Investigation of the Biochemical Properties of Fresh Roselle Calyces During the Storage

Pages 21-35

F. Borna[1*] and L. SeydMohammadi[2]

1) Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2) MSc student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

*Corresponding author: **Borna@asnrukh.ac.ir**

Received date: 2023.08.13 **Accepted date: 2023.10.25**

Abstract

Hibiscus sabdariffa **belonging to the Malvaceae family, is an important source of vitamins, minerals, and its pharmacological effects are attributed to components such as flavonoids, anthocyanins, organic acids, phytosterols, polyphenols, and polysaccharides, some of which possess antioxidant activities. In this study, the shelf life of fresh Roselle calyces was evaluated for changes in biochemical properties including total phenol, flavonoid, and anthocyanin contents as well as antioxidant activity over 5 to 30 days at 0, 4, 10, and ambient temperature (23°C). The results showed that the lower temperature (0 and 4 °C) preserves the appearance of the calyces during refrigerated storage. The shelf life based on the appearance of the product at 0 and 4 °C was longer than at 10 and 23 °C. Additionally, calyces stored at 4°C had higher levels of phenols, flavonoids, anthocyanins, and antioxidant activity compared to 0°C to overcome severe cold stress. Consequently, for short-term storage or immediate consumption, storing afresh calyces at 4°C is optimal to obtain high antioxidant content. However, if the goal is to extend the cold storage period, storage at 0°C is recommended.**

Keywords: Antioxidant activity, Anthocyanin, *Hibiscus sabdariffa*, Total flavonoid and Total phenol.

بررسی خصوصیات بیوشیمیایی کاسبرگ های تازه چای ترش در دوره انبارمانی

شماره صفحات
۳۵-۲۱

فاطمه برنا[۱]* و لیلا صید محمدی [۲]

۱) استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
۲) دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

* نویسنده مسئول: **Borna@asnrukh.ac.ir**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۰۳

چکیده

چای ترش متعلق به خانواده Malvaceae، منبع مهمی از ویتامین‌ها و مواد معدنی است و اثرات دارویی چای‌ترش به اجزای آن مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، اسیدهای آلی، فیتواسترول‌ها، پلی فنول‌ها و پلی ساکاریدها مربوط می‌شود که برخی از آنها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند. در پژوهش حاضر عمر انبارمانی کاسبرگ‌های تازه چای ترش از نظر تغییرات خصوصیات بیوشیمیایی شامل محتوای فنول، فلاونوئید، آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به مدت ۵ تا ۳۰ روز در دمای ۰، ۴، ۱۰، دمای معمولی ۲۳ درجه سانتیگراد مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که دمای پایین‌تر (۰ و۴ درجه سانتیگراد) ظاهر کاسبرگ‌ها را در طول نگهداری در یخچال حفظ می‌کند. عمر نگهداری بر اساس ظاهر محصول در دمای ۰ و ۴ درجه سانتیگراد بیشتر از ۱۰ و ۲۳ درجه سانتیگراد بود. علاوه‌بر این، کاسبرگ‌های نگهداری شده در دمای ۴ درجه، نسبت به دمای ۰ درجه سانتیگراد، مقادیر بیشتری فنول، فلاونوئید، آنتوسیانین و فعالیت آنتی اکسیدانی داشتند تا بر تنش شدید سرما غلبه کنند. در نتیجه، برای نگهداری کوتاه مدت یا مصرف فوری، نگهداری کاسبرگ‌های تازه در دمای ۴ درجه سانتیگراد برای به دست آوردن آنتی اکسیدان بالا مطلوب است. با این حال، اگر هدف افزایش دوره نگهداری در سردخانه است، نگهداری در دمای ۰ درجه سانتی گراد توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس زیست فعال، بوتریتیس سینه‌را، حداقل غلظت مهارکنندگی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

مقدمه

چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.) یکی از محبوب‌ترین گونه‌های متعلق به خانواده Malvaceae است. به دلیل داشتن چندین ماده مغذی و ترکیبات فیتوشیمیایی که سلامت را بهبود می‌بخشند، مورد علاقه مصرف‌کنندگان است. معمولاً با نام‌های Roselle، ترشک قرمز یا karkadè شناخته می‌شود، و به طور گسترده در آفریقا، آسیای جنوب شرقی و برخی از کشورهای گرمسیری آمریکا رشد می‌کند. کاسبرگ‌های خوراکی قرمز چای ترش طعمی منحصر به فرد، با رنگ قرمز درخشان تولید می‌کند. بخش تجاری مهم این گیاه، کاسه گل گوشتی (کاسبرگ) است که میوه (کپسول) را احاطه کرده است (Mgaya-Kilima, *et al*., 2014; Galal, *et al*., 2017; Marak, *et al*., 2021; Zannou, *et al*.,2020). از کاسبرگ‌های تازه یا خشک در تهیه نوشیدنی‌های گیاهی، نوشیدنی‌های گرم و سرد، نوشیدنی‌های تخمیری، مربا، دراژه ژله‌ای، بستنی، شکلات‌ها، مواد طعم دهنده، پودینگ‌ها و کیک‌ها (باکو، مبروک) استفاده می‌شود (Bako, *et al*.,2009; Bolade, *et al*., 2009; Esselen & Sammy,1975; Ismail, *et al*., 2008; Okoro, 2007; Plotto, 2004; Rao, 1996; Tsai, *et al*., 2002; Wilson & Menzel, 1964). مواد غذایی و بیواکتیوهای گیاهی امروزه در حمایت از سیستم ایمنی بسیار مهم هستند. چای‌ترش منبع مهمی از ویتامین‌ها، مواد معدنی است و اثرات دارویی چای‌ترش به اجزای آن مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، اسیدهای آلی، فیتواسترول‌ها، پلی فنول‌ها و پلی ساکاریدها مربوط می‌شود که برخی از آنها دارای خواص آنتی اکسیدانی می‌باشند. محتوای فنولی گیاه عمدتاً از آنتوسیانین‌هایی مانند دلفینیدین-۳-گلوکوزید، سامبوبیوزید و سیانیدین-۳-سامبوبیوزید تشکیل شده است (Amer, *et al*., 2022; Kouakou, *et al*., 2015; Beye, *et al*., 2017; Zannou, *et al*.,2020). ترکیبات فنولی و آنتوسیانین موجود در چای‌ترش رایج‌ترین متابولیت‌ها با خواص دارویی است. برخی از ترکیبات فنولی موجود در کاسبرگ‌های چای‌ترش فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک می‌باشند. ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد از جمله مهم‌ترین ترکیبات گیاهان دارویی محسوب می‌شوند. آنتوسیانین‌ها، بزرگترین گروه از رنگدانه‌های طبیعی در گیاهان، آنتی اکسیدان‌های اولیه چای‌ترش هستند. آنتوسیانین‌ها در حال حاضر به عنوان یک رنگ طبیعی، آنتی اکسیدان، ضد سرطان و برای جلوگیری از پیری زودرس استفاده می‌شوند (Nuryanti, *et al*., 2012., Fitriani, *et al*., 2021., Hashemi, *et al*., 2019., Hapsari, *et al*., 2021). آنتی اکسیدان‌ها به عنوان مهارکننده‌های موثر سرطان‌زایی و همچنین سایر شرایطی که از نظر بیماری‌زایی با مکانیسم‌های اکسیداتیو مرتبط هستند در نظر گرفته می‌شوند. بسیاری از مطالعات این فرضیه را تایید کرده‌اند که مواد مغذی آنتی اکسیدانی و/یا داروها نقش محافظتی در سلامت انسان دارند (Formagio, *et al*., 2015). از نظر تجاری، اکثر گیاهان تولید شده به دلیل سهولت حمل و نقل، بازاریابی و ذخیره سازی به عنوان محصولات خشک فروخته می شوند (Pruthi, 1980). فرآیندهای آنزیمی در طول خشک کردن بافت‌های تازه گیاهی ممکن است منجر به تغییرات قابل توجهی در ترکیب فیتوشیمیایی آنها شود (Jambor & Czosnowska, 2002). بررسی‌ها نشان می‌دهد خشک‌کردن اندام‌های

گیاهی باعث کاهش قابل توجهی در محتوای فنول کل و ترکیبات فنولی و آنتوسیانین می‌گردد (Aladag, *et al*., 2020; Zhang, *et al*., 2023)، و تاثیر کاهشی معنی داری در مهار رادیکالهای آزاد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌گذارد (Zhang, *et al*., 2023). بنابراین گیاهان تازه برداشت شده از نظر طعم و ویژگی های کیفی نسبت به گیاهان خشک برتری دارند، اما تجاری سازی گسترده آنها به دلیل فسادپذیری بالا و ماندگاری نسبتاً کوتاه محدود شده است (Cantwell and Reid, 1993). یکی از عوامل اصلی که ماندگاری گیاهان تازه را محدود می‌کند مدیریت ضعیف دمایی است. مدیریت خوب دمایی گیاهان تازه در طول توزیع، ذخیره سازی و بازاریابی با حذف سریع گرمای مزرعه پس از برداشت می‌تواند تنش های فیزیولوژیکی ناشی از افزایش اتیلن تولید شده توسط گیاهان تازه که می‌تواند منجر به پیری سریع شود را کاهش دهد (Lopresti & Tomkins, 1997). ذخیره سازی اجزای زیست فعال مواد گیاهی تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله زمان و دما قرار می‌گیرد. در انبارداری، اجزای مواد گیاهی در یخچال و شرایط محیطی تغییر خواهند کرد.محققان در مطالعه‌ای که برای آگاهی از پایداری ذخیره‌سازی رنگدانه استخراج شده از چای ترش، به مدت ۳ ماه در هر دو شرایط محیطی و یخچال انجام دادند، روند کاهشی در محتوای آنتوسیانین، اسیدیته قابل تیتراسیون، آنتی اکسیدان کل موجود در رنگدانه استخراج شده با روش‌های مختلف استخراج پس از نگهداری در هر دو شرایط مشاهده کردند (Manjula, *et al*.,2018). در این مطالعه عمر انبارمانی کاسبرگ‌های تازه گیاه دارویی چای ترش در محیط و دماهای مختلف یخچال در طول روزهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت و اثر آن بر محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و آنتوسیانین کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن مورد بررسی قرار گرفت

مواد و روش ها

آزمایش در پاییز و زمستان ۱۴۰۱ در گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان (ملاثانی، ۳۵ کیلومتری شمال شرقی اهواز) و در قالب طرح فاکتوریل با تیمارهای دمایی مختلف (صفر، ۴، ۱۰ درجه سانتیگراد و دمای محیط (۲۳) و در بازه های زمانی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۳۰ روز با سه تکرار انجام شد.

تهیه ماده گیاهی

گیاه دارویی چای ترش در آبان ماه ۱۴۰۱ از یک مزرعه واقع در شهرستان باوی، ملاثانی با موقعیت جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه شمالی و ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه شرقی و ارتفاع ۲۲ متر از سطح دریا جمع آوری و کاسبرگ‌های آن در دماهای صفر، ۴، ۱۰ و دمای اتاق نگهداری شد و خصوصیات ظاهری و خصوصیات بیوشیمیایی کاسبرگ‌های تازه چای ترش در بازه‌های زمانی ۵ روز یکبار مورد بررسی قرار گرفتند.

تهیه عصاره متانولی

برای تهیه عصاره گیاهی، ۳ گرم نمونه گیاهی در ۹ سی سی متانول ۸۰ درصد حل گردید و محلول حاصل ۲۴ ساعت در

انکوباتور شیکردار در دمای اتاق و در شرایط تاریکی قرار داده شد. در نهایت حلال حاوی مواد موثره گیاهی جداسازی و سانتریفیوژ گردید و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

تعیین مقدار فنول کل

مقدار فنول کل با معرف فولین-سیکالتو و براساس روش Ghasemnejad *et al* (2011) تعیین خواهد شد. برای سنجش مقدار فنول کل، ابتدا آزمایش را برای دامنه بزرگی از یک نمونه به عنوان مثال ۵ تا ۲۰۰ میکرولیتر انجام داده تا حجم مناسب نمونه عصاره برای ادامه کار مشخص شود. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره رقیق شده انتخاب و با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میکرولیتر رسانده خواهد شد. سپس به آن ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین اضافه گردید و پس از ۶ دقیقه قراردادن در تاریکی، دو میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن اضافه شده و نمونه‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه در تاریکی قرار گرفتند. در نهایت جذب آن در ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد توسط غلظت‌های مختلفی ۱۰ تا ۷۰ میلی گرم در میلی لیتر از اسید گالیک تهیه و منحنی با نرم افزار Excel رسم گردید، سپس معادله خط y=24/288x - 0/186 $R^2 = 0.993$ بدست آمد. جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها به جای y قرار داده شد و x یا همان غلظت بدست آمد. میزان فنول کل و استاندارد فنول از روی میزان جذب نمونه بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰گرم ماده خشک محاسبه شد.

تعیین مقدار فلاونوئیدهای کل

برای تعیین مقدار فلاونوئید کل از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم (Chang *et al*., 2002) استفاده خواهد شد. هر کدام از عصاره‌های گیاهی (۱۰۰ میکرولیتر) به صورت جداگانه با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم (٪۱۰ متانولی)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب هر ترکیب واکنشی در ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با محلول روتین (ساخت شرکت سیگما) متانولی در غلظت‌های ۱۵-۸۰ میکروگرم در میلی لیتر تهیه شد و منحنی با نرم افزار Excel رسم گردید، سپس معادله خط y= 9/7745X - 0/0428 بدست آمد. جذب‌های خوانده شده از نمونه ها به جای y قرار داده شد و x یا همان غلظت بدست آمد.

تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی از روش Sun *et al* (2007) و از رادیکال آزاد DPPH استفاده خواهد شد. ابتدا عصاره های گیاهی در غلظت‌های متفاوت (۵-۵۰۰ میکرولیتر) در متانول خالص تهیه شد. سپس آزمایش بر روی نمونه انجام تا غلظت مناسب تعیین گردد. در اینجا ۴۰ میکرولیتر غلظت مناسب تعیین شد. سپس نمونه با متانول ۱۰۰ درصد به حجم ۱۰۰۰ میکرولیتر رسانده و به آن ۳۵۰ میکرولیتر DPPH یک میلی مولار اضافه گردید. سپس کل حجم را به غلظت ۲میلی لیتر رسانده

و جذب نمونه‌ها بعد از ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر به دست آمد.

رابطه ۱: $R\% = AD - AS/AD \times 100$

R% = درصد مهارکنندگی، AD : جذب DPPH در ۵۱۷ نانومتر، AS : جذب نمونه ها در ۵۱۷ نانومتر

اندازه گیری میزان آنتوسیانین تام عصاره گیاهی

میزان آنتوسیانین تام با استفاده از روش تفاضلی pH، با تغییرات جزئی تعیین خواهد شد (Lee, *et al.*, 2005). ۲ نمونه از ۱ میلی لیتر عصاره متانولی گرفته شد و به یکی از آنها بافر کلرید پتاسیم، pH 1.0 و دیگری بافر استات سدیم، pH 4.5 اضافه و به حجم۱۰ میلی‌لیتر رسید. پس از تعادل در ۱۵ دقیقه، جذب به ترتیب در۵۲۰ نانومتر و ۷۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. محتوای آنتوسیاین تام براساس میلی‌گرم بر گرم سیانیدین-۳-گلوکوزید به صورت فرمول (۱) محاسبه شد.

رابطه ۲: $\text{Anthocyanin content (mg/g)} = \frac{\text{Abs}}{\varepsilon \text{L}} \times \text{MW} \times \text{D} \times \frac{\text{V}}{G}$

A= تفاوت میزان در pH 1.0 و pH 4.5

MW= وزن مولکولی= ۴۴۹,۲ گرم/مول سیانیدین-۳- گلوکوزید

DF= ضریب رقت

ε= ۲۶۹۰۰ ضریب خاموشی مولی برای سیانیدین-۳-گلوکوزید

L= طول مسیر نوری (یک سانتی متر)

V= حجم نهایی (میلی‌لیتر)

G= ماده خشک (میلی‌گرم)

آنالیز آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS ۹,۴ استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال خطای ۰/۰۵ و اثر متقابل ها براساس آزمون LS-means در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

بررسی خصوصیات ظاهری کاسبرگ‌های چای ترش تازه نگهداری شده در دماهای مختلف نشان داد بجز دمای ۰ و دمای ۴ درجه سانتیگراد در سایر دماها با افزایش میزان ماندگاری رشد قارچ و کاهش کیفیت ظاهری کاسبرگ‌های تازه افزایش یافت

بطوری‌که کاسبرگ‌های تازه چای ترش بعد از ۱۰ روز نگهداری در دمای ۱۰ درجه دچار کپک‌زدگی شد و این درحالی است که کاسبرگ‌های نگهداری شده در دمای معمولی (۲۳ درجه سانتیگراد) بعد از ۵ روز دچار کپک‌زدگی شد وکیفیت ظاهری خود را از دست داد. بررسی نتایج جدول تجزیه واریانس اثر دماهای مختلف بر میزان فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین و خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاسبرگ‌های تازه چای ترش در زمان‌های مختلف (جدول ۱) نشان داد، خصوصیات شیمیایی کاسبرگ‌های تازه چای ترش تحت اثر دماهای مختلف در بازه زمانی ۵ تا ۳۰ روز تغییر معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ داشت بطوری‌که اثر متقابل دما و مدت ماندگاری برای خصوصیات شیمیایی فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در سطح یک درصد معنی‌دار شد.

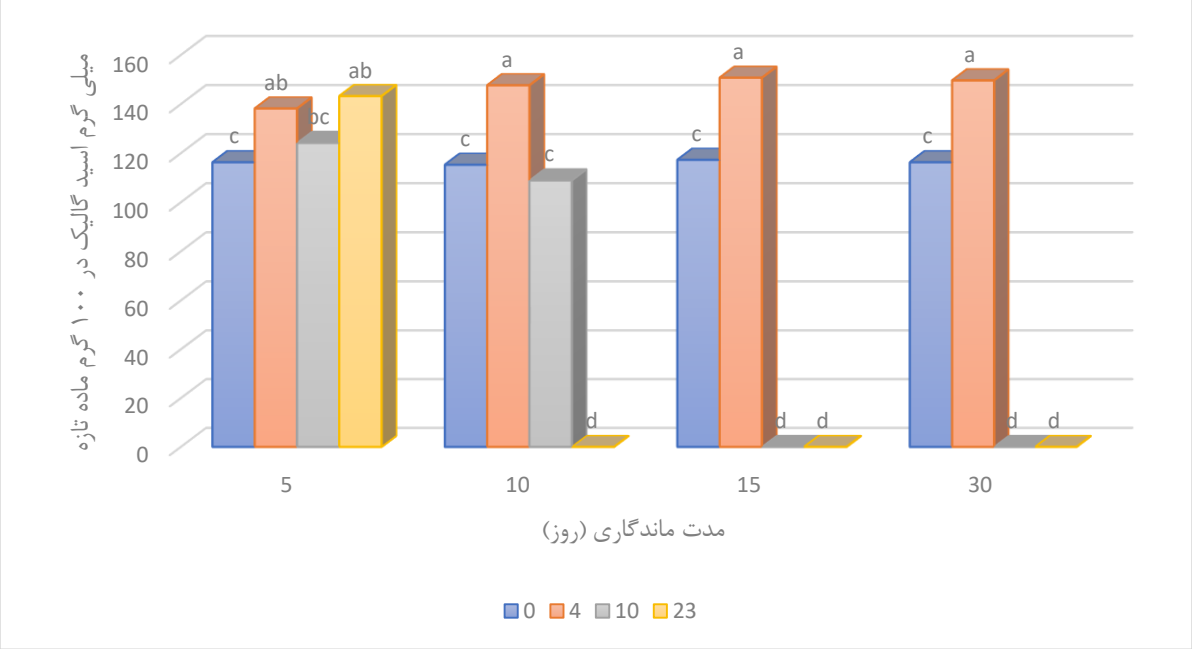
جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس اثر دماهای مختلف بر میزان فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین و خاصیت آنتی اکسیدانی کاسبرگ های تازه چای ترش در زمان های مختلف

Table 1: The analysis of variance of the effect of different temperatures on total phenol, total flavonoid, anthocyanin and antioxidant activity of fresh Roselle calyces at different times

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS) فنول کل	فلاونوئید کل	خاصیت آنتی اکسیدانی	میزان آنتوسیانین
دما	۳	۳۱۳۳۸/۹۱**	۲۸۷۵/۱۷**	۷۹/۰۷**	۷۰/۳۱ **
مدت زمان	۳	۱۰۹۱۴/۲۷۱**	۱۱۷۷/۵۲**	۴۷/۶۸**	۴۵/۳۸ **
دما×مدت زمان	۹	۶۰۹۶/۹۹**	۶۲۰/۶۹**	۲۸/۶۱**	۶۲/۴۰ **
خطا	۳۲	۱۵۶/۵۰	۵۳۴/۴۴	۴/۴۲	۱۴/۳۴
ضریب تغییرات (٪)	-	۱۴/۰۱	۱۴/۹۳	۴۵/۱۷	۲۶/۴۵

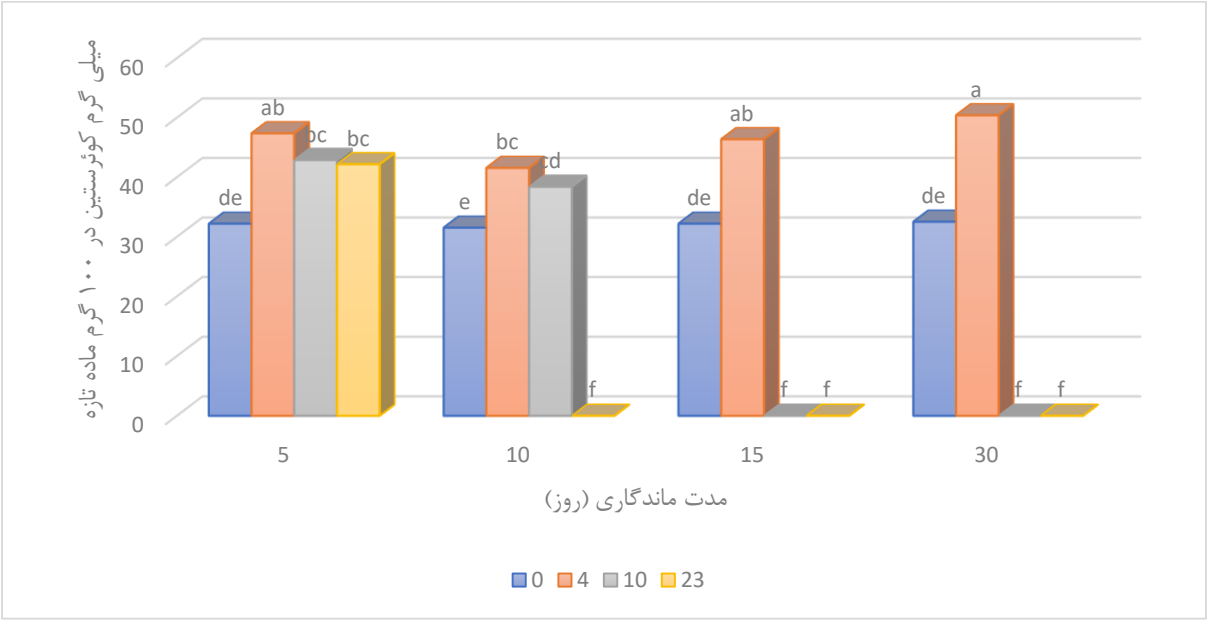
مقایسه میانگین اثر متقابل دما و مدت زمان نگهداری بر میزان فنول کل کاسبرگ‌های تازه چای ترش (نمودار ۱) نشان داد بین تیمارهای دمایی مختلف از نظر میزان فنول کل اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. تیمار دمایی ۴ درجه سانتیگراد در بازه زمانی ۵ تا ۳۰ روز نگهداری بیشترین میزان فنول کل را داشت این درحالی است که بین تیمارهای ۴، ۱۰ و ۲۳ درجه سانتیگراد در ۵ روز اول نگهداری کاسبرگ‌های تازه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. دمای ۰ درجه سانتیگراد باعث کاهش معنی‌دار فنول کل در ۵ روز اول نسبت به سایر دماها شد. با افزایش دما به ۱۰ و ۲۳ درجه و افزایش مدت ماندگاری به ۱۰ تا ۳۰ روز میزان فنول کل به شدت کاهش یافت. مقایسه میانگین اثر متقابل دما و مدت زمان نگهداری بر میزان فلاونوئید کل کاسبرگ‌های تازه چای ترش (نمودار ۲) نشان داد بین تیمارهای دمایی مختلف از نظر میزان فلاونوئید کل اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. تیمار دمایی ۴ درجه سانتی‌گراد در بازه زمانی ۵ تا ۳۰ روز نگهداری بیشترین میزان فلاونوئید کل را داشت این در حالی است که بین تیمارهای ۴، ۱۰ و ۲۳ درجه سانتیگراد در ۵ روز اول نگهداری کاسبرگ‌های تازه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. دمای ۰ درجه سانتی‌گراد باعث کاهش معنی‌دار فلاونوئید کل در ۵ روز اول نسبت به سایر دماها شد. بطوری‌که بین دمای ۴، ۱۰، ۲۳ درجه

سانتی‌گراد و دمای ۰ درجه سانتی‌گراد در کلیه زمان‌های ماندگاری اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. با افزایش دما به ۱۰ و ۲۳ درجه و افزایش مدت ماندگاری به ۱۰ تا ۳۰ روز میزان فلاونوئید کل به شدت کاهش یافت.



نمودار ۱: مقایسه میانگین اثر متقابل دما و مدت زمان نگهداری بر میزان فنول کل کاسبرگ های تازه چای ترش

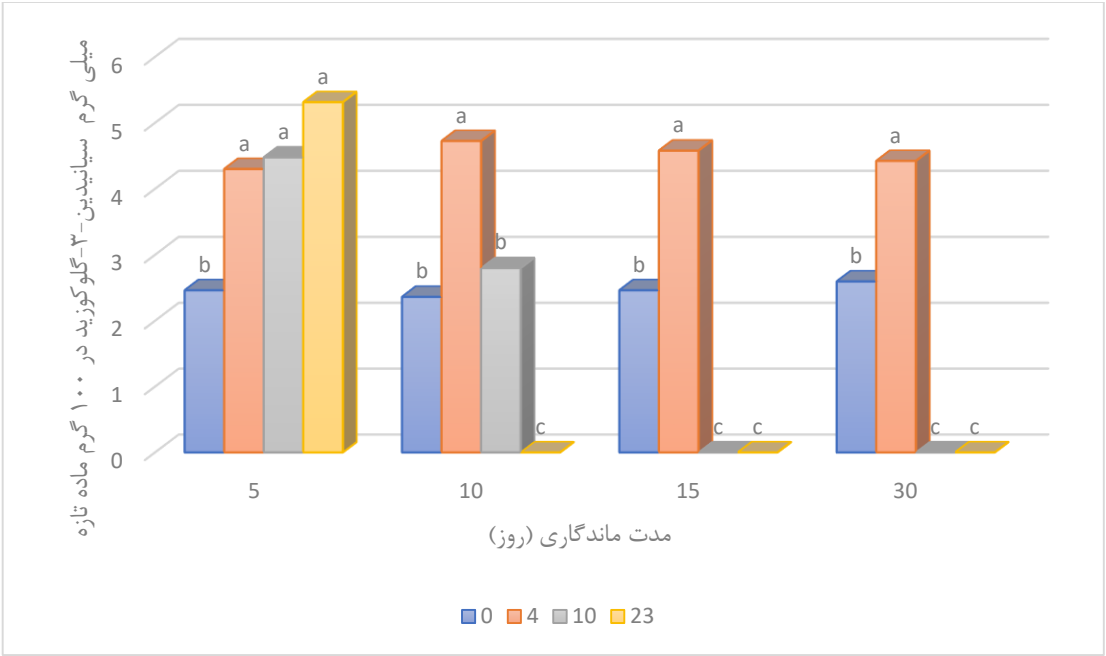
Figure 1: Comparison of the interaction of temperature and duration of storage on the amount of total phenol in the fresh calyx of Roselle



نمودار ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل دما و مدت زمان نگهداری بر میزان فلاونوئید کل کاسبرگ های تازه چای ترش

Figure 2: Comparison of the interaction of temperature and duration of storage on the amount of total flavonoid in the fresh calyx of Roselle

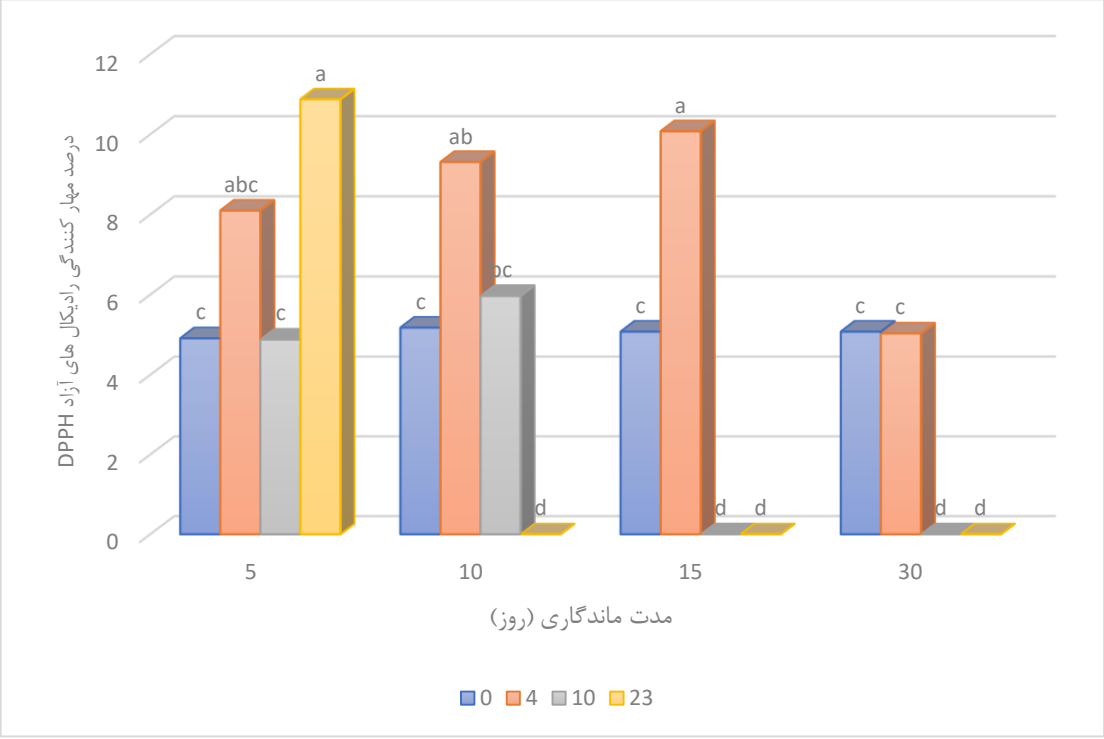
مقایسه میانگین اثر متقابل دما و مدت زمان نگهداری بر میزان آنتوسیانین کل کاسبرگ‌های تازه چای ترش (نمودار ۳) نشان داد بین تیمارهای دمایی مختلف از نظر میزان آنتوسیانین کل اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. تیمار دمایی ۴ درجه سانتی گراد در بازه زمانی ۵ تا ۳۰ روز نگهداری بیشترین میزان آنتوسیانین کل را داشت، این درحالی است که بین تیمارهای ۴، ۱۰ و ۲۳ درجه سانتی‌گراد در ۵ روز اول نگهداری کاسبرگ‌های تازه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. دمای ۰ درجه سانتی‌گراد باعث کاهش معنی‌دار آنتوسیانین کل در ۵ روز اول نسبت به سایر دماها شد. همچنین بین دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دمای ۰ درجه سانتی‌گراد در کلیه زمان‌های ماندگاری اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. با افزایش دما به ۱۰ و ۲۳ درجه و افزایش مدت ماندگاری به ۱۰ تا ۳۰ روز میزان آنتوسیانین کل به شدت کاهش یافت. Ndong *et al* (2018) پایداری آنتوسیانین کل را پس از نگهداری در دماهای ۴، ۳۰ یا ۴۵ درجه به مدت سه ماه در روزهای ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵ و ۹۰ تعیین کردند و نتایج نشان داد که عصاره چای ترش را می توان در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت سه ماه بدون تغییرات کیفی نگهداری کرد. Vanawati *et al* (2021) پایداری عصاره چای ترش را در دما و زمان‌های مختلف نگهداری برای رنگ‌آمیزی نماتد بررسی کردند. پایداری عصاره چای ترش براساس میزان جذب آنتوسیانین و مشاهده رنگ‌آمیزی نماتد در زمان های ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتیگراد) و دمای سرد (۴ درجه سانتیگراد) نشان داد که عصاره کاسبرگ چای ترش بعد از ۲۱ روز در دمای سرد (۴ درجه سانتی‌گراد) نسبت به شرایط دمایی اتاق پایدار می‌ماند. نتایج حاصل از پایداری محتوای آنتوسیانین کل در دمای ۴ درجه با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت دارد.



نمودار ۳: مقایسه میانگین اثر متقابل دما و مدت زمان نگهداری بر میزان آنتوسیانین کاسبرگ های تازه چای ترش

Figure 3: Comparison of the interaction of temperature and duration of storage on the amount of total Antocyanin in the fresh calyx of Roselle

مقایسه میانگین اثر متقابل دما و مدت زمان نگهداری بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاسبرگ‌های تازه چای ترش (نمودار ۴) نشان داد بین تیمارهای دمایی مختلف از نظر خاصیت آنتی‌اکسیدانی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. تیمار دمایی ۴ درجه سانتی گراد در بازه زمانی ۵ تا ۱۵ روز نگهداری بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد را داشت. این درحالی است که بین تیمار های ۴ درجه سانتی‌گراد با تیمارهای ۰، ۱۰ و ۲۳ درجه سانتی‌گراد در ۵ روز اول نگهداری کاسبرگ‌های تازه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. دمای ۰ درجه سانتی‌گراد باعث کاهش معنی‌دار خاصیت آنتی‌اکسیدانی در ۵ روز اول نسبت به سایر دماها شد. با افزایش دما به ۱۰ و ۲۳ درجه و افزایش مدت ماندگاری به ۱۵ تا ۳۰ روز از خاصیت آنتی‌اکسیدانی به شدت کاسته شد. López et al (2019)، پایداری محتوای پلی فنول و آنتی‌اکسیدانی‌های چای ترش در طی فرایند ذخیره‌سازی در دمای محیط ۲۰ درجه سانتی‌گراد و در دمای سرد ۶ درجه سانتی‌گراد، در روزهای ۰، ۷ و ۱۴ مورد بررسی قرار دادند. و گزارش کردند که پایداری محتوای پلی‌فنول در طول نگهداری تفاوت معنی‌داری نداشت، اما در یخچال، محتوای فنولی پایین‌تر و درصد کمتری از مهار رادیکال آزاد داشتند. نگهداری چای ترش در دمای اتاق ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری دارد، رادیکال های آزاد را مهار می کند و اکسیداسیون ترکیبات فنولی موجود در عصاره را کاهش می دهد.



نمودار ۴ : مقایسه میانگین اثر متقابل دما و مدت زمان نگهداری بر خاصیت آنتی اکسیدانی کاسبرگ های تازه چای ترش

Figure 4: Comparison of the interaction of temperature and duration of storage on the amount of Antioxidant activity in the fresh calyx of Roselle

ترکیبات فنولی با از بین بردن رادیکال‌های آزاد و کاهش سیالیت غشاء نقش مهمی در حفظ ثبات غشاهای سلولی ایفا می‌کنند (Blokhina, *et al*., 2003). در گیاهان تنش دمای سرد می‌تواند باعث تجمع فنول‌ها از طریق مسیر فنیل پروپانوئید شود (Sanchez-Ballesta *et al*., 2000). تصور می‌شود که فنولیک‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های مهم در مکانیسم سازگاری برای غلبه بر استرس اکسیداتیو ناشی از دمای سرد نقش دارند (Pennycooke *et al*., 2005). بنابراین، تجمع اولیه فنول‌ها در چای ترش سرد نگهداری شده مربوط به مقاومت به صدمه سرمایی بوده است، در حالی‌که غلظت بالاتر فنول مشاهده شده در چای ترش ذخیره شده در دماهای گرم‌تر (۴ درجه سانتی گراد) از ۵ تا ۳۰ روز به حساسیت به سرما نسبت داده شده است. این یافته با گزارش‌های قبلی در برخی محصولات باغی مانند هلو (Liu, *et al*., 2019)، انار (O'Grady *et al*., 2014) و مرکبات (Siboza, *et al*., 2014) مطابقت داشت. براساس نظر Liu *et al* (2019) دماهای گرم‌تر (۴ یا ۶ درجه سانتیگراد) متابولیسم دفاعی درگیر در سازگاری با سرما را تا حد زیادی افزایش می‌دهد، در حالی‌که این دماها باعث افزایش آشکار محتوای فنولی و قدرت آنتی‌اکسیدانی می‌شود که برای سلامتی انسان مفید است. در نهایت، روند کاهشی بعدی در غلظت ترکیبات فنولی چای ترش در تیمارهای دمایی بالاتر (۱۰، ۲۳ درجه سانتی گراد) ممکن است با تجزیه فنول‌ها به دلیل پدیده‌های پیری و فعالیت آنزیمی تا پایان ذخیره سازی همراه باشد (Fawole and Opara, 2013). نتایج در این مطالعه همچنین نشان داد که دمای ۰ درجه سانتی‌گراد برای نگهداری طولانی‌مدت چای ترش نسبت به دمای گرمتر ۴ درجه سانتی‌گراد، دمای بهتری است، زیرا شرایط سردتر همچنان حوضچه‌ای از ترکیبات فنولی را در طول دوره نگهداری بعدی حفظ می‌کند. در نتیجه عمر ذخیره سازی چای ترش را طولانی تر می‌کند.

نتیجه گیری کلی

بطور کلی نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط دمایی مختلف و مدت زمان نگهداری بر میزان فنول کل، فلاونوئید کل، محتوای آنتوسیانین و خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاسبرگ‌های تازه چای ترش (نمودار ۱، ۲، ۳ و ۴) نشان داد که حداقل مدت ماندگاری ۵ روز و برای کلیه تیمارهای دمایی مشاهده شد و بیشترین مدت ماندگاری ۳۰ روز در تیمار ۴ درجه و صفر درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید. امکان نگهداری کاسبرگ‌های تازه چای ترش با حداقل تغییرات در ترکیبات شیمیایی و مواد موثره آن تا ۵ روز اول پس از برداشت در کلیه دماهای مورد بررسی میسر می‌باشد. براساس نتایج این پژوهش میزان فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان بود و اختلاف معنی‌داری با دماهای ۰، ۱۰ و ۲۳ درجه سانتی‌گراد داشت. بین مدت ماندگاری در دمای صفر درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. این درحالی است که دمای صفر درجه با دمای ۴ درجه اختلاف معنی‌داری از نظر میزان ترکیبات نشان داد . بطوری‌که میزان فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در دمای صفر درجه کمتر از دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

بود. دمای پایین‌تر (۰ و۴ درجه سانتی‌گراد) ظاهر کاسبرگ‌ها را در طول نگهداری در یخچال حفظ می‌کند. عمر نگهداری بر اساس ظاهر محصول در دمای ۰ و ۴ درجه سانتی‌گراد بیشتر از ۱۰ و ۲۳ درجه سانتی‌گراد بود. علاوه بر این، کاسبرگ‌های تازه‌ای که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، نسبت به کاسبرگ‌هایی که در دمای ۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، مقادیر بیشتری فنول، فلاونوئید، آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارا هستند تا بر تنش شدید سرما غلبه کنند. در نتیجه، برای نگهداری کوتاه مدت یا مصرف فوری، نگهداری کاسبرگ‌های تازه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای به دست آوردن آنتی‌اکسیدان بالا مطلوب است. با این حال، اگر هدف افزایش دوره نگهداری در سردخانه است، نگهداری در دمای ۰ درجه سانتی‌گراد توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی (شماره طرح: ۱۴۰۲/۰۴) می‌باشد. لذا نویسندگان مقاله برخود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی، صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

Aladag, M.O., Doğu, S., Uslu, N., Özcan, M.M., Gezgin, S., & Dursun, N. (2020). Effect of Drying On Antioxidant Activity, Phenolic Compounds and Mineral Contents of Hawthorn and Wild Pear Fruits. Erwerbs-Obstbau 62, 473–479.

Amer, S. A., Al-Khalaifah, H. S., Gouda, A., Osman, A., Goda, N. I., Mohammed, H. A., Darwish, M.I.M., Hassan, A.Z., & Mohamed, S. K. A. (2022). Potential effects of anthocyanin-rich roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract on the growth, intestinal histomorphology, blood biochemical parameters, and the immune status of broiler chickens. *Antioxidants*, 11(3), 544.

Bako, I. G., Mabrouk, M. A., & Abubakar, A. (2009). Antioxidant effect of ethanolic seed extract of *Hibiscus sabdariffa* linn (Malvaceae) alleviate the toxicity induced by chronic administration of sodium nitrate on some haematological parameters in wistars rats. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 1(1), 39-42.

Beye, C., Hiligsmann, S., Tounkara, L. S., & Thonart, P. (2017). Anthocyanin content of two *Hibiscus sabdariffa* cultivars grown in Senegal. *Agronomie Africaine*, *29*(1), 63-68.

Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 91(2), 179-194.

Bolade, M. K., Oluwalana, I. B., & Ojo, O. (2009). Commercial practice of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage production: Optimization of hot water extraction and sweetness level. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5(1), 126-131.

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(3), 178-182.

Esselen, W. B., & Sammy, G. M. (1975). Applications for roselle and a red food colorant. Food Product Development, 37–40.

Fawole, O. A., & Opara, U. L. (2013). Effects of storage temperature and duration on physiological responses of pomegranate fruit. *Industrial crops and products*, 47, 300-309.

Fitriani, U. N., Yusuf, M., & Ilyas, F. S. (2021). Spray Drying of Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Powder: Effect of Shelf Life on Physicochemical Properties and Cyanidin 3-O—glucoside. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 755, No. 1, p. 012002). IOP Publishing.

Formagio, A. S. N., Ramos, D. D., Vieira, M. C., Ramalho, S. R., Silva, M. M., Zárate, N. A. H., ... & Carvalho, J. E. (2015). Phenolic compounds of *Hibiscus sabdariffa* and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties. *Brazilian Journal of Biology*, 75, 69-76.

Galal, A. (2017). Physico-chemical changes in karkade (*Hibiscus sabdariffa* L.) seedlings responding to salt stress. *Acta Biologica Hungarica*, 68(1), 73-87.

Ghasemnezhad, M., Sherafati, M., & Payvast, G. A. (2011). Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *Journal of functional foods*, 3(1), 44-49.

Hapsari, B. W., & Setyaningsih, W. (2021). Methodologies in the analysis of phenolic compounds in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.): composition, biological activity, and beneficial effects on human health. *Horticulturae*, *7*(2), 35.

Hashemi, A., & Shahani, A. (2019). Effects of salt stress on the morphological characteristics, total phenol and total anthocyanin contents of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Plant Physiology Reports*, *24*, 210-214.

Ismail, A., Ikram, E. H. K., & Nazri, H. S. M. (2008). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds nutritional composition protein quality and health benefits. Food, 2(1), 1–16.

Jambor, J., & Czosnowska, E. (2002). Herbal medicines from fresh plants. *Postepy Fitoterapii*, 8(1–2), 2–5.

Kouakou, T. H., Konkon, N. G., Obouayeba, A. P., & Abeda, Z. H. (2015). Anthocyanin production in calyx and callus of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) and its impact on antioxidant activity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *4*(3), 09-15.

Lee, J., Durst, R.W., Wrolstad, R.E., & Collaborators: Eisele T., Giusti M.M., Hach J., Hofsommer H., Koswig S., Krueger D.A., Kupina S., Martin S.K., Martinsen B.K., Miller TC., Paquette F., Ryabkova A., Skrede G., Trenn U., Wightman J.D. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, *88*(5), 1269-1278.

Liu, H., Jiang, W., Cao, J., & Li, Y. (2019). Effect of chilling temperatures on physiological properties, phenolic metabolism and antioxidant level accompanying pulp browning of peach during cold storage. *Scientia Horticulturae*, *255*, 175-182.

López, C., Gallardo, C. E. G., Ochoa, M. G., Mariño, G., Jácome, B., & Sinchiguano, E. B. (2019). Study of the stability of the antioxidants of the flor de Jamaica's wine (*hibiscus sabdariffa* L.) under storage. *La Granja*, 29(1), 105.

Lopresti, J. & Tomkins, B. (1997). Post Harvest Handling and Packaging of Fresh Herbs. Institute for Horticultural Development Agriculture Victoria. *RIRDC*, 51 p.

Manjula, G. S., Krishna, H. C., Reddy, M. C., Karan, M., & Kumar, M. M. (2018). Effect of storage temperature on various parameters of extracted pigment from roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces for edible colour. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *7*, 3382-3390.

Marak, S., Shumilina, E., Kaushik, N., Falch, E., & Dikiy, A. (2021). Effect of Different Drying Methods on the Nutritional Value of *Hibiscus sabdariffa* Calyces as Revealed by NMR Metabolomics. *Molecules*, 26(6), 1675.

Mgaya-Kilima, B., Remberg, S. F., Chove, B. E., & Wicklund, T. (2014). Influence of storage temperature and time on the physicochemical and bioactive properties of roselle-fruit juice blends in plastic bottle. *Food science & nutrition*, *2*(2), 181-191.

Ndong, M., Faye, N. S., Bassama, J., & CissÃ, M. (2018). Stability of concentrated extracts of *Hibiscus sabdarifa* L. calyx during storage at different temperatures. *African Journal of Food Science*, 12(12), 347-352.

Nuryanti, S., Matsjeh, S., Anwar, C., & Raharjo, T. J. (2012). Isolation anthocyanin from roselle petals (*Hibiscus sabdariffa* L) and the effect of light on the stability. *Indonesian Journal of Chemistry*, 12(2), 167-171.

O'grady, L., Sigge, G., Caleb, O. J., & Opara, U. L. (2014). Effects of storage temperature and duration on chemical properties, proximate composition and selected bioactive components of pomegranate (*Punica granatum* L.) arils. *LWT-Food Science and Technology*, 57(2), 508-515.

Okoro, E. C. (2007). Production of red wine from roselle (Hibiscus sabdariffa) and pawpaw (*Carica papaya*) using palm-wine yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). Nigerian Food Journal, 25(2), 158–164.

Pennycooke, J. C., Cox, S., & Stushnoff, C. (2005). Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia× hybrida*). *Environmental and Experimental Botany*, 53(2), 225-232.

Plotto, A., Mazaud, F., Röttger, A., & Steffel, K. (2004). Hibiscus: Post-production management for improved market access. *Food and Agriculture Organization of the UN (FAO)*.

Rao, P. U. (1996). Nutrient composition and biological evaluation of mesta (*Hibiscus sabdariffa*) seeds. Plant Foods for Human Nutrition, 49(1), 27–34.

Sanchez-Ballesta, M. T., Lafuente, M. T., Zacarias, L., & Granell, A. (2000). Involvement of phenylalanine ammonia-lyase in the response of Fortune mandarin fruits to cold temperature. *Physiologia plantarum*, *108*(4), 382-389.

Siboza, X. I., Bertling, I., & Odindo, A. O. (2014). Salicylic acid and methyl jasmonate improve chilling tolerance in cold-stored lemon fruit (*Citrus limon*). *Journal of Plant Physiology*, 171(18), 1722-1731.

Sun, T., Xu, Z., Wu, C. T., Janes, M., Prinyawiwatkul, W., & No, H. K. (2007). Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Science*, 72(2), S98-S102.

Tsai, P. J., McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B., & Jordan, B. R. (2002). Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) extract. Food Research International, 35, 351–356.

Vanawati, N., Oktari, A., & Febriani, T. Y. (2021, February). Evaluation of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Calyx Extract Stability for Intestinal Nematode Egg Staining. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1764, No. 1, p. 012004). IOP Publishing.

Wilson, F. D., & Menzel, M. Y. (1964). Kenaf (*Hibiscus cannabinus*), roselle (*Hibiscus sabdariffa*). Economic Botany, 18(1), 80–91

Zannou, O., Koca, I., Aldawoud, T. M., & Galanakis, C. M. (2020). Recovery and stabilization of anthocyanins and phenolic antioxidants of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) with hydrophilic deep eutectic solvents. *Molecules*, 25(16), 3715.

Zhang, L., Zhang, C., Wei, Z., Huang, W., Yan, Z., Luo, Z., Beta, T. & Xu, X. (2023). Effects of four drying methods on the quality, antioxidant activity and anthocyanin components of blueberry pomace. *Food Production, Processing and Nutrition*, 5, 35.