory. The pomegranate juice concentrate was poured into falcons for measuring physicochemical attributes, and micro tubes for determination of antioxidant activities. Then the samples were divided into four parts and stored equally in four different temperatures (-20, 4, 20, and 35 °C). The control samples were stored at -80 °C as fresh sample for the storage period (140 days). Folin-Ciocalteu reagent and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH^{o}) were supplied from Sigma-Aldrich Company (St. Louis, MO, USA). All other chemicals were of analytical grade and purchased from Merck Company (Darmstadt, Germany). The total soluble solid (TSS) was determined with a digital refractometer (Carl Zeiss, Germany). Total insoluble solid was measured by centrifugation at (5,000 × g) according to the IFFJP method 60, using a high speed centrifuge (Ibarz et al., 2011). The haze formation of reconstituted juice was determined by "settling" in a glass tube for 3 hour at room temperature. Color measurements of the juice samples were carried out using a HunterLab (CHROMA METER CR-400/410, KONICA MINOLTA, Japan) after dilution. The rheological characteristics of the pomegranate juice concentrate stored in different temperatures were studied by using a computer controlled rotational viscometer. Sample compartment was monitored at a constant temperature (25°C) using a water bath/circulator, while TSS was 65 °Brix. The viscosity measurements, was carried out According to the methods described by Cárdenas et al., (1997), using a Brookfield cone and plate viscometer (DVII pro Brook field, USA) between the shear rate of 0.5–200 (1/s). Total phenolic content of samples was measured according to the Folin-Ciocalteu colorimetric method (Sun et al., 2007). Total flavonoid content in juices was determined via a spectrophotometer according to the method of Chang et al. (2002). Radical scavenging activities of the samples were measured by using DPPH^{o} as described by Mazidi et al., (2012). The ferrous ion reducing antioxidant power (FRAP) of the samples was measured calorimetrically according to the method by Fawole and Opara (2013). All analyses were performed by the Statistical Analysis System (SAS) software V 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA). By using the analysis of variance (ANOVA), the differences among means were determined for significance at $P< 0.05$.

1, 2 and 4. Former MSc Student, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz.
3. Professor of Food Science and Technology Department, School of Agriculture, Shiraz University/ School of Biomedical Sciences, ARC Industrial Transformation Training Centre for Functional Grains and Graham Centre for Agricultural Innovation, Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia
(* Corresponding author. E-mail: golmakani@shirazu.ac.ir)

Results and discussion: The industrial pomegranate juice concentrate stored at (-20, 4, 20, and 35 °C) for 20 weeks, and some physicochemical properties like the second turbidity, CIE Lab color parameters, the rheological properties, the bioactive component (total phenolic and flavonoid contents), and antioxidant properties (FRAP and DPPH) investigated in order to determine the best condition of storage. The second turbidity was obvious among the samples stored at 35 °C in the last fourth weeks. Although there were no significant differences among L* value of the samples stored at -20, 4, and 20 °C, a* and b* value of the samples stored at -20 and 4 °C had the same reduction trend for 14 weeks. Even though the control samples had shear thinning behavior, the samples showed a dilatant behaviour after storage. Antioxidant activities measured via DPPH and FRAP sowed reduction with increasing time and temperature. Flavonoid content increased by increasing time and temperature. In conclusion, storage at 4 °C for 14 weeks was the best storage condition to keep the quality and reduce the costs.

Keywords: Antioxidant, Bioactive compounds, Pomegranate juice concentrate, Rheological properties.