

بررسی رابطه میان شاخص قهوه ای شدن و میزان تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال در انجیر نیمه مرطوب

سارا انصاری^۱، ابراهیم حسینی^{۲*}، ندا مفتون آزاد^۳، عسگر فرحناکی^۴، غلامحسین اسدی^۲

^۱ دانشجوی دکتری دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران

^۲ دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران

^۳ استادیار پژوهش بخش تحقیقات فنی و مهندسی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس، زرقان، ایران

^۴ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۱۷

چکیده

۵-هیدروکسی متیل فورفورال به عنوان یک ترکیب حدواسط در واکنش میلارد است که می تواند به عنوان شاخص کیفیت در محصولات غذایی حاوی کربوهیدرات (نظیر آبمیوه، عسل، شیر، قهوه و میوه های خشک) معرفی شود. تشکیل این ترکیب آلدهیدی در غذا بسته به شرایط فرایند و نگهداری متغیر است. در این پژوهش تاثیر دما و زمان نگهداری بر شاخص قهوه ای شدن و تشکیل HMF در انجیر نیمه مرطوب تیمار یافته با کلرید کلسیم ۱/۵٪، متا بی سولفیت ppm ۵۰۰، اسید سیتریک ۱٪ و شاهد نگهداری شده در دماهای ۴، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد مطالعه و رابطه میان شاخص قهوه ای شدن و میزان HMF تعیین گردید. میزان شاخص قهوه ای شدن با اندازه گیری میزان جذب نمونه نمونه در ۴۲۰ نانومتر و هیدروکسی متیل فورفورال با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تعیین گردید. نتایج حاکی از آن است که تشکیل HMF و شاخص قهوه ای شدن در کلیه نمونه ها از سینتیک درجه یک تبعیت می کند. در تمامی نمونه ها با افزایش دما سرعت دو فاکتور فوق افزایش یافته و یک رابطه لگاریتمی بین آنها برقرار است. نهایتاً برازش بسیار خوبی بین شاخص قهوه ای شدن و تشکیل HMF انجیر کنترل و تیمار یافته در تمامی دماهای مورد بررسی تبیین گردید.

واژه های کلیدی: انجیر نیمه مرطوب، ۵-هیدروکسی متیل فورفورال، شاخص قهوه ای شدن، سینتیک

۱- مقدمه

میوه انجیر گیاهی از تیره توت است که در نواحی گرمسیری، نیمه گرمسیری و در بسیاری از مناطق معتدله کشت می شود. بیشترین سطح زیر کشت انجیر در نواحی حوزه مدیترانه، دریای سرخ و خلیج فارس می باشد که مقدار زیادی از انجیر خود را بصورت خشک یا خمیر انجیر صادر می کنند. سابقه آن به چهار هزار سال قبل از میلاد مسیح در کشور مصر می رسد. ذکر نام آن در کتاب های آسمانی نظیر انجیل و دیگر کتب مذهبی علاوه بر اثبات قدمت کشت آن در قدیم، اهمیت و ارزش این محصول را آشکار می سازد (۲). انجیر از نظر انرژی و ارزش غذایی دارای اهمیت ویژه ای است. حدود ۶۵-۷۰٪ قند دارد و بنابراین به عنوان یک میوه انرژی زا محسوب می شود (هر ۱۰۰ گرم انجیر خشک حدود ۲۷۰ کالری انرژی دارد). بعلاوه دارای مقادیر قابل ملاحظه ای ویتامین (A, B₁, B₂, C) و املاح (نظیر آهن، کلسیم، منیزیم و مس) و فیبر تغذیه ای است، بطوری که گفته می شود تقریباً از نظر میزان قند و ویتامین با خرما برابری می کند (۵ و ۱۲). براساس آمار FAO، تولید جهانی انجیر در سال ۲۰۱۰ میلادی ۴۷۳،۰۶۲ و ۱ تن بوده است که ایران با داشتن ۱۸۹۵۰ هکتار سطح زیر کشت و ۷۶۴۱۴ تن تولید سالیانه پس از ترکیه، مصر و الجزایر در مقام چهارم قرار دارد. مطابق با گزارشات FAO در سال ۲۰۱۰ ایران با صادرات بیش از ۵۰۰۰ تن در سال انجیر خشک، پس از ترکیه (۵۸۰۰۰ تن) و آمریکا (۶۰۰۰ تن) مقام سوم صادرات جهانی انجیر خشک را بخود اختصاص داده است (۱۳). گرچه در ایران کشت انجیر در اکثر استان های کشور رواج دارد، ولی در میان آنها استان فارس با دارا بودن ۳۸ هزار هکتار سطح زیر کشت و تولید سالانه تقریباً ۳۰ هزار تن انجیر خشک مقام نخست را در کشور دارا می باشد. در میان شهرستان های استان فارس، استهبان با داشتن ۲۰۰۰۰ هکتار سطح زیر کشت و تولید سالانه ۲۰۰۰۰ تن انجیر خشک اولین و مهم ترین منطقه انجیر کاری در ایران می باشد (۲، ۱ و ۳).

با توجه به محتوای رطوبتی و مقادیر بالای قند این محصول یکی از فسادپذیرترین میوه ها حتی در شرایط سردخانه ای است که این مساله حاکی از الزام کاربرد روش های نگهداری جهت افزایش ماندگاری این محصول است. خشک کردن متداول ترین روش نگهداری انجیر است. این فرایند با وجود افزایش پایداری میکروبی و فیزیکیوشیمیایی محصول باعث ایجاد تغییرات

نامطلوبی نظیر رنگ نامناسب و سفتی بافت می گردد که کاهش پذیرش مصرف کننده را به همراه دارد (۱۱).

انجیر نیمه مرطوب (پرسی) محصول جدیدی است که از انجیر خشک بدست می آید و در طبقه بندی مواد غذایی جزء محصولات غذایی با رطوبت متوسط^۱ طبقه بندی می شود. افزایش محتوای رطوبتی انجیر خشک گرچه موجب افزایش بازارپسندی این محصول می شود، اما در عین حال بدلیل افزایش *aw* می تواند دچار فساد میکروبی (قارچی)، شیمیایی و فیزیکی شود و در واقع این مساله از مشکلات عمده میوه های با رطوبت متوسط می باشد (۲۰). واکنش های شیمیایی اصلی در میوه های با رطوبت متوسط واکنش های قهوه ای شدن غیرآنزیمی و اکسیداسیون لیپیدها هستند که البته با توجه به مقدار کم لیپید در میوه ها، قهوه ای شدن غیر آنزیمی اصلی ترین واکنش تخریبی در میوه های با رطوبت متوسط است (۱۱).

قهوه ای شدن غیر آنزیمی یکی از مهم ترین واکنش هایی است که ممکن است طی آماده سازی یا فرآیند کردن مواد غذایی (بوژه در محصولات حرارت دیده و ذخیره شده) رخ دهد (۱۵ و ۲۴). واکنش های قهوه ای شدن غیر آنزیمی به سه دسته میلارد، کاراملیزاسیون و اکسیداسیون اسید اسکوربیک تقسیم بندی می شوند. کاراملیزاسیون طی حرارت دهی قندها در دمای بالا و تجزیه اسکوربیک اسید از طریق اکسیداسیون آن به دهیدرواسکوربیک اسید و در ادامه واکنش آن با اسیدآمینها می آزاد از طریق واکنش میلارد می باشد (۱۹). واکنش میلارد میان گروه های آمینی آزاد پروتئین ها و قندهای احیا کننده و یا ترکیبات کربونیلی (مانند آلدهیدها و کتون ها) رخ می دهد (۱۴ و ۲۲). وقوع این واکنش ممکن است از لحاظ تشکیل رنگ، ایجاد آروما و طعم در محصولات حرارت دیده و خاصیت آنتی اکسیدانی آنها (بازدارنده های طبیعی از اکسیداسیون لیپیدها) در طول فرایند محصول غذایی مفید باشد (۱۵). این در حالی است که وقوع آن در محصولاتی نظیر غذاهای خشک، نیمه مرطوب و کنسانتره ها نامطلوب است. بعلاوه واکنش میلارد موجب کاهش ارزش تغذیه ای محصول نیز می شود (۲۱). وقوع واکنش میلارد از طریق اندازه گیری کاهش میزان اسیدآمینها می آزاد در طول

¹ Intermediate Moisture Food (IMF)

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد اولیه

انجیر خشک وارسته سبز از مرکز تحقیقات انجیر استهبان خریداری شد و پس از بسته بندی در کیسه های پلی اتیلنی تا زمان آزمون در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. کلیه حلال ها و مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

۲-۲- آماده سازی نمونه

جهت آماده سازی انجیر نیمه مرطوب، انجیر خشک با نسبت وزنی ۱ به ۳ در یک بن ماری مجهز به سیستم سرکولاسیون (°C ۱ ±) در محلول کلرید کلسیم ۱/۵٪، متابی سولفیت ۵۰۰ ppm، اسید سیتریک ۱٪ و آب (کنترل) با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد برای مدت ۴ دقیقه غوطه ور گردید. سپس نمونه های فوق در کیسه های پلاستیکی با دوخت حرارتی بسته بندی و در چهار سطح دمایی ۴، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد برای مدت ۶ ماه نگهداری گردیدند. در طول این مدت در فواصل زمانی معین از انجیر نیمه مرطوب نمونه برداری و پس از آسیاب کردن آزمون های زیر بر روی آن انجام شد.

۲-۳- اندازه گیری شاخص قهوه ای شدن

تخمین شاخص قهوه ای شدن نمونه ها از طریق روش اسپکتروفتومتری بر پایه روش ليو و همکاران (۲۰۰۳) انجام شد (۱۸). برای این منظور جذب نوری نمونه ها در اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر با بکارگیری سل یک سانتی متری اندازه گیری شد. بدین صورت که یک گرم از نمونه آسیاب شده با مخلوط آب و متانول به نسبت حجمی ۱:۳ مخلوط شده و سپس در سانتریفیوژ با دور ۸۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی گردید. دانسیته نوری^۳ محلول شفاف رویی به عنوان شاخصی از میزان قهوه ای شدن در اسپکتروفتومتر (مدل ۶۴۰۵، ساخت جنوی^۴ انگلستان) خوانده شد.

زمان و پیدایش ترکیبات حدواسط قندی خاص نظیر ۵- هیدروکسی متیل فورفورال بررسی می گردد (۱۵).

۵- هیدروکسی متیل فورفورال یک ترکیب آلدهیدی است که شاخص کیفیت در بسیاری از غذاهای حاوی کربوهیدرات و اسیدآمین/پروتئین می باشد (۱۰). این ترکیب در محصولات غذایی تازه و تیمار نشده وجود ندارد، اما به سرعت طی تیمار حرارتی و نیز نگهداری محصولات غنی از کربوهیدرات نظیر میوه های فرایند شده، سبزیجات خشک، قهوه، عسل، شیر و محصولات غله ای (غلات صبحانه و نان پخته) تشکیل می شود. میزان هیدروکسی متیل فورفورال در محصولات غذایی مختلف متفاوت است، بطوری که در برخی میوه های خشک و محصولات کارامل به بیش از یک گرم بر کیلوگرم می رسد. یکی دیگر از منابع هیدروکسی متیل فورفورال در محصولات غذایی مربوط به اجزای استفاده شده در فرمولاسیون یک محصول نظیر افزودن محلول های کارامل، عسل و یا دیگر اجزای شدیداً حرارت دیده است. اهمیت اندازه گیری هیدروکسی متیل فورفورال بسته به نوع محصول غذایی متفاوت است: به عنوان شاخص تقلب (نظیر عسل) و یا تیمار حرارتی بیش از حد (نظیر شیر، رب گوجه و آبمیوه) و شاخص کیفیت رسیدگی^۱ (مانند سرکه) (۲۸). تحقیقات نشان داده که غلظت بالای ۵- هیدروکسی متیل فورفورال سیتوتوکسیک^۲ بوده و موجب تحریک چشم، مجاری تنفسی، پوست و غشاهای مخاطی می گردد. مقدار LD50 خوراکی آن نیز به ۳/۱ گرم به ازای هر کیلوگرم توده بدنی در موش می رسد. هرچند داده های حاصل از مطالعه اپیدمیولوژیکی آن در زمینه خطر ابتلا به سرطان در انسان ها موجود نیست (۲۳).

تحقیقات کمی در زمینه قهوه ای شدن در انجیر نیمه مرطوب صورت گرفته است. هدف از انجام تحقیق فوق بررسی تاثیر افزودنی های مختلف بر تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال و شاخص قهوه ای شدن و بررسی سینتیک واکنش های فوق به منظور پیش بینی تغییرات کیفی می باشد.

³ Optical density (OD)

⁴ Gen-way

¹ Aging

² Cytotoxic

$$A/A_0 = b * \exp(K \times t) \quad \text{(معادله ۲)}$$

$$1/A = 1/A_0 + K \times t \quad \text{(معادله ۳)}$$

در معادلات فوق A و A_0 بترتیب برابر مقادیر شاخص ها در زمان t و صفر، K ثابت سرعت سینتیک درجه صفر (در معادله ۱) و درجه یک (در معادله ۲) و درجه دو (در معادله ۳)، b ثابت مدل و t زمان است.

وابستگی دمایی تشکیل HMF و شاخص قهوه ای شدن با توجه به معادله آرنیوس (معادله ۴) محاسبه شد (۲۷).

$$K = K_0 * \exp(-E_a/RT) \quad \text{(معادله ۴)}$$

که k و k_0 بترتیب ثابت سرعت واکنش در زمان t و صفر، E_a انرژی فعالسازی (kJ/mol)، R ثابت گاز (j/mol.k) $۸/۳۲۴۳$ و T دما (درجه کلونین) می باشد.

۲-۶- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل نتایج، توسط نرم افزار آماری SPSS در قالب یک طرح آماری کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل در سطح اطمینان ۵٪ انجام شد و تفاوت بین میانگینها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفت. کلیه آزمایشات در سه تکرار انجام گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی روند تغییرات تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال و شاخص قهوه ای شدن

هیدروکسی متیل فورفورال به عنوان یک ترکیب حدواسط در مرحله آغازین واکنش میلارد و نیز دهیدراسیون هگزوزها در شرایط اسیدی ملایم (کاراملیزاسیون) در طول فرایند حرارتی اعمال شده در غذا است. علاوه بر دو واکنش فوق تجزیه اسکوربیک اسید نیز در تشکیل این ترکیب نقش دارد (۲۸). در تحقیق فوق میزان اسکوربیک اسید در انجیر نیمه مرطوب کنترل و بسیار قهوه ای بترتیب برابر $۰/۰۱۷$ و $۰/۰۱۹$ میلی گرم در ۱۰۰ گرم اندازه گیری شد. با توجه به عدم تغییر میزان اسکوربیک اسید در دو نمونه فوق، همچنین پایین بودن دمای نگهداری ($۴۰ <$) امکان تجزیه اسکوربیک اسید و کاراملیزاسیون وجود ندارد (۳۲). بنابراین تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال در انجیر نیمه مرطوب در نتیجه وقوع واکنش میلارد بین اسیدهای آمینه و قندهای احیا کننده است. تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال در

۲-۴- اندازه گیری ۵- هیدروکسی متیل فورفورال

این پارامتر با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^۱ (مدل 1200 infinity ، ساخت شرکت Agilent آلمان) و بر طبق روش سوریا و همکاران (۲۰۰۹) اندازه گیری گردید (۲۹). اساس کار بر پایه جداسازی هیدروکسی متیل فورفورال به عنوان شاخص قهوه ای شدن توسط ستون کروماتوگرافی agilent Zorbax Eclipse XDB-C18- که ستونی غیرقطبی و مناسب جهت جداسازی ماده موردنظر بود - با طول ۱۵۰ mm ، قطر داخلی $۴/۵$ mm و اندازه ذرات $۵ \mu m$ در دمای ۲۰ درجه صورت گرفت. فاز متحرک مخلوط ایزوکراتیک استونیتریل و آب (با گرید HPLC) به نسبت حجمی 15:85 با دبی (ml/min) ۱ بود. قبل از تزریق نمونه ها، نمونه استاندارد هیدروکسی متیل فورفورال با غلظت 1ppm برای تعیین محل و زمان خروج هیدروکسی متیل فورفورال به دستگاه تزریق شد. جهت آماده سازی نمونه به ۱ گرم انجیر آسیاب شده، ۵ میلی لیتر آب دیونیزه اضافه و برای ۱ دقیقه به شدت هموژن گردید. سپس ۲ میلی لیتر از هر کدام از محلول های شفاف کننده کارز I و II به منظور ترسیب چربی، پروتئین و کاروتینوئیدها اضافه و پس از هموژن کردن با آب دیونیزه به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد و مجدداً هموژن گردید. محلول فوق به دستگاه سانتریفیوژ (مدل 16PK-2 ، ساخت آلمان) با دور ۵۰۰۰ rpm وارد و برای ۵ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. محلول رویی پس از عبور از فیلتر میلی پور با قطر منافذ $۰/۴۵ \mu m$ آماده تزریق به ستون گردید. نمونه ها و محلول استاندارد توسط اتوسمپلر در حجم $۲۰ \mu l$ به ستون HPLC با مشخصات بالا مجهز به آشکارساز DAD^۲ تزریق و در طول موج ۲۸۵ نانومتر ۵- هیدروکسی متیل فورفورال شناسایی و میزان آن تعیین گردید.

۲-۵- آنالیز داده ها

داده های حاصل با استفاده از معادله سینتیک درجه صفر (معادله ۱) و یک (معادله ۲) بررسی شد و ثابت های سرعت سینتیک با رسم رگرسیون شاخص های مختلف در برابر زمان تعیین گردید (۲۷).

$$A = A_0 + K \times t \quad \text{(معادله ۱)}$$

^۱ High performance liquid chromatography (HPLC)

^۲ Diode Array detector

نتایج حاصل از انطباق داده ها در معادله ۲ و پارامترهای سینتیکی محاسبه شده نظیر ثابت سرعت واکنش (k) و ثابت مدل (b) تشکیل HMF و شاخص قهوه ای شدن انجیر کنترل و تیمار یافته با اسید سیتریک، کلرید کلسیم و متابی سولفیت در دماهای ۴ تا ۳۵ درجه سانتی گراد به همراه ضرایب تبیین آنها (R^2) در جدول ۱ آمده است.

همان طور که ملاحظه می شود در هر تیمار با افزایش دمای نگهداری ثابت سرعت واکنش تشکیل HMF (K_1) و شاخص قهوه ای شدن (K_2) بصورت معنی داری افزایش می یابد که حاکی از تاثیر مثبت دما بر افزایش هر دو فاکتور فوق است. بعلاوه تمامی ضرایب تبیین (R^2) بالاتر از ۷۵٪ است که این نشان دهنده آن است که تشکیل HMF و شاخص قهوه ای شدن در دماهای مورد بررسی هر دو از سینتیک درجه یک تبعیت می کند. این نتایج منطبق با تحقیقات توریبو و لوزانو (۱۹۸۴)، جانسون و همکاران (۱۹۹۵) و وانگ و همکاران (۲۰۰۵) است (۱۷، ۳۱ و ۳۲).

وابستگی دمایی واکنش میلارد در انجیر نیمه مرطوب با توجه به معادله آرنیوس (معادله ۴) محاسبه گردید. میزان انرژی فعال سازی و ضرایب تبیین نمونه ها (R^2) برای تشکیل HMF و شاخص قهوه ای شدن در کل محدوده دمایی ۴ تا ۳۵ درجه سانتی گراد در جدول ۲ آمده است. ضرایب تبیین بالاتر از ۹۰٪ برای هر دو فاکتور نشان دهنده وابستگی دمایی شدید هر دو فاکتور شاخص قهوه ای شدن و تشکیل HMF است. همان طور که در جدول ۲ نشان داده شده مقدار انرژی فعال سازی برای شاخص قهوه ای شدن و تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال در نمونه های انجیر کنترل و تیمار یافته بترتیب در محدوده ۷۷/۲-۶۰/۱ و ۷۶/۲-۵۴/۹ کیلوژول بر مول می باشد. مقدار انرژی فعال سازی برای تشکیل رنگدانه قهوه ای (جذب ۴۲۰) قابل تطبیق با نتایج اوزهان و همکاران (۲۰۱۰) در میوه خرنوب^۲ نگهداری شده در محدوده دمایی ۵ تا ۴۵ درجه سانتی گراد (برابر ۸۶/۶۲ کیلوژول بر مول)، ایبراز و همکاران (۲۰۰۰) در آب سیب حرارت دیده در ۸۰ تا ۹۸ درجه سانتی گراد (۷۵/۹ کیلوژول بر مول) و کاراباسا گیریت و ایبراز ریاس (۲۰۰۰) در سیستم مدل شده دارای گلوکز و آسپارتیک/گلوتامیک اسید و یا آسپاراژین

محصولات غذایی بستگی به مدت زمان، دمای فرایند و نگهداری دارد [۱۹]. شکل ۱ نشان دهنده تاثیر زمان و دمای نگهداری بر میزان تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال و شاخص قهوه ای شدن در انجیر نیمه مرطوب است. از آنالیز واریانس (One-way ANOVA) نیز جهت بررسی اثر خالص دما بر تشکیل HMF و شاخص قهوه ای شدن طی ۲۰۰ روز نگهداری در دمای ۴، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد استفاده گردید. نتایج حاکی از آن است که زمان نگهداری اثر قابل ملاحظه ای بر تشکیل HMF و شاخص قهوه ای شدن دارد، بطوری که در یک دمای معین (بویژه دماهای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد) با گذشت زمان میزان HMF و شاخص قهوه ای شدن افزایش می یابد. این افزایش در کلیه تیمارهای کنترل، اسید سیتریک، کلرید کلسیم و متابی سولفیت معنی دار است. در مقایسه تیمارهای مختلف در یک دما و زمان نگهداری ثابت نیز مشخص شد که هیچ اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف و کنترل وجود ندارد ($p < 0.05$).

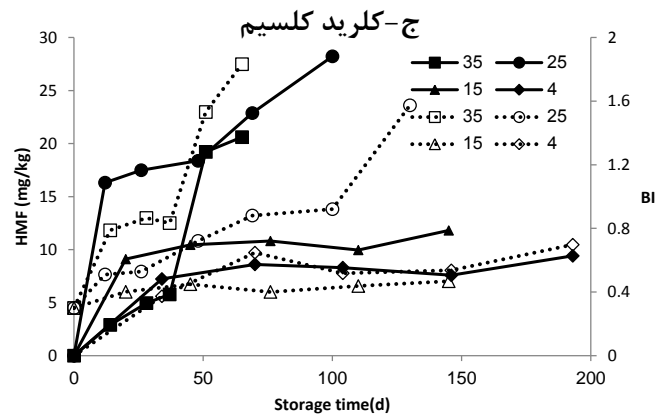
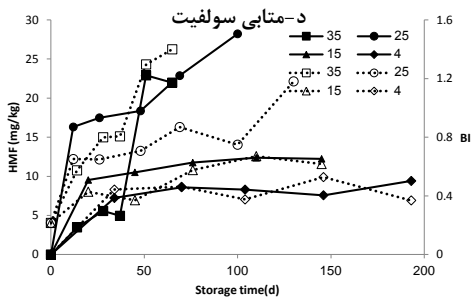
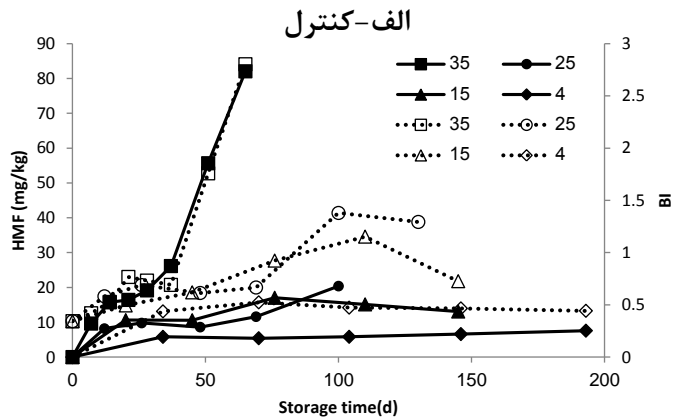
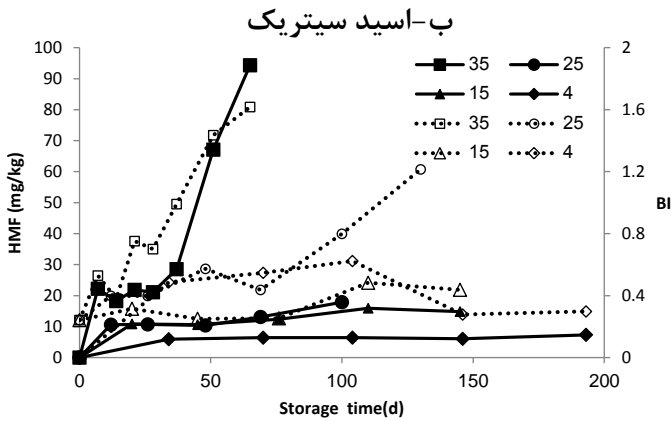
مطالعات قبلی در زمینه مکانیزم واکنش میلارد نشان داده که این واکنش از مدل های سینتیکی درجه صفر، درجه یک و سهمی شکل^۱ تبعیت می کند. در سیستم های مدل شده پترسون و همکاران (۱۹۹۴) و استمپ و لوزا (۱۹۸۳) گزارش کردند که قهوه ای شدن میلارد منطبق بر سینتیک درجه صفر است (۲۶ و ۳۰)، در حالی که سروتی و همکاران (۱۹۸۵) واکنش میلارد درجه یک را در سیستم مدل شده گلوکز-لایسین گزارش کردند (۸). همچنین توریبو و لوزانو (۱۹۸۴) نشان دادند که این واکنش در کنسانتره آب سیب طی نگهداری از سینتیک درجه یک تبعیت می کند (۳۱). مدل سینتیکی سهمی شکل نیز در واکنش میلارد در کنسانتره آب هلو توسط بیدو و همکاران (۲۰۰۱) گزارش گردید (۴). در این تحقیق نیز که قهوه ای شدن غیر آنزیمی بصورت واکنش میلارد در نظر گرفته شده، در ابتدا از معادلات سینتیکی درجه صفر (معادله ۱)، درجه یک (معادله ۲) و درجه دو (معادله ۳) برای انطباق داده های آزمایشی شکل ۱ (a) تا (d) استفاده گردید که در مقایسه مدل های مختلف معادله سینتیکی درجه یک بیشترین انطباق را با داده ها نشان داد (نتایج نشان داده نشده).

² Carob pekmez

¹ Parabolic

شده که با نتایج این تحقیق تطابق دارد (۷، ۹، ۱۶ و ۲۵). اختلاف معنی داری بین انرژی فعالسازی هر دو فاکتور در نمونه شاهد با افزودنی های متابی سولفیت و کلرید کلسیم وجود دارد، اما بین تیمارهای کلرید کلسیم و متابی سولفیت با یکدیگر و اسید

حرارت دیده در محدوده دمایی ۸۵ تا ۱۰۰ درجه سانتی گراد در زمان های مختلف (۱۷۸-۱۱۱ کیلوژول بر مول) می باشد (۷، ۱۶ و ۲۵). در رابطه با تجمع HMF نیز انرژی فعالسازی در آب آناناس، آب سیب، خرنوب و محلول گلوکز بترتیب برابر ۲۹/۴۰۱، ۹۱/۳، ۱۱۴/۸۷ و ۱۶۹-۱۲۴ کیلوژول بر مول گزارش



شکل ۱- تشکیل HMF و شاخص قهوه ای شدن در انجیر نیمه مرطوب (الف) کنترل و تیمار یافته با (ب) اسید سیتریک ۱٪، (ج) کلرید کلسیم ۱/۵٪، (د) متابی سولفیت ۵۰۰ ppm، نگهداری شده برای ۲۰۰ روز در دمای ۴، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد (خطوط ممتد تشکیل HMF و خطوط نقطه چین شاخص قهوه ای شدن را نشان می دهند).

نشان دهنده آن است که هر دو این ترکیب در مقایسه با نمونه کنترل بر واکنش میلارد موثر بوده، اما اثر آنها در مقایسه با یکدیگر تفاوت چندانی ندارد. همین مساله در فاکتور شاخص قهوه ای شدن برای تیمار کلرید کلسیم مشاهده می شود.

سیتریک با سایر تیمارها در تشکیل HMF و میان اسید سیتریک و متابی سولفیت با سایر تیمارها در شاخص قهوه ای شدن اختلافی مشاهده نشد. انرژی فعالسازی را می توان به عنوان حداقل انرژی تعبیه کرد که مولکول ها باید قبل از انجام واکنش داشته باشند. مقادیر پایین انرژی فعالسازی برای نمونه کنترل در هر دو متغیر HMF و شاخص قهوه ای شدن در مقایسه با تیمارهای افزودنی حاکی از وقوع راحت تر واکنش میلارد در این نمونه هاست. نزدیک بودن مقادیر HMF در هر دو تیمار کلرید کلسیم و متابی سولفیت و بیشتر بودن آن از نمونه کنترل

۲-۳- رابطه میان هیدروکسی متیل فورفورال و شاخص قهوه ای شدن

همانطور که در شکل ۲ (a تا d) مشاهده می شود، یک رابطه رگرسیون خطی میان میزان HMF و شاخص قهوه ای شدن در

جدول ۱- مقادیر ثابت سرعت واکنش و ضرایب تبیین برای تشکیل HMF و شاخص قهوه ای شدن (BI) انجیر های نیمه مرطوب در

دماهای مختلف

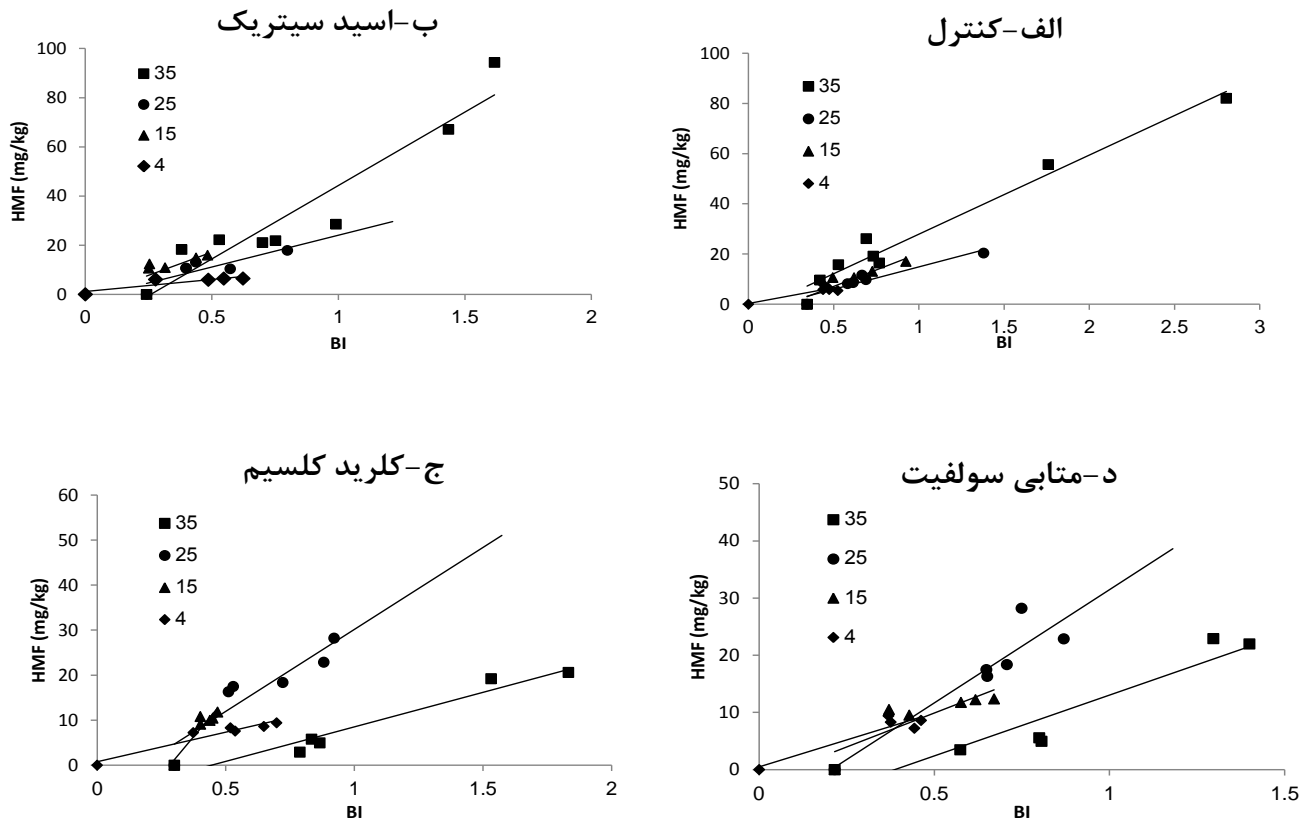
BI		HMF		دما (°C)	نمونه
R ²	K ₂	R ²	K ₁		
۰/۹۴۲	۰/۰۳۱۱±۰/۰۰۰۴ ^a	۰/۹۰۲	۰/۰۳۰۳±۰/۰۰۱۱ ^a	۳۵	کنترل
۰/۸۶۰	۰/۰۰۹۹±۰/۰۰۰۷ ^b	۰/۸۰۵	۰/۰۰۹۷±۰/۰۰۰۴ ^b	۲۵	
۰/۶۸۹	۰/۰۰۶۲±۰/۰۰۰۳ ^c	۰/۶۷۷	۰/۰۰۳۱±۰/۰۰۱۳ ^c	۱۵	
۰/۶۲۴	۰/۰۰۰۶±۰/۰۰۰۴ ^d	۰/۸۷۲	۰/۰۰۲۰±۰/۰۰۱۷ ^c	۴	
۰/۹۰۳	۰/۰۲۷۴±۰/۰۰۱۴ ^a	۰/۸۶۷	۰/۰۲۹۲±۰/۰۰۰۶ ^a	۳۵	اسید سیتریک
۰/۹۰۷	۰/۰۱۱۰±۰/۰۰۱۴ ^b	۰/۸۴۱	۰/۰۰۶۲±۰/۰۰۰۴ ^b	۲۵	
۰/۶۱۳	۰/۰۰۴۳±۰/۰۰۱۰ ^c	۰/۸۵۹	۰/۰۰۳۶±۰/۰۰۰۶ ^c	۱۵	
۰/۹۷۱	۰/۰۰۲۴±۰/۰۰۲۵ ^c	۰/۸۵۹	۰/۰۰۱۵±۰/۰۰۰۵ ^d	۴	
۰/۹۲۸	۰/۰۲۷۵±۰/۰۰۳۵ ^a	۰/۹۲۸	۰/۰۴۲۷±۰/۰۰۲۳ ^a	۳۵	کلرید کلسیم
۰/۹۰۹	۰/۰۱۰۸±۰/۰۰۱۲ ^b	۰/۹۷۸	۰/۰۰۶۵±۰/۰۰۰۵ ^b	۲۵	
۰/۸۰۲	۰/۰۰۳۱±۰/۰۰۱۲ ^c	۰/۷۹۲	۰/۰۰۱۹±۰/۰۰۰۷ ^c	۱۵	
۰/۷۸۴	۰/۰۰۳۵±۰/۰۰۱۳ ^c	۰/۷۷۴	۰/۰۰۱۵±۰/۰۰۰۲ ^c	۴	
۰/۸۹۴	۰/۰۲۷۸±۰/۰۰۱۹ ^a	۰/۹۱۶	۰/۰۴۰۸±۰/۰۰۱۳ ^a	۳۵	متابی سولفیت
۰/۷۹۴	۰/۰۰۹۷±۰/۰۰۱۱ ^b	۰/۹۶۳	۰/۰۰۶۵±۰/۰۰۰۵ ^b	۲۵	
۰/۷۱۶	۰/۰۰۶۳±۰/۰۰۰۷ ^c	۰/۸۸۱	۰/۰۰۲۲±۰/۰۰۰۳ ^c	۱۵	
۰/۸۶۸	۰/۰۰۱۷±۰/۰۰۱۵ ^d	۰/۶۱۶	۰/۰۰۱۶±۰/۰۰۰۵ ^c	۴	

- کلیه مقادیر متوسط سه تکرار هستند.
- در هر گروه از نمونه ها میانگین های دارای حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ دارند.
- K: ثابت سرعت واکنش و R²: ضریب تبیین می باشد.

جدول ۲- مقادیر انرژی فعالسازی، ثابت ویژه واکنش و ضرایب تبیین تشکیل HMF و شاخص قهوه ای شدن انجیر های نیمه مرطوب

BI			HMF			نمونه
R ²	A	Ea (kJ/mol)	R ²	A	Ea (kJ/mol)	
۰/۹۱۰	۳/۲۷۵ × ۱۰ ^{-۸} ^a	۶۰/۱۲۲ ± ۴/۵۵۶ ^b	۰/۹۷۲	۱/۱۹۳ × ۱۰ ^{-۸} ^a	۵۴/۹۰۵ ± ۵/۹۳۰ ^b	کنترل
۰/۹۹۸	۹/۵۵۲ × ۱۰ ^{-۹} ^a	۶۸/۵۳۹ ± ۱۳/۱۰۷ ^{ab}	۰/۹۶۵	۲/۱۳۱ × ۱۰ ^{-۱۰} ^a	۶۴/۸۳۴ ± ۷/۴۳۳ ^{ab}	اسید سیتریک
۰/۸۷۱	۳/۳۹۹ × ۱۰ ^{-۱۱} ^a	۷۷/۱۸۴ ± ۱/۱۹۷ ^a	۰/۹۷۵	۲/۵۹۴ × ۱۰ ^{-۱۱} ^a	۷۶/۱۹۳ ± ۱/۶۶۵ ^a	کلرید کلسیم
۰/۹۳۷	۲/۴۸۰ × ۱۰ ^{-۱۰} ^a	۷۰/۸۳۰ ± ۶/۰۳۰ ^{ab}	۰/۹۷۵	۱/۷۲۵ × ۱۰ ^{-۱۲} ^a	۷۴/۰۰۰ ± ۸/۹۲۵ ^a	متابی سولفیت

- کلیه مقادیر متوسط سه تکرار هستند.
- در هر ستون میانگین های دارای حروف متفاوت اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ دارند.
- Ea: ثابت سرعت واکنش، A: ثابت ویژه واکنش و R²: ضریب تبیین می باشد.



شکل ۲- رابطه میان شاخص قهوه ای شدن و تشکیل HMF در انجیر نیمه مرطوب (الف) کنترل و تیمار یافته با ب) اسید سیتریک (۱٪، ج) کلرید کلسیم (۱/۵٪، د) متابی سولفیت ۵۰۰ ppm.

جدول ۳- رابطه میان شاخص قهوه ای شدن و تشکیل HMF در انجیرهای نیمه مرطوب در دماهای مختلف

R ²	معادله	نمونه	دما (°C)
۰/۹۶۰	$y = 31.541x - 3.609$	کنترل	۳۵
۰/۹۰۱	$y = 59.714x - 15.434$	اسید سیتریک	
۰/۹۴۹	$y = 15.317x - 6.792$	کلرید کلسیم	
۰/۸۹۵	$y = 21.269x - 8.233$	متابی سولفیت	۲۵
۰/۹۰۷	$y = 17.882x - 2.980$	کنترل	
۰/۷۰۷	$y = 25.837x - 1.807$	اسید سیتریک	
۰/۸۴۵	$y = 36.388x - 6.217$	کلرید کلسیم	۱۵
۰/۸۶۶	$y = 39.592x - 8.132$	متابی سولفیت	
۰/۸۵۱	$y = 16.953x - 0.961$	کنترل	
۰/۴۷۷	$y = 37.44x - 1.594$	اسید سیتریک	۴
۰/۸۷۵	$y = 67.866x - 19.115$	کلرید کلسیم	
۰/۷۵۱	$y = 23.752x - 1.995$	متابی سولفیت	
۰/۸۴۳	$y = 12.623x + 0.276$	کنترل	۴
۰/۷۸۲	$y = 9.796x + 1.179$	اسید سیتریک	
۰/۹۲۷	$y = 13.112x + 0.794$	کلرید کلسیم	
۰/۸۷۱	$y = 0.043x + 0.027$	متابی سولفیت	

۵- منابع

- ۱- جلیلی، ح. ۱۳۸۰. روش بهینه سازی تولید انجیر مرطوب جهت بهبود کیفیت محصول. گزارش نهایی، شماره ۸۰-۱۱-۰، کارگروه پژوهش، آمار و فناوری اطلاعات استان فارس.
- ۲- فقیه، ح. و ثابت سروستانی، ج. ۱۳۸۰. انجیر کاشت، داشت و برداشت. انتشارات راه گشا، شیراز، ص ۱۶ - ۲۱.
- ۳- مرکز آمار سازمان جهاد کشاورزی. ۱۳۹۰. وب سایت: (<http://dpe.agrijahad.ir/portal/Home/Default.aspx?CategoryID=2ee4fad0-7ee6-4a0d-883c-19f306d74f67>)
- 4- Buedo, A. P., Elustondo, M. P. & Urbicain, M. J. 2001. Non-enzymatic browning of peach juice concentrate during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1, 255-260.
- 5- Burks, C.S., Dowell, F.E. & Xie, F. 2000. Measuring fig quality using near-infrared spectroscopy. *Journal of Stored Products Research*, 36, 289-296.
- 6- Cai, C.H., Guo, J. & Zeng, Q.X. 2007. Effect of Storage on Non-enzymatic Browning of Hemi-dried Litchi Fruit. *Food Science*, 28(10), 526-532.
- 7- Carabasa-Giribet, M. & Ibarz-Ribas, A. 2000. Kinetics of colour development in aqueous glucose systems at high temperatures. *Journal of Food Engineering*, 44, 181-189.
- 8- Cerrutti, P., Resnik, S. L., Seldes, A. & Fontan, C. F. 1985. Kinetics of deteriorative reactions in model food systems of high water activity: glucose loss, 5-Hydroxymethylfurfural accumulation and fluorescence development due to nonenzymatic browning. *Journal of Food Science*, 50, 627-630.
- 9- Chutintrasri, B. & Noomhorm, A. 2007. Color degradation kinetics of pineapple puree during thermal processing. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 40, 300-306.
- 10- Cioroi, M. 2008. 5-hydroxymethylfurfural: a possible indicator in the preservation abilities of the thermally processed food. *Revue Roumaine de Chimie*, 53(5), 379-382.
- 11- Demirbuker, D., Simsek, S. & Yemenicioglu, A. 2004. Potential application of hot rehydration alone or in combination with hydrogen peroxide to control pectin methylesterase activity and microbial load in cold-stored intermediate-moisture sun-dried figs. *Journal of Food Science*, 69(3), C170-C178.
- 12- Doymaz, I. 2005. Sun drying of figs: an experimental study. *Journal of Food Engineering*, 71, 403-407.
- 13- FAO. 2010. Statistical Database. Available at: <http://www.fao.org> (accessed: Jan. 2013).

تمامی تیمارها وجود دارد که این حاکی از وجود یک رابطه معنی دار بین HMF و شاخص قهوه ای شدن است. ضرایب همبستگی (r) میان این فاکتورها بسته به دمای نگهداری و نوع تیمار استفاده شده متغیر است که در جدول ۳ به آن اشاره شده است. با توجه به ضرایب تبیین ۰/۸۴۳-۰/۹۶۹، ۰/۸۴۵-۰/۹۴۹ و ۰/۷۵۱-۰/۸۹۵ برای انجیرهای کنترل و تیمار یافته با کلرید کلسیم و متابی سولفیت، رابطه خوبی میان تشکیل HMF و شاخص قهوه ای شدن در تمامی دماهای مورد مطالعه (۴ تا ۳۵ درجه سانتی گراد) وجود دارد. این در حالی است که در انجیر تیمار یافته با اسید سیتریک در ۱۵ درجه سانتی گراد هیچ ارتباطی وجود ندارد (ضریب تبیین برابر ۰/۴۷۷). بنابراین با توجه به رابطه مثبت میان این دو فاکتور می توان در بررسی قهوه ای شدن انجیر نیمه مرطوب از اندازه گیری شاخص قهوه ای شدن بجای HMF استفاده کرد. وجود رابطه خطی میان شاخص قهوه ای شدن و HMF توسط اوزهان و همکاران (۲۰۱۰) در خرنوب، سای و همکاران (۲۰۰۷) در میوه لیچی نیمه خشک، وانگ و همکاران (۲۰۰۵) در کنسانتره آب هویج گزارش شده بود (۶، ۲۵ و ۳۲).

۴- نتیجه گیری

جهت ممانعت از قهوه ای شدن غیر آنتزیمی در انجیر نیمه مرطوب در طول دوره نگهداری در دماهای مختلف از تیمارهای مختلف افزودنی نظیر اسید سیتریک، کلرید کلسیم و متابی سولفیت استفاده گردید. با این حال نتایج این تحقیق حاکی از آن است که این افزودنی ها اثر چندان معنی داری در این زمینه نداشتند. در ارزیابی قهوه ای شدن انجیر نیمه مرطوب نگهداری شده در دمای ۴، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد شاخص قهوه ای شدن و تشکیل HMF اندازه گیری شد که هر دو از سینتیک درجه یک تبعیت می کردند. با افزایش دما ثابت سرعت در تمام نمونه ها افزایش می یابد که تفاوت چندان قابل ملاحظه ای بین ثابت سرعت در تیمارهای مختلف وجود نداشت. بین ثابت سرعت و اکنش در تشکیل HMF و شاخص قهوه ای شدن در تمامی تیمارهای مورد بررسی نیز با دما رابطه لگاریتمی قوی ($R^2 > 90\%$) مشاهده گردید. همچنین رابطه خطی بسیار خوبی نیز بین شاخص قهوه ای شدن و HMF در کلیه نمونه های مورد بررسی یافت شد.

- microwave heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1884–1887.
- 27- Roos, Y.H. 1995. Reaction kinetics. in: *Phase transitions in foods*. (Editor: S. L. Taylor). Academic Press, INC, pp. 271-312.
- 28- Rufián-Henares, J. A., Andrade, C.D. & Morales, F.J. 2009. Non-enzymatic browning: The case of the Maillard reaction. in: *Assessing the generation and bioactivity of neo-formed compounds in thermally treated foods*. (Editors: C. Delgado-Andrade & J. A. Rufián-Henares). Granada, pp: 19-21.
- 29- Soria, A.C., Olano, A., Frias, J., Penas, E. & Villamiel, M. 2009. 2-Furoylmethyl amino acids, hydroxymethylfurfural, carbohydrates and β -carotene as quality markers of dehydrated carrots. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 267–273.
- 30- Stamp, J. A. & Labuza, T. P. 1983. Kinetics of the Maillard reaction between aspartame and glucose in solution at high temperatures. *Journal of Food Science*, 48, 543–547.
- 31- Toribio, J. L. & Lozano, J. E. 1984. Nonenzymatic browning in apple juice concentrate during storage. *Journal of Food Science*, 49, 889–892.
- 32- Wang, H. Y., Hu, X. S., Chen, F., Wu, J. H., Zhang, Z. H., Liao, X. J. & Z.F. Z. F. 2006. Kinetic analysis of non-enzymatic browning in carrot juice concentrate during storage. *European Food Research and Technology*, 223(2), 282-289.
- 14- Feeney, R.E. & Whitaker, J.R. 1982. The Maillard reaction and its prevention. in: *Food protein deterioration: mechanisms and functionality* (Editor: J.P. Cherry). Washington: American Chemical Society, Chapter 9, pp. 201–229
- 15- Frank, D. 2002. Investigation of the biochemical basis of browning during the storage of sultanas. Ph.D. Thesis, Food Safety Authenticity and Quality Unit, Victoria University of Technology, Werribee, Victoria Australia.
- 16- Ibarz, A., Pagaan, J & Garza, S. 2000. Kinetic models of non-enzymatic browning in apple puree. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1162-1168.
- 17- Johnson, J.R., Braddock, R.J. & Chen, C.S. 1995. Kinetics of Ascorbic Acid Loss and Nonenzymatic Browning in Orange Juice Serum: Experimental Rate Constants. *Journal of Food Science*, 60, 502–505.
- 18- Liu, SC., Chang, HM. & Wu, SB. 2003. A study on the mechanism of browning in mei liqueur using model solutions. *Food Research International*, 36, 579–585.
- 19- Lozano, J. E. 2006. Inhibition and Control of Browning. in: *Fruit Manufacturing* (Editors: G.V. Barbosa-Cánovas). Camino La Carrindanga, Springer, pp. 183-210.
- 20- Maltini, E., Torreggiani, D., Venir, E. & Bertolo, G. 2003. Water activity and the preservation of plant foods. *Food Chemistry*, 82, 79–86.
- 21- Martins, S. I. F. S. 2003. Unravelling the Maillard reaction network by multiresponse kinetic modeling. Ph.D. Thesis, Wageningen University, The Netherlands.
- 22- Martins, S., Jongen, W. & van Boekel, M. 2001. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modeling. *Trends in Food Science and Technology*, 11, 364–373.
- 23- Matic, J. J., Saric, B. M., Mandic, A. I., Milovanovic, I. L., Jovanov, A. I. & Mastilovic, J. S. 2009. Determination of 5-hydroxymethylfurfural in apple juice. *Food Processing, Quality and Safety*, 1(2), 35-39.
- 24- Nursten, H.E. 2005. *The Maillard Reaction Chemistry, Biochemistry and Implications*. Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge CB4 0WF, UK, pp. 1-57.
- 25- Ozhan, B., Karadeniz, F. & Selen Erge, H. 2010. Effect of storage on nonenzymatic browning reactions in carob Pekmez. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 751–757.
- 26- Peterson, B. I., Tong, C., Ho, C. & Welt, B. A. 1994. Effect of moisture content on Maillard browning kinetics of a model system during