

مطالعه اثر همزمان دما و هیدروژن پراکسید بر پایداری آنتوسیانین‌های عصاره سه گونه زرشک

محمد فرهادی چیتگر^{a*}، مهدی وریدی^b، فخری شهیدی^c، اصغر ترابی^a

^a دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^b دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^c استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱۰/۱۰

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۴/۵

مقدمه: هیدروژن پراکسید به عنوان ماده رایج در استرلیزاسیون بسته‌های آب‌میوه، مورد استفاده قرار می‌گیرد که بررسی اثر آن بر پایداری آنتوسیانین‌های عصاره‌های مختلف، در این تحقیق مورد توجه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش اثر همزمان هیدروژن پراکسید در پنج سطح غلظتی ۱۰-۳۰ میلی مول/لیتر و دما در سه سطح ۱۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد بر پایداری آنتوسیانین‌های عصاره سه گونه زرشک بی‌دانه (*Berberis vulgaris*)، زالزالکی (*Berberis crtagina*) و زرافشانی (*Berberis integerrima*) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان تخریب آنتوسیانین‌ها در تمامی تیمارها با هر دو معادله سینتیکی درجه صفر و درجه اول برازش شد. نتایج نشان داد که تخریب آنتوسیانین‌ها در اثر هیدروژن پراکسید در هر سه گونه از معادله سینتیکی درجه اول پیروی می‌کند. در بیشتر موارد بین ثابت سرعت واکنش و زمان نیمه‌عمر هر سه گونه در غلظت‌ها و دماهای مختلف اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ($p < 0.05$) وجود داشت که این اختلاف بین زرشک بی‌دانه و زرشک زالزالکی کمتر بود. با افزایش غلظت هیدروژن پراکسید در هر سه گونه ثابت سرعت واکنش افزایش و زمان نیمه‌عمر کاهش یافت. وابستگی دمایی تخریب آنتوسیانین‌ها در اثر هیدروژن پراکسید از طریق محاسبه انرژی فعال‌سازی و ضریب دمایی تعیین شد. در غلظت ۱۰-۲۰ میلی مول/لیتر زرشک بی‌دانه کمترین وابستگی دمایی را نشان داد در صورتی که در غلظت‌های بالاتر (۲۵ و ۳۰ میلی مول/لیتر) زرشک زرافشانی، کمترین وابستگی دمایی را داشت.

نتیجه‌گیری: آنتوسیانین‌های عصاره هر سه گونه زرشک حساسیت بالایی به هیدروژن پراکسید نشان دادند. بنابراین فرایند اسپتیک در مورد فراوری این عصاره‌ها باید با کنترل بیشتری در جهت به حداقل رساندن مقدار باقیمانده این ماده در سطوح در تماس با عصاره‌های زرشک انجام شود. از طرفی با توجه به وابستگی دمایی بالا تخریب آنتوسیانین‌ها نگهداری سرد در مورد این عصاره‌ها توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، زرشک، سینتیک تخریب، هیدروژن پراکسید

مقدمه

هیدروژن پراکسید رایج‌ترین ماده مورد استفاده برای استرلیزاسیون بسته‌های مواد غذایی در سیستم اسپتیک محسوب می‌شود که به دو روش شناور سازی در حمام هیدروژن پراکسید یا اسپری کردن این ماده بر سطح بسته‌های پلی‌اتیلنی استفاده می‌شود. هیدروژن پراکسید از نظر FDA یک ماده کاملاً ایمن شناخته شده و مقدار مجاز باقیمانده پس از استرلیزاسیون بسته‌های مواد غذایی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد (Kunz & Binnig, 1987). اگر چه فرایند اسپتیک سعی به حداقل رساندن مقدار باقیمانده هیدروژن پراکسید در مخازن اسپتیک و مواد بسته‌بندی نموده است، اما مقادیر باقیمانده در مواد بسته‌بندی یا بخاراتی که طی خشک کردن تولید می‌شود ممکن است داخل بسته باقی بمانند، این مقادیر باقیمانده می‌تواند باعث تخریب آنتوسیانین‌ها و اسید آسکوربیک در آب‌میوه‌ها شوند (Toledo, 1986). بنابراین اسید آسکوربیک و آنتوسیانین دو ترکیب مهم هستند که توسط هیدروژن پراکسید تخریب می‌شوند. اثرات زیان آور هیدروژن پراکسید بر آنتوسیانین‌ها در عصاره توت‌فرنگی (Sondheimer & Kertesz, 1952)، اسید آسکوربیک در عصاره پرتقال (Johnson & Toledo, 1975) و همچنین در عصاره انگور، انار، پرتقال و نکتار توت فرنگی (Ozkan *et al.*, 2004) قبلاً مورد بررسی قرار گرفته است.

Sondheimer & Kertesz (۱۹۵۲) بیان کردند که آنتوسیانین‌های توت‌فرنگی در مقابل هیدروژن پراکسید بسیار حساس می‌باشند. Johnson & Toledo (۱۹۷۵) نیمه عمر را برای اسید آسکوربیک زمانی که آب پرتقال در مخازن اسپتیک با هیدروژن پراکسید استریل می‌شد را ۲۱ روز در ۲۴ درجه سانتی‌گراد و زمانی که با بخار استریل می‌شد ۴۲ روز در همین دما به دست آوردند. Ozkan و همکاران (۲۰۰۰) اثر سطوح مختلف و دماهای مختلف بر آنتوسیانین‌های عصاره آلبالو بررسی کردند و دمای پایین را برای کاهش تخریب آنتوسیانین‌ها طی نگهداری پیشنهاد کردند.

زرشک‌ها (*Berberis. sp*) به عنوان یکی از گیاهان دارویی مهم از گذشته‌های دور در ایران و بسیاری از تمدن‌های بزرگ دنیا مطرح شده و مورد استفاده قرار گرفته است. هم اکنون نیز با شناخت مواد مؤثره دارویی آن همانند

بربرین کاربرد وسیعی در صنایع دارویی پیدا کرده است (Tehranifar, 2003). جنس زرشک شامل ۵۰۰-۴۵۰ گونه است (Ahrendt, 1961) که چهار گونه بی‌دانه (*B. vulgaris*) زرافشانی (*B. integerrima*)، زالزکی (*B. cratagina*) و راست خوشه (*B. orthobotrys*) در نقاط مختلف ایران یافت می‌شود.

گونه بی‌دانه به طور صنعتی کشت می‌شود و ایران بزرگ‌ترین تولید کننده این محصول در جهان است (Tehranifar, 2003) علاوه بر این سایر گونه‌ها نیز به طور وحشی در نقاط مختلف ایران رشد می‌کنند (آزادی، ۱۳۸۹). زرشک‌ها یکی از منابع غنی از آنتوسیانین‌ها بوده و می‌توانند به عنوان یک غذای فراسودمند مطرح باشند (فرهادی و همکاران، ۱۳۹۲). لذا قبل از فرآوری این محصولات، به منظور تولید محصولی با کیفیت تغذیه‌ای بالا بررسی عوامل مختلف، مانند دمای فرآوری و عوامل اکسیدکننده نظیر هیدروژن پراکسید بر پایداری آنتوسیانین‌های عصاره آنها ضروری به نظر می‌رسد. اثر دما بر پایداری آنتوسیانین‌های این سه گونه زرشک مورد بررسی قرار گرفته است (فرهادی و همکاران، ۱۳۹۲) ولی در زمینه اثر هیدروژن پراکسید مطالعه‌ای تاکنون انجام نشده است. بنابراین در این پژوهش اثر همزمان ۵ سطح غلظتی هیدروژن پراکسید و سه سطح دمایی، بر سینتیک تخریب آنتوسیانین‌های عصاره این سه گونه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

- آماده‌سازی نمونه‌ها

میوه رسیده دو گونه زرشک زرافشانی و زالزکی از منطقه قوشخانه شهرستان شیروان و گونه زرشک بی‌دانه نیز از باغات شهرستان بیرجند جمع‌آوری شد. پس از جداسازی برگ، خارها و میوه‌های صدمه دیده، میوه‌ها توسط دستگاه پرس دستی، عصاره‌گیری و با استفاده از صافی پارچه‌ای صاف گردید. مواد شیمیایی مورد نیاز با درجه تجزیه‌ای از شرکت سیگما -آلدریچ خریداری شدند.

- بررسی اثر هیدروژن پراکسید

برای بررسی اثر غلظت‌های مختلف هیدروژن پراکسید ابتدا عصاره‌ها در انکوباتور یخچال دار به دمای مورد نظر

اثر غلظت‌های مختلف هیدروژن پراکسید در سه دما، در دو تکرار انجام شد. برازش معادله مناسب سینتیکی با استفاده از نرم‌افزار Slidewrite V7.0 انجام شد. برای مقایسه پارامترهای سینتیکی آنتوسیانین‌های عصاره سه گونه از نرم‌افزار SPSS16.0 و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده گردید. شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2007 ترسیم شد.

یافته‌ها

- سینتیک تخریب آنتوسیانین‌ها

سینتیک تخریب آنتوسیانین‌های زرشک در سطوح مختلف غلظتی با معادله درجه صفر و درجه اول برازش شد. رابطه ۲

$$C_t = C_0 \exp(-kt) \quad \text{رابطه ۳}$$

C_0 و C_t میزان آنتوسیانین‌ها در زمان اولیه و بعد از زمان t دقیقه و k و k_0 به ترتیب ثابت سرعت واکنش درجه اول و ثابت سرعت واکنش درجه صفر می‌باشند. برای انتخاب بهترین معادله داده‌ها با هر دو مدل برازش شد (جدول ۱، ۲ و ۳). ضریب تبیین بالا (۰/۹۶۲-۰/۹۰۸) در معادله درجه اول در مقایسه با ضریب تبیین معادله درجه صفر (۰/۵۳۳-۰/۸۰۴) و همچنین رابطه خطی به دست آمده از معادله درجه اول (شکل‌های ۱، ۲، ۳) نشان می‌دهد که سینتیک تخریب آنتوسیانین‌های زرشک در اثر هیدروژن پراکسید از معادله درجه اول پیروی می‌کند.

رسیدند. سپس هیدروژن پراکسید رقیق شده در غلظت‌های مختلف به عصاره‌ها اضافه گردیده و به حجم رسانده شدند (سطوح غلظتی ۱۰-۳۰ میلی‌مول در لیتر متغیر بود). غلظت آنتوسیانین‌ها در زمان‌های مختلف اندازه‌گیری شد. برای محاسبه آنتوسیانین‌ها در زمان صفر از آب مقطر به جای هیدروژن پراکسید استفاده شد.

- اندازه‌گیری آنتوسیانین‌ها

اندازه‌گیری آنتوسیانین‌ها بر اساس روش pH افتراقی توصیف شده توسط Lee و همکاران (2002) بدین صورت محاسبه شدند که ابتدا عصاره‌ها با بافرهای کلرید پتاسیم (pH=۱) و استات سدیم (pH=۴/۵) رقیق و جذب آنها در طول موج ماکزیمم و طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. سپس از رابطه زیر میزان آنتوسیانین‌ها بر اساس سیانیدین ۳ گلیکوزید تعیین گردید.

رابطه ۱

$$Y = A \times Mw \times DF \times 1000 / \epsilon \times L \quad \text{میزان آنتوسیانین کل (میلی‌گرم/لیتر)}$$

DF: فاکتور رقت

$$A = (A_{510} \text{ pH } 4.5 \text{ و } A_{700} \text{ pH } 1.0) \quad \text{اختلاف بین دو جذب در pH } 4.5 \text{ و } 1.0$$

Mw: جرم مولکولی سیانیدین ۳- گلیکوزید

ϵ : جذب مولی

L: طول سل بر حسب سانتی‌متر

- تجزیه و تحلیل آماری

جدول ۱- تخمین درجه واکنش تخریب آنتوسیانین‌های زرشک بی‌دانه در سطوح مختلفی غلظتی و دمایی

دما (درجه سانتی‌گراد)	غلظت هیدروژن پراکسید (میلی‌مول در لیتر)	ضریب تبیین معادله درجه اول	ضریب تبیین معادله درجه صفر
۱۰	۱۰	۰/۹۲۳	۰/۸۹۴
۱۵	۱۵	۰/۹۴۹	۰/۸۵۷
۲۰	۲۰	۰/۹۱۷	۰/۸۵۸
۲۵	۲۵	۰/۹۱۰	۰/۸۵۱
۳۰	۳۰	۰/۹۳۰	۰/۸۰۴
۱۰	۱۰	۰/۹۲۸	۰/۵۳۳
۱۵	۱۵	۰/۹۵۸	۰/۷۷۸
۲۰	۲۰	۰/۹۰۸	۰/۷۹۱
۲۵	۲۵	۰/۹۵۵	۰/۷۳۷
۳۰	۳۰	۰/۹۶۲	۰/۸۰۴
۱۰	۱۰	۰/۹۵۱	۰/۹۳۹
۱۵	۱۵	۰/۹۷۷	۰/۹۸۱
۲۰	۲۰	۰/۹۹۷	۰/۹۹۲
۲۵	۲۵	۰/۹۵۶	۰/۸۶۸
۳۰	۳۰	۰/۹۹۱	۰/۹۷۳

مطالعه اثر همزمان دما و هیدروژن پراکسید بر پایداری آنتوسیانین‌های عصاره سه گونه زرشک

جدول ۲ - تخمین درجه واکنش تخریب آنتوسیانین‌های زرشک زرافشانی در سطوح مختلفی غلظتی و دمایی

دما (درجه سانتی‌گراد)	غلظت هیدروژن پراکسید (میلی مول در لیتر)	ضریب تبیین معادله درجه اول	ضریب تبیین معادله درجه صفر
	۱۰	۰/۹۲۳	۰/۸۹۴
	۱۵	۰/۹۴۹	۰/۸۵۷
۱۰	۲۰	۰/۹۱۷	۰/۸۵۸
	۲۵	۰/۹۱۰	۰/۸۵۱
	۳۰	۰/۹۳۰	۰/۸۰۴
	۱۰	۰/۹۲۸	۰/۵۳۳
	۱۵	۰/۹۵۸	۰/۷۷۸
۲۰	۲۰	۰/۹۰۸	۰/۷۹۱
	۲۵	۰/۹۵۵	۰/۷۳۷
	۳۰	۰/۹۶۲	۰/۸۰۴
	۱۰	۰/۹۵۱	۰/۹۳۹
	۱۵	۰/۹۷۷	۰/۹۸۱
۳۰	۲۰	۰/۹۹۷	۰/۹۹۲
	۲۵	۰/۹۵۶	۰/۸۶۸
	۳۰	۰/۹۹۱	۰/۹۷۳

جدول ۳ - تخمین درجه واکنش تخریب آنتوسیانین‌های زرشک زالزالکی در سطوح مختلفی غلظتی و دمایی

دما (درجه سانتی‌گراد)	غلظت هیدروژن پراکسید (میلی مول در لیتر)	ضریب تبیین معادله درجه اول	ضریب تبیین معادله درجه صفر
	۱۰	۰/۹۳۸	۰/۸۲۷
	۱۵	۰/۹۲۵	۰/۹۰۴
۱۰	۲۰	۰/۹۴۶	۰/۹۰۴
	۲۵	۰/۹۴۱	۰/۸۹۰
	۳۰	۰/۹۲۲	۰/۸۷۶
	۱۰	۰/۹۴۸	۰/۹۸۲
	۱۵	۰/۹۸۰	۰/۸۲۷
۲۰	۲۰	۰/۹۹۳	۰/۹۰۴
	۲۵	۰/۹۸۳	۰/۸۹۰
	۳۰	۰/۹۹۵	۰/۸۶۵
	۱۰	۰/۹۸۰	۰/۸۶۳
	۱۵	۰/۹۹۲	۰/۸۶۲
۳۰	۲۰	۰/۹۴۰	۰/۹۸۰
	۲۵	۰/۹۵۱	۰/۸۹۱
	۳۰	۰/۹۴۲	۰/۸۴۰

۸۲

دقیقه و ۰/۲۶۲-۱/۴۲ ساعت، برای زرشک زرافشانی ۷۳/۶۰-۱۴/۲۵ /۱ دقیقه و ۰/۱۵۷-۰/۸۵۶ ساعت و برای زرشک زالزالکی ۳۸/۵۴-۷/۹۵ /۱ دقیقه و ۰/۲۹۹-۱/۴۵ ساعت به دست آمد. در بیشتر موارد بین ثابت سرعت واکنش و زمان نیمه عمر هر سه گونه در غلظت‌ها و دماهای مختلف اختلاف آماری معنی‌داری در سطح $(P < 0.05)$ وجود داشت که این اختلاف بین زرشک بی‌دانه و زرشک زالزالکی کمتر بود.

نیمه عمر $(t_{1/2})$ زمانی که لازم است تا آنتوسیانین‌ها به ۵۰ درصد مقدار اولیه برسند، براساس معادله ۴ محاسبه شد.
 $t_{1/2} = -\ln 0.5/k$
 رابطه ۴

جدول ۴ ثابت‌های سینتیک به دست آمده از برازش معادله درجه اول را نشان می‌دهد.
 مقادیر k (ثابت سرعت واکنش) و مقادیر $t_{1/2}$ (زمان نیمه‌عمر) در دمای ۱۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۳۰-۱۰ میلی‌مول/لیتر برای زرشک بی‌دانه ۴۳/۹۷-۸/۱۹ /۱

جدول ۴ - پارامترهای سینتیکی تخریب آنتوسیانین های عصاره سه زرشک در سطوح مختلف غلظتی هیدروژن پراکسید

زرشک زالزکی		زرشک زرافشانی		زرشک بی دانه		دما	غلظت (میلی مول/لیتر)
$t_{1/2}$	$(\times 10^{-3}) k$	$t_{1/2}$	$(\times 10^{-3}) k$	$t_{1/2}$	$(\times 10^{-3}) k$		
۱/۴۵±۰/۰۴۳ ^a	۷/۹۵±۰/۱۵۵ ^a	۰/۸۵۶±۰/۰۰۵ ^b	۲۵±۰/۳۵۳ ^{۱۴} ^b	۱/۴۱±۰/۰۴۳ ^a	۸/۱۹±۰/۰۷۳ ^a	۱۰	۱۰
۱/۰۳±۰/۰۵۱ ^c	۱۱/۲۵±۰/۳۸۰ ^c	۰/۷۲۲±۰/۰۱۳ ^b	۱۶±۰/۴۵۲ ^b	۱/۳۵±۰/۰۲۳ ^a	۸/۵۳±۰/۴۲۴ ^a	۲۰	
۰/۷۰۲±۰/۰۱۰ ^c	۱۶/۳۳±۰/۱۶۹ ^c	۰/۴۴۸±۰/۰۰۷ ^b	۲۵/۸۰±۰/۶۹۲ ^b	۱/۳۱۵±۰/۰۱۶ ^a	۸/۷۸±۰/۱۱۸ ^a	۳۰	
۱/۰۱±۰/۰۱۳ ^c	۱۰/۱±۰/۴۳۸ ^a	۰/۶۲۷±۰/۰۰۶ ^b	۱۹/۰۳±۰/۲۹۸ ^b	۱/۰۹±۰/۰۱۸ ^a	۱۰/۶۲±۰/۳۶۸ ^a	۱۰	۱۵
۰/۸۰۴±۰/۰۳۳ ^c	۱۴/۳۷±۰/۳۴۳ ^c	۰/۶۰۸±۰/۰۱۹ ^b	۱۹±۰/۲۸۲ ^b	۰/۹۰±۰/۰۱۳ ^a	۱۲/۷۱±۰/۴۱۰ ^a	۲۰	
۰/۶۹۲±۰/۰۱۴ ^c	۱۶/۵۹±۰/۲۴۱ ^c	۰/۳۷۵±۰/۰۱۱ ^b	۳۰/۸۰±۰/۳۰۰ ^b	۰/۷۹۱±۰/۰۱۷ ^a	۱۴/۶۰±۰/۲۱۳ ^a	۳۰	
۱±۰/۰۰۸ ^c	۱۱/۵±۰/۲۴۰ ^c	۰/۴۱۹±۰/۰۰۳ ^b	۲۷/۲۶±۰/۳۷۶ ^b	۰/۷۷۳±۰/۰۱۳ ^a	۱۴/۹۳±۰/۰۱۸ ^a	۱۰	۲۰
۰/۶۸۸±۰/۰۱۳ ^c	۱۶/۷۹±۰/۶۶۴ ^a	۰/۳۴۵±۰/۰۰۶ ^b	۳۳/۵۰±۰/۸۴۸ ^b	۰/۶۳۳±۰/۰۱۸ ^a	۱۸/۲۶±۰/۷۶۴ ^a	۲۰	
۰/۴۱۱±۰/۰۰۹ ^c	۲۸/۰۳±۰/۴۵۳ ^c	۰/۲۶۲±۰/۰۰۵ ^b	۴۴/۱۰±۰/۵۰۹ ^b	۰/۵۹۶±۰/۰۱۶ ^a	۱۹/۳۷±۰/۱۸۴ ^a	۳۰	
۰/۶۵۸±۰/۰۲۳ ^a	۱۷/۵۶±۰/۴۶۷ ^a	۰/۲۹۲±۰/۰۰۶ ^b	۳۹/۸۰±۰/۴۴۱ ^b	۰/۶۶۴±۰/۰۱۱ ^a	۱۷/۴۰±۰/۶۲۳ ^a	۱۰	۲۵
۰/۵۲۷±۰/۰۱۱ ^c	۲۱/۹۲±۰/۲۲۶ ^a	۰/۱۹۳±۰/۰۰۹ ^b	۵۹/۸۰±۰/۸۶۲ ^b	۰/۵۶۶±۰/۰۱۰ ^a	۲۰/۴۰±۰/۵۹۴ ^a	۲۰	
۰/۳۳۴±۰/۰۱۹ ^c	۳۴/۴۵±۰/۳۸۴ ^c	۰/۲۰۸±۰/۰۱۰ ^b	۵۵/۴۰±۰/۴۹۵ ^b	۰/۴۰۴±۰/۰۰۷ ^a	۲۸/۵۷±۰/۳۵۳ ^a	۳۰	
۰/۵۴۸±۰/۰۱۱ ^c	۲۱/۰۷±۰/۶۷۸ ^a	۰/۲۸۲±۰/۰۰۴ ^b	۴۲/۵۰±۰/۷۷۰ ^b	۰/۵۹۳±۰/۰۰۷ ^a	۱۹/۴۸±۰/۰۱۸ ^a	۱۰	۳۰
۰/۳۹۴±۰/۰۱۴ ^c	۲۹/۳۴±۰/۷۳۰ ^a	۰/۱۷۵±۰/۰۱۳ ^b	۶۶/۱۰±۰/۹۱۴ ^b	۰/۳۶۶±۰/۰۰۹ ^a	۳۱/۵۰±۰/۳۴۵ ^a	۲۰	
۰/۲۹۹±۰/۰۱۰ ^c	۳۸/۵۴±۰/۲۶۹ ^c	۰/۱۵۷±۰/۰۰۷ ^b	۷۳/۶۰±۰/۶۱۳ ^b	۰/۲۶۲±۰/۰۱۳ ^a	۴۳/۹۷±۰/۲۴۰ ^a	۳۰	

۱- ثابت سرعت واکنش درجه اول (دقیقه/۱)

۲- زمان نیمه عمر (ساعت)

۳- اعداد جدول به صورت میانگین ± انحراف استاندارد داده‌ها

۴- حروف مشترک دارای اختلاف آماری معنی‌داری نیستند ($P > 0.05$)

دمایی (Q_{10}) از طریق معادله زیر تعیین شد.

$$k = k_0 \times e^{-Ea/RT} \quad \text{رابطه ۵}$$

$$Q_{10} = k_{(T+10)} / k_{(T)} \quad \text{رابطه ۶}$$

در غلظت ۱۰-۳۰ میلی‌مول/لیتر هیدروژن پراکسید و دمای ۱۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد انرژی فعال‌سازی و ضریب دمایی بین ۲/۴۸-۲۹/۰۶ کیلوژول/مول و ۱/۰۳-۱/۶۲ برای زرشک بی‌دانه، ۲۱/۱۰-۱۸/۰۴ کیلوژول/مول و ۱/۶۲-۲۵/۶۳ برای زرشک زرافشانی و ۱/۳۱-۱/۶۷ برای زرشک زالزکی متغیر بود. مقادیر انرژی فعال‌سازی و ضریب دمایی در هر گونه و در سطوح غلظتی متفاوت، روند یکسانی را نشان ندادند. به جز غلظت ۱۵ میلی‌مول/لیتر، بین انرژی فعال‌سازی سه گونه در سایر غلظت‌ها اختلاف آماری معنی‌داری در سطح $(P < 0.05)$ وجود داشت. اختلاف آماری ضریب دمایی نیز

مقادیر k (ثابت سرعت واکنش) و مقادیر $t_{1/2}$ (زمان نیمه‌عمر) در دمای ۱۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۳۰-۱۰ میلی‌مول/لیتر برای زرشک بی‌دانه ۴۳/۹۷-۸/۱۹ / دقیقه و ۱/۴۲-۰/۲۶۲ ساعت، برای زرشک زرافشانی ۷۳/۶۰-۱۴/۲۵ / دقیقه و ۰/۱۵۷-۰/۸۵۶ ساعت و برای زرشک زالزکی ۳۸/۵۴-۷/۹۵ / دقیقه و ۰/۲۹۹-۱/۴۵ ساعت به دست آمد. در بیشتر موارد بین ثابت سرعت واکنش و زمان نیمه عمر هر سه گونه در غلظت‌ها و دماهای مختلف اختلاف آماری معنی‌داری در سطح $(P < 0.05)$ وجود داشت که این اختلاف بین زرشک بی‌دانه و زرشک زالزکی کمتر بود.

وابستگی دمایی سینتیک تخریب

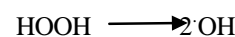
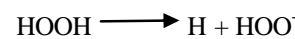
وابستگی دمایی تخریب آنتوسیانین‌ها در اثر هیدروژن پراکسید با محاسبه انرژی فعال‌سازی (Ea) و ضریب

بین گونه بی‌دانه و دو گونه دیگر نیز به طور کلی در سطح $(P < 0.05)$ معنادار بود.

بحث

- سینتیک تخریب آنتوسیانین‌ها

تجزیه هیدروژن پراکسید در در محلول‌های آبی به دو روش صورت می‌گیرد: ۱- تجزیه ۲- شکافت همولوگیک باندهای O-H یا O-O این واکنش‌ها منجر به تشکیل فرآورده‌هایی با واکنش‌پذیری بالا نظیر پرهیدروکسیل آنیون (HOO^-) ، پرهیدروکسیل $(\text{HOO}\cdot)$ و رادیکال هیدروکسیل $(\text{HO}\cdot)$ (De et al, 1999).



مشخص شده است که فرآورده‌های حاصل از تجزیه و تخریب هیدروژن پراکسید مسئول اکسیداسیون و تخریب ترکیبات فنلی به ویژه آنتوسیانین‌ها هستند (Sapers, 1999). Du و همکاران (۱۹۹۹) نیز بیان کردند رادیکال هیدروکسیل ترکیب اصلی فعال در باز شدن حلقه بنزن و تجزیه آن به آب و دی‌اکسیدکربن است. Von Elbe و Schwartz (۱۹۹۶) گزارش کردند که کینون تشکیل شده از اکسیداسیون فنل‌ها نیز نقش مخربی بر آنتوسیانین‌ها دارد. بنابراین دو عامل باعث تخریب آنتوسیانین‌ها توسط هیدروژن پراکسید در آب‌میوه‌هایی که حاوی ترکیبات فنلی زیادی هستند می‌شود. ۱- رادیکال‌های آزاد و پرهیدروکسیل آنیون تشکیل شده از تجزیه و تخریب هیدروژن پراکسید ۲- کینون تشکیل شده از اکسیداسیون ترکیبات فنلی توسط هیدروژن پراکسید. Sondheimer و Kertesz (۱۹۵۲) برای اولین بار سینتیک تخریب آنتوسیانین‌ها را در عصاره توت‌فرنگی و محلول‌های خالص آنتوسیانین اصلی توت‌فرنگی (پلارگونیدین ۳ گلیکوزید) بررسی کردند. این محققان بیان کردند که تخریب اکسیداتیو آنتوسیانین‌ها در دو مرحله اتفاق می‌افتد: واکنش مرحله اول که برگشت پذیر است شامل تشکیل ترکیب اضافی آنتوسیانین-هیدروژن پراکسید و به دنبال آن واکنش مرحله دوم که غیرقابل برگشت و کندتر است. هیدروژن

پراکسید و ترکیبات ناشی از تجزیه آن باند کربن-کربن را در مجاورت کربن ۲ یا کربن ۳ آنتوسیانین باز می‌کنند و ترکیب بی‌رنگ مالون تشکیل می‌شود (Couate, 1989). در هر سه گونه با افزایش غلظت هیدروژن پراکسید و افزایش دما، ثابت سرعت واکنش افزایش و زمان نیمه عمر کاهش یافت. در بین سه گونه، زرشک بی‌دانه دارای بیشترین پایداری در مقابل هیدروژن پراکسید و پس از آن زرشک زالزالکی و زرافشانی قرار داشتند. Sondheimer و Kertesz (۱۹۵۲) زمان نیمه عمر را برای آنتوسیانین‌های توت‌فرنگی در غلظت‌های ۷۷/۴، ۱۰/۴ و ۲/۴۲ میلی‌مول/لیتر هیدروژن پراکسید به ترتیب ۶، ۹ و ۱۳ دقیقه گزارش کردند. Sapers و Simmons (۱۹۹۸) گزارش کردند که آنتوسیانین‌های گیلاس‌ترش در مقایسه با آنتوسیانین‌های تمشک و توت‌فرنگی مقاومت بیشتری به هیدروژن پراکسید دارند. Ozkan و همکاران (۲۰۰۵) اثر غلظت‌های ۲۷/۹۲-۹/۳۱ میلی‌مول بر لیتر هیدروژن پراکسید را بر آنتوسیانین‌های انار، توت‌فرنگی و گیلاس‌ترش مورد بررسی قرار دادند و زمان نیمه‌عمر را برای آنتوسیانین‌های انار ۱-۲/۹ ساعت، برای آنتوسیانین‌های توت‌فرنگی ۰/۹-۲/۸ ساعت و برای آنتوسیانین‌های آلبالو ۱/۲-۴ ساعت به دست آوردند. مقایسه زمان نیمه‌عمر به دست آمده برای آنتوسیانین‌های گونه‌های زرشک با مقادیر زمان نیمه‌عمر آنتوسیانین‌های انار، توت‌فرنگی و آلبالو نشان می‌دهد که آنتوسیانین‌های گونه‌های زرشک در مقابل هیدروژن پراکسید بسیار حساس بوده و به سرعت تخریب می‌شوند. واکنش‌پذیری بالای عصاره‌های زرشک با هیدروژن پراکسید نشان دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای این عصاره‌ها با گونه‌های اکسیژن فعال می‌باشد. تفاوت پایداری آنتوسیانین‌های گونه‌های زرشک با یکدیگر و با آنتوسیانین‌های سایر میوه‌ها می‌تواند مربوط به متفاوت بودن در نوع آنتوسیانین‌های موجود در آنها باشد. به عنوان مثال Hernandez و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که مشتقات دلفینیدین نسبت به مشتقات سیانیدین و پلارگونیدین به راحتی اکسید می‌شوند. Ozkan و همکاران (۲۰۰۵) مقاومت بالای آنتوسیانین‌های عصاره انار و گیلاس‌ترش را به حضور سیانیدین در این عصاره‌ها نسبت دادند. پلارگونیدین-۳ گلیکوزید و سیانیدین-۳ گلیکوزید آنتوسیانین‌های اصلی زرشک بی‌دانه هستند، در

دمای ۲۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد بیشتر از دمای ۲۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد به دست آمد.

انرژی فعال‌سازی و ضریب دمایی بالا نشان دهنده بالا بودن وابستگی تخریب آنتوسیانین‌ها به دما می‌باشد، یعنی هر چه انرژی فعال‌سازی بیشتر باشد تغییر دمای کمتری مورد نیاز است تا یک ترکیب خاص با سرعت بالاتری تخریب گردد. از طرف دیگر بالا بودن Q_{10} نشان می‌دهد که دماهای پایین‌تری برای نگهداری و جلوگیری از تخریب آنتوسیانین‌ها مورد نیاز است. پایین بودن Q_{10} نشان دهنده وجود پیوستگی مولکولی است که می‌تواند میزان تخریب آنتوسیانین‌ها را کاهش دهد (Al-Zubaidy, 2007). در نگهداری طولانی مدت دمای پایین از تخریب آنتوسیانین‌ها جلوگیری می‌کند.

Cemeroglu و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کردند که مقدار زمان نیمه‌عمر برای کنسانتره توت‌فرنگی طی ۳۵۶-۳۸ روز نگهداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد ۱۰ برابر کمتر از شرایط نگهداری در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد است. به طور مشابه زمان نیمه‌عمر برای آنتوسیانین‌های عصاره قره‌قاپ که به طور اسپتیک بسته بندی شده بود به ترتیب ۲۱۰ روز در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، ۱۱۲ روز در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد و ۸۶ روز در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد به دست آمده است (Toledo, 1986).

صورتی که آنتوسیانین‌های اصلی زرشک زرافشانی را دلفینیدین ۳-گلیکوزید و سیانیدین ۳-روتینوزید تشکیل می‌دهند (Du and Francis, 1974). در رابطه با آنتوسیانین‌های زرشک زالزالکی اطلاعاتی در منابع وجود ندارد بنابراین متفاوت بودن پایداری آنتوسیانین‌های سه گونه زرشک می‌تواند مربوط به تفاوت در ساختار آنتوسیانین‌های آنها باشد. همان‌طور که گفته شد کینون تشکیل شده از اکسیداسیون ترکیبات فنلی توسط هیدروژن پراکسید نیز می‌تواند باعث تخریب آنتوسیانین‌ها شود لذا تفاوت در مقادیر و نوع ترکیبات فنلی سه گونه نیز عاملی دیگری بر تفاوت مقاومت آنها به هیدروژن پراکسید می‌باشد. Sondheimer و Kertesz (۱۹۵۲) اثرات منفی اسیدآسکوربیک را بر آنتوسیانین‌های توت‌فرنگی را در عصاره و یک سیستم مدل از آنتوسیانین‌های آن گزارش کردند. لذا تفاوت در مقادیر اسیدآسکوربیک نیز عامل سوم تفاوت در مقاومت آنها به هیدروژن پراکسید می‌باشد.

- وابستگی دمایی سینتیک تخریب

با توجه به مقادیر انرژی فعال‌سازی و ضریب دمایی، در غلظت ۲۰-۱۰ میلی‌مول/لیتر زرشک بی‌دانه کمترین وابستگی دمایی را نشان داد در صورتی که در غلظت‌های بالاتر (۲۵ و ۳۰ میلی‌مول/لیتر) زرشک زرافشانی کمترین وابستگی دمایی را داشت. ضریب دمایی به طور کلی در

جدول ۵- وابستگی دمایی آنتوسیانین‌های عصاره سه گونه زرشک در سطوح مختلف غلظتی

غلظت (مول/لیتر)	زرشک بی‌دانه			زرشک زرافشانی			زرشک زالزالکی		
	Q_{10}^{20-30}	Q_{10}^{10-20}	Ea^1	Q_{10}^{20-30}	Q_{10}^{10-20}	Ea	Q_{10}^{20-30}	Q_{10}^{10-20}	Ea
۱۰	730 ± 10.4	110 ± 0.2	401 ± 0.48	270 ± 11.0	260 ± 12.6	270 ± 11.0	770 ± 14.3	770 ± 14.3	25 ± 6.2
۱۵	940 ± 12.0	115 ± 1.0	11 ± 3.5	570 ± 9.9	16 ± 9.6	16 ± 9.6	17 ± 7.6	17 ± 7.6	17 ± 7.6
۲۰	970 ± 10.6	122 ± 1.2	9 ± 3.3	870 ± 12.2	17 ± 11.1	17 ± 11.1	660 ± 13.2	31 ± 6.8	31 ± 6.8
۲۵	140 ± 13.1	117 ± 1.6	17 ± 5.9	990 ± 15.0	11 ± 9.7	11 ± 9.7	770 ± 9.3	31 ± 6.8	31 ± 6.8
۳۰	162 ± 13.6	140 ± 1.9	29 ± 6.1	170 ± 11.1	17 ± 4.8	17 ± 4.8	910 ± 11.1	21 ± 5.3	21 ± 5.3

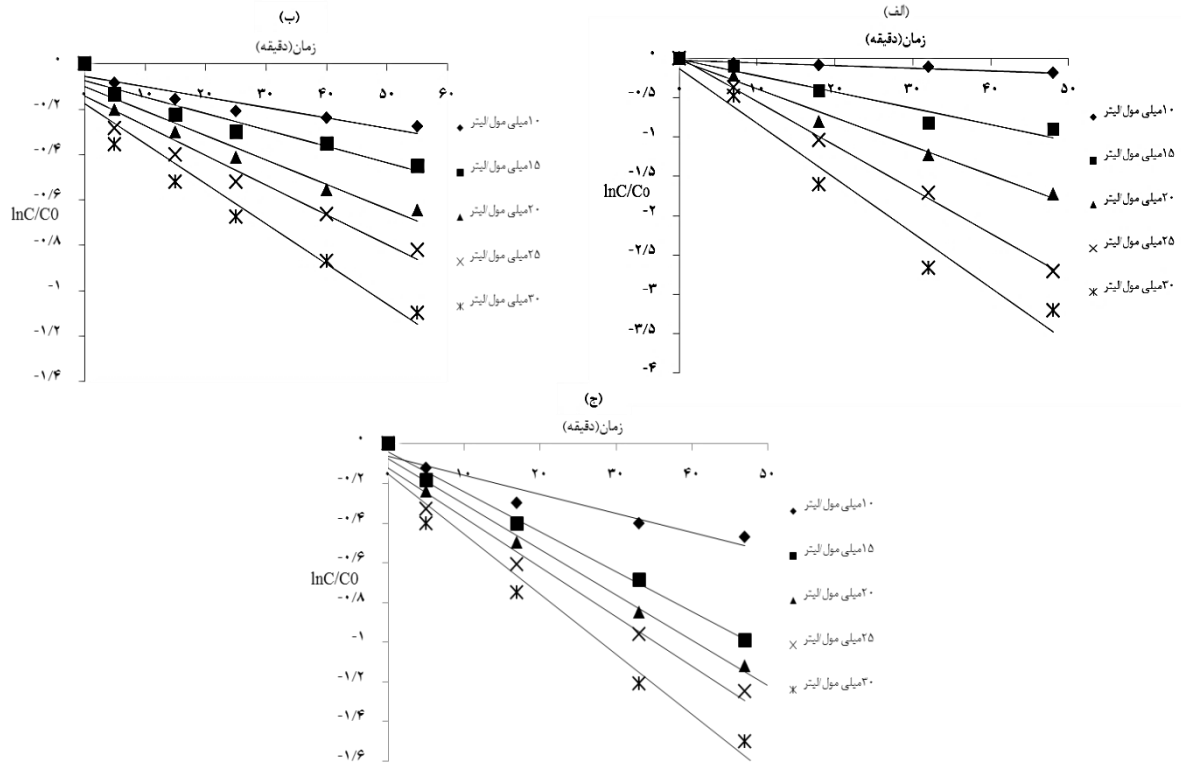
۱- انرژی فعال‌سازی (کیلوژول/مول)

۲- اعداد جدول به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد داده‌ها

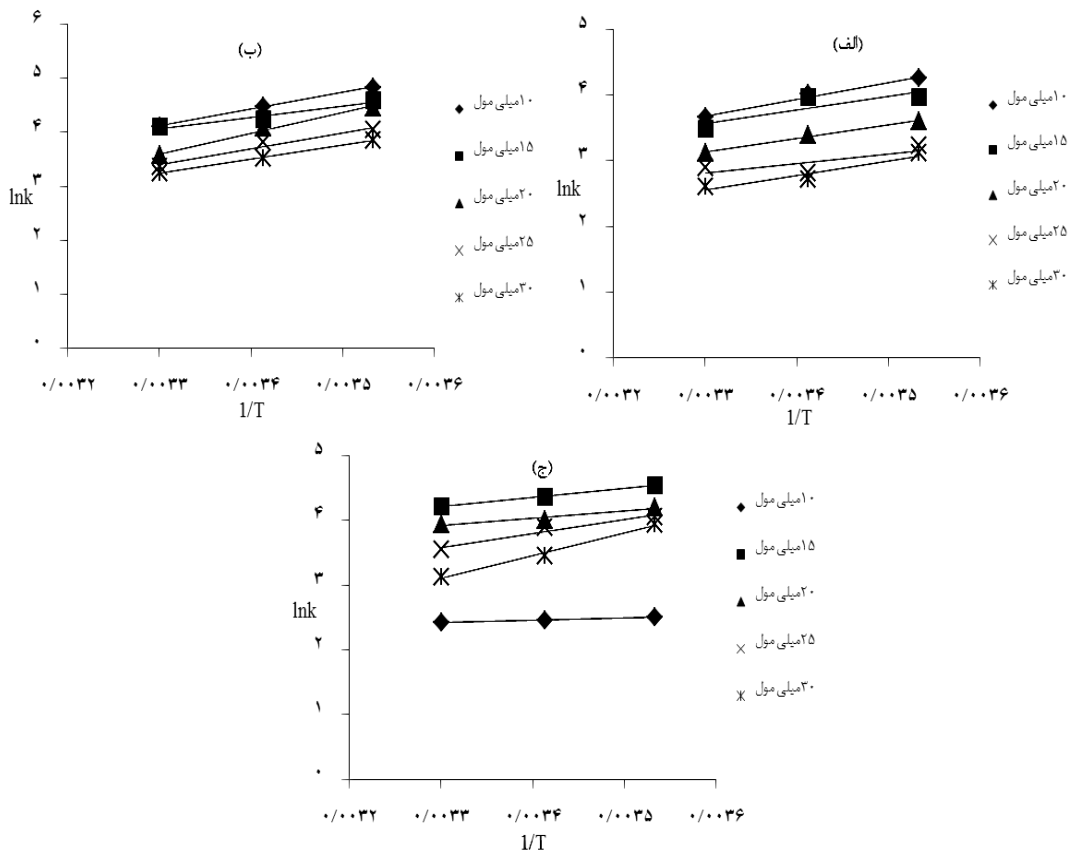
۳- ضریب دمایی

۴- میانگین دارای حروف مشترک بین گونه‌ها دارای اختلاف آماری معنی‌داری نیستند ($P > 0.05$)

مطالعه اثر همزمان دما و هیدروژن پراکسید بر پایداری آنتوسیانین‌های عصاره سه گونه زرشک



شکل ۱ - تخریب آنتوسیانین‌های عصاره سه گونه زرشک در سطوح مختلف غلظتی هیدروژن پراکسید و دمای ۲۰ درجه سانتی گراد. الف) زرشک زرافشانی ب) زرشک بی دانه ج) زرشک زالزالکی



شکل ۲ - نمودار آرنیوس عصاره سه گونه زرشک در سطوح مختلف غلظتی هیدروژن پراکسید. الف) زرشک زرافشانی ب) زرشک بی دانه ج) زرشک زالزالکی

بیشتری در زمینه شناسایی آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنلی این گونه‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

آزادی، ر. (۱۳۸۸). فلور ایران تیره زرشک. موسسه تحقیقات و جنگل‌ها و مراتع کشور.

بالندری، الف. و کافی، م. (۱۳۸۱). زرشک فناوری تولید و فرآوری. ناشر زبان و ادب مشهد، صفحات ۴۱-۱۸.

فرهادی چیتگر، م.، وریدی، م. ج.، وریدی، م. و شهیدی، ف. (۱۳۹۲). اثر دما و ماده جامد بر سینتیک تخریب آنتوسیانین‌های زرشک بی‌دانه. مجله پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، شماره ۲، صفحات ۵-۱.

Abalone, R., Cassinera, A., Gasto, N. A. & Lara, M. A. (2004). Some Physical Properties of Amaranth Seeds. *Biosystems Engineering*, 89, 109-117.

Ahrendt, L. (1961). *Berberis and Mahonia, a taxonomical revision*. Botanical Journal Linn Society, 57, 1-410.

Cemeroglu, B., Velioglu, S. & Isik, S. (1994). Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 59, 1216-1218.

Coulter, T. P. (1989). *Food: The chemistry of its components* (2nd ed. pp. 126-158). London: Royal Society of Chemistry.

De, A. K., Chaudhuri, B. & Bhattacharjee, S. (1999). A kinetic study of the oxidation of phenol, o-chlorophenol and catechol by hydrogen peroxide between 298 K and 333 K: The effect of pH, temperature and ratio of oxidant to substrate. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 74, 162-168.

Du, C.T., Wang, P. L. & Francis, F. J. (1975). Anthocyanins of pomegranate, *Punica granatum*. *Journal of Food Science*, 40, 417-418.

Hernandez, F., Melgarejo, P., Tom-Barber, F. A. & Art, F. (1999). Evolution of juice anthocyanins during ripening of selected pomegranate (*Punica granatum*) clones. *European Food Research and Technology*, 210, 39-42.

Johnson, R. L. & Toledo, R. T. (1975). Storage stability of 55 Brix orange juice concentrate aseptically packaged in plastic and glass containers. *Journal of Food Science*, 40, 433-434.

Ozkan و همکاران (۲۰۰۲) در غلظت ۲۷/۹۲-۹/۳۱ میلی‌مول/لیتر هیدروژن پراکسید و دمای ۱۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد انرژی فعال‌سازی و ضریب دمایی را برای آنتوسیانین‌های عصاره توت‌فرنگی ۳۹/۳-۴۶/۴ کیلوژول/مول و ۲/۲۲-۱/۵۹، برای عصاره آلبالو ۴۷/۷-۳۹/۷ کیلوژول/مول و ۲/۰۵-۱/۶۲ و برای عصاره انار ۵۱-۴۷/۷ کیلوژول/مول و ۲/۳۶-۱/۷۶ گزارش کردند. این نتایج نشان می‌دهد که برخلاف حساسیت بالای آنتوسیانین‌های گونه‌های زرشک به هیدروژن پراکسید، تخریب آنها در اثر این ماده در مقایسه با آنتوسیانین‌های عصاره‌های توت‌فرنگی، آلبالو و انار وابستگی کمتری به افزایش دما دارد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثرات سطوح غلظتی ۱۰-۳۰ میلی‌مول هیدروژن پراکسید و دمایی ۱۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد بر پایداری آنتوسیانین‌های عصاره سه گونه زرشک بومی ایران بررسی شد. نتایج نشان داد که تخریب آنتوسیانین‌ها در اثر هیدروژن پراکسید در هر سه گونه از معادله سینتیکی درجه اول پیروی می‌کند. با افزایش غلظت هیدروژن پراکسید و افزایش دما در هر سه گونه ثابت سرعت واکنش افزایش و زمان نیمه‌عمر کاهش یافت. در بین سه گونه آنتوسیانین‌های زرشک بی‌دانه پایداری بیشتری در مقابل هیدروژن پراکسید نشان دادند. تفاوت پایداری در بین سه گونه می‌تواند مربوط به تفاوت در نوع آنتوسیانین‌ها میزان و نوع ترکیبات فنلی و میزان اسید آسکوربیک سه گونه باشد. با توجه به حساسیت بالای گونه‌های زرشک به هیدروژن پراکسید فرایند اسپتیک در مورد فرآوری این عصاره باید با کنترل بیشتری در جهت به حداقل رساندن مقدار باقیمانده این ماده در سطوح در تماس با عصاره‌های زرشک انجام شود. از طرفی با توجه به وابستگی دمایی تخریب آنتوسیانین‌های گونه‌های زرشک به دما، نگهداری سرد در مورد این عصاره‌ها توصیه می‌شود. از آنجا که مطالعه جامعی درباره زرشک‌های بومی ایران به ویژه انواع وحشی آن صورت نگرفته است مطالعات بیشتری در زمینه پایداری آنتوسیانین‌های آن به منظور توسعه تکنولوژی تولید فراورده‌های جانبی این محصول ضروری به نظر می‌رسد. لذا جهت کاربرد بیشتر از این میوه‌های فراسودمند مطالعات

- Kunz, P. & Binnig, R. (1987). Aseptic technology. *Confructa*, 31, 126–132.
- Lee, J., Durst, R. W. & Wrolstad, R. E. (2002). Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: comparison of two pretreatments. *Journal of Food Science*, 67, 1660–1667.
- Ozkan, M., Yemenicioglu, A. & Cemeroglu, B. (2005). Degradation of various fruit juice anthocyanins by hydrogen peroxide. *Food Research International*, 38, 1015–1021
- Ozkan, M. (2002). Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid, *Journal of Food Chemistry*, 78, 499–504
- Ozkan, M., Yemenicioglu, A. C., Tak, B. & Cemeroglu, B. (2000). Effect of hydrogen peroxide on sour cheery anthocyanins. *Journal of Food Quality*, 23, 421–428.
- Sapers, G. M. & Simmons, G. F. (1998). Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*, 52, 48–52.
- Sondheimer, E. & Kertesz, Z. I. (1952). The kinetics of the oxidation of strawberry anthocyanin by hydrogen peroxide. *Food Research*, 17, 288–298.
- Sondheimer, E. & Kertesz, Z. I. (1953). Participation of ascorbic acid in the destruction of anthocyanin in strawberry juice and model systems. *Food Research*, 18, 475–479.
- TehraniFar, A. (2003). Barberry growing in Iran, *Acta Horticulture. (ISHS)*, 620, 193-195.
- Toledo, R. T. (1986). Postprocessing changes in aseptically packed beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34, 405–408.
- Von Elbe, J. H. & Schwartz, S. J. (1996). Colorants. In O. R. Fennema (Ed.), *Food chemistry*, 3rd ed New York: Marcel Dekker. pp. 651–722.