بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز در برخی میوه‌ها با کاربرد اسانس‌های گیاهی آویشن باغی، مورد و مرزه خوزستانی

Investigation of Peroxidase Enzyme Activity in Some Fruits by Application of Thyme, Myrtle and Savoury Essential Oils

عبـداله احتشـــــام‌نیا[۱]*، عبدالحسین رضایی‌نژاد[۲]، سیدجواد موسوی‌زاده[۳] و مجید علیخانی کوپایی[۴]

چکیده

در این پژوهش، تاثیر اسانس‌های گیاهان آویشن باغی، مورد و مرزه خوزستانی بر میـزان فعالیـت آنـزیم پراکسـیداز در عصـاره برخی میوه‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از آزمایش فاکتوریـل در قالـب طـرح کـاملا تصـادفی بـا سـه فاکتور شامل مرحله کاربرد آنتی‌اکسیدان، منبع آنتی‌اکسیدان و غلظت آنتی‌اکسیدان مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های صفر (شـاهد)، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر در صد میلی‌لیتر از هر اسانس استفاده شد. عصاره میوه‌های موز، شلیل، گلابی، انگور، آلو، هلـو، سـیب لبنانی زرد و سیب لبنانی قرمز به‌عنوان منبع آنزیم پراکسیداز به‌کار برده شدند. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنـزیم پراکسیداز در میوه‌های مورد مطالعه در هر دو مرحله وجود دارد ($P<۰/۰۱$). در پژوهش حاضر، به‌طور کلی غلظـت‌هـای بـالاتر اسـانس مرزه خوزستانی نسبت به اسانس آویشن باغی و مورد، فعالیت ضد اکسایشی بالاتری را در مراحل قبل و بعد از عصـاره‌گیـری نشـان داد که احتمالاً به‌دلیل وجود کارواکرول به‌عنوان مهم‌ترین ترکیب فعال بیولوژیکی موجود در اسانس مرزه خوزستانی است که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی است.

واژه‌های کلیدی: اسانس، آنزیم پراکسیداز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کارواکرول

Archive of SID

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خرم‌آباد، باشگاه پژوهشگران جوان، خرم آباد، ایران
۲. استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان
۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت، باشگاه پژوهشگران جوان، رشت، ایران
۴. گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی سراوان، دانشگاه سیستان و بلوچستان
*: نویسنده مسوول Email: ab.ehteshamnia@gmail.com

www.SID.ir

مقدمه

از مسایل مهم در بخش کشاورزی، ضایعات محصولات باغی و زراعی است که همه ساله خسارت زیادی را متوجه کشور می‌نماید و علاوه بر از دست رفتن بخشی از محصولات کشاورزی، سبب به خطر افتادن سلامت جامعه ناشی از مصرف باقی‌مانده سموم شیمیایی در این محصولات می‌شود. آثار سو مصرف قارچ‌کش‌ها و سموم شیمیایی نیز بر جهانیان ثابت شده و امروزه اکثر کشورهای دنیا به تولید محصولات اُرگانیک، یا محصولاتی عاری از باقی مانده آلاینده‌های مضر مانند سموم، حشره‌کش‌ها، قارچکش‌های مضر و مواد شیمیایی و هر نوع آلودگی که برای مصرف کنندگان و محیط زیست زیان‌آور باشند؛ روی آورده‌اند (*هالی* و *پاتل*[1]، 2005). ذکر این نکته نیز ضروری است که سالانه مقادیر زیادی ارز برای خرید سموم و قارچ‌کش‌های شیمیایی از کشور خارج می‌گردد. به‌علاوه میکروارگانیسم‌ها و حشرات در مقابل این سموم مقاوم شده و هر روز نیاز به فرمولاسیون جدید برای نابودی آن‌ها است. هرچند عدم استفاده از این مواد، سبب بروز ضایعات بسیار زیاد محصولات کشاورزی و مواد غذایی بر اثر حمله آفات خواهد شد (مسکوکی، ۱۳۷۷). در این میان اسانس‌ها ترکیبات طبیعی، بی‌رنگ و پیچیده‌ای از الکل، آلدئید، استر و غیره هستند که دارای بوی مخصوص به خود بوده و در ترکیبات مصنوعی قابل دسترس نبوده و در سلامت انسان نقش حائز اهمیت دارند. وزن مولکولی کم‌تر از آب دارند و در سطح آب می‌مانند و فرّار بوده و استفاده های زیادی به‌عنوان طعم‌دهنده‌ی غذا، آنتی‌اکسیدان و آنتی باکتریال دارند (امید بیگی، ۱۳۸۴).

تغییراتی که سبب نرم شدن و از دست رفتن ارزش غذایی محصولات کشاورزی و هم‌چنین تغییر در رنگ و طعم آن‌ها، به‌علت فعّال شدن سیستم‌های آنزیمی در گیاهان است (*نیکولی*[2] و همکاران، 1994) که سبب به‌وجود آمدن تغییرات نامساعد در کیفیت محصولات در زمان حمل و نقل و انبارداری و ایجاد واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی می‌شود. اغلب فعال شدن آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز عامل اصلی ایجاد قهوه‌ای شدن آنزیمی می‌شود (*نیکولی* و همکاران، 1991).

آنزیم پراکسیداز مرتبط با کاهش طعم در میوه و سبزی‌ها است که غیر فعال کردن این آنزیم برای نگهداری محصولات فساد پذیر مورد توجه است. جلوگیری از فعالیت این آنزیم معمولا با تیمارهای فیزیکی و شیمیایی مختلف صورت می‌گیرد (*نیکولی* و همکاران، 1991). به‌علاوه علاقه به امکان استفاده از ترکیبات طبیعی برای جلوگیری از رشد میکروبی در اثر فشار مصرف کننده برای کاهش یا دفع افزودنی‌های شیمیایی به میوه و سبزی‌ها در حال افزایش است (*لانچیوتی*[3] و همکاران، 2004). از این‌رو توجه به ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی، به دلیل حفظ شرایط زیست محیطی و نداشتن خطرات بهداشتی افزودنی‌های شیمیایی، مورد توجه واقع شده است.

در یک پژوهش، تاثیر اسانس‌های گیاهی و دما بر افزایش عمر انباری آلبالو مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن نشان داد که اسانس میخک به غلظت ۱۰۰۰ قسمت در میلیون[4] تاثیر معنی‌داری بر کاهش آلودگی قارچی و افزایش عمر نگهداری میوه آلبالو دارد. هم‌چنین در نتیجه این تیمار، کم‌ترین خشکیدگی دم میوه در آلبالو مشاهده شد، زیرا اسانس‌های گیاهی باعث حفظ رنگ میوه گیلاس و آلبالو و عدم تخریب کلروفیل و کاهش قهوه‌ای شدن آنزیمی در دم میوه گیلاس و آلبالو شده است (عزیزی و همکاران، ۲۰۰۷). در تحقیقی دیگر اثر موسیلاژ آپونتیا و اسانس آویشن بر طول دوره نگهداری و انبارداری میوه توت‌فرنگی بررسی شد و اظهار شد که تیمار اسانس آویشن از تغییرات رنگ و طعم میوه توت‌فرنگی جلوگیری نموده و موجب حفظ رنگ و طعم میوه در طول انبارداری می‌شود (علیخانی و همکاران، ۱۳۸۸). در سایر تحقیقات، اثرات مفید اسانس‌های طبیعی روی افزایش کیفیت میوه انگور، آووکادو و گیلاس نشان داده شده است (*سرانو*[5] و همکاران، 2005). مواد دیواره سلولی خصوصا پکتین در حین رسیدن تجزیه می‌شوند، اما این تغییرات توسط اسانس‌ها ممانعت می‌گردند. بنابراین سفتی میوه که با رسیدن کاهش می‌یابد، از این طریق حفظ می گردد (*یولتی*[6] و همکاران، 1999).

کشور ایران به‌عنوان یکی از رویشگاه‌های اصلی بسیاری از گیاهان دارویی است که دارای پتانسیل اکولوژیکی مستعدی برای پرورش بسیاری از گیاهان دارویی از جمله آویشن، مورد و مرزه خوزستانی است. گیاه دارویی مرزه خوزستانی اولین بار در سال ۱۹۹۴ به‌عنوان گونه‌ای جدید در فلور ایران (رویشگاه اصلی این گیاه دارویی ارزشمند، زاگرس میانی و مناطق جنوب لرستان، شرق ایلام و شمال خوزستان

1. Holley and Patel
2. Nicoli et al.
3. Lanciotti et al.
4. ppm
5. Serrano et al
6. Ultee et al

Archive of SID
www.SID.ir

است) گزارش شد (جم‌زاد، ۱۹۹۴). فرسام و همکاران (۲۰۰۴) کارواکرول (٪۹۳/۹) را به‌عنوان ترکیب اصلی اسانس مرزه خوزستانی گزارش کردند. اسانس‌های محتوی کارواکرول دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قابل توجه هستند (*وگنر*[1] و همکاران، 1986).

پژوهش حاضر، با استفاده از این اسانس‌های گیاهی که منابع گیاهی ارزشمند آن‌ها در کشور ایران به‌راحتی فراهم است، در جهت کم کردن ضایعات پس از برداشت میوه‌ها، کمک به حفظ سلامت بشر و حفظ محیط زیست با تاثیر بر کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز و افزایش عمر انباری میوه‌هایی مانند موز، شلیل، گلابی، انگور، آلو، هلو، سیب لبنانی زرد و سیب لبنانی قرمز انجام شده است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، از اسانس‌های گیاهی آویشن باغی[2]، مورد[3] و مرزه خوزستانی[4] در دو مرحله استفاده شد. این دو مرحله شامل مرحله قبل از عصاره‌گیری که با اسپری نمودن غلظت‌های مختلف هر کدام از اسانس‌ها، اسید آسکوربیک و آب یونیزه شده بر روی میوه‌ها انجام شد و در مرحله بعدی که ابتدا عصاره میوه‌های مورد مطالعه استخراج و سپس غلظت‌های مختلف اسانس‌ها، اسید آسکوربیک و آب یونیزه شده به عصاره اضافه شد. از عصاره میوه‌های موز، شلیل، گلابی، انگور، آلو، هلو، سیب لبنانی زرد و سیب لبنانی قرمز به‌عنوان منبع آنزیم پراکسیداز استفاده شد. اسانس‌گیری با استفاده از دستگاه کلونجر[5] به روش تقطیر با آب[6] در شرکت شرکت داروسازی خرمّان انجام شد. غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر در صد میلی‌لیتر از هر اسانس، با توجه به حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری (MIC)[7] برای عصاره میوه‌های مختلف، استفاده شدند (*پونس*[8] و همکاران، 2003؛ *موریرا*[9] و همکاران، 2005). آب یونیزه شده و اسید آسکوربیک هم به‌ترتیب به‌عنوان تیمار شاهد و شاهد شیمیایی برای مقایسه توان ضد اکسایشی در نظر گرفته شد.

برای عصاره‌گیری از میوه‌های خام ۱۰ گرم از هر میوه را شسته و با اضافه کردن ۳۰ میلی‌لیتر آب در ۴ درجه سانتی‌گراد در هم‌زن، خورد و کوبیده شدند. محلول حاصل پس از صاف شدن، در ۴ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شد و محلول رویی[10] برای اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز استفاده شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌وسیله اسپکتروفتومتر[11] در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از ماده گایاکول[12] به‌عنوان سوبسترا و پراکسید هیدروژن به‌عنوان دهنده هیدروژن مشخص شد. مخلوط سوبسترا شامل؛ ۱۰ میلی‌لیتر گایاکول ۱٪ + ۱۰ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۰/۳٪ + ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار بودکه pH این مخلوط ۶/۵ در نظر گرفته شد. کووت[13] واکنش نیز شامل؛ ۲/۸۷ میلی‌لیتر مخلوط سوبسترا + ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره میوه خام + ۰/۰۳ میلی‌لیتر آنتی‌اکسیدان (اسانس یا اسید اسکوربیک)، جمعاً به میزان ۳ میلی‌لیتر در نظر گرفته شد. در تیمار شاهد، ۰/۰۳ میلی‌لیتر آب یونیزه شده به جای مقدار آنتی‌اکسیدان به کووت واکنش اضافه شد. به‌منظور مقایسه توان ضد اکسایشی اسانس‌های گیاهی با اسید آسکوربیک، مقدار ۰/۰۳ میلی‌لیتر از این ماده با غلظت ۰/۰۱۷ گرم به ازا ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول، به‌جای مقدار آنتی‌اکسیدان به‌عنوان شاهد شیمیایی به کووت واکنش اضافه شد. در نهایت هر واحد از فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌صورت جذب در یک هزارم دقیقه تعریف و فعالیت آنزیم به‌صورت هر واحد در دقیقه بر گرم قید شد (*پونس* و همکاران، 2004). در جداول ۳ و ۴، اعداد مثبت یا منفی داخل پرانتز نشان‌دهنده درصد کاهش (-) یا افزایش (+) فعالیت آنزیم پراکسیداز است، که میزان افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم را در مقایسه با تیمار شاهد نشان می‌دهد.

محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای مورد نظر به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ فاکتور مرحله کاربرد آنتی‌اکسیدان، منبع آنتی‌اکسیدان و غلظت آنتی‌اکسیدان در ۴ تکرار انجام پذیرفت. مرحله کاربرد در ۲ سطح کاربرد آنتی‌اکسیدان قبل از عصاره‌گیری و بعد از عصاره‌گیری، منبع آنتی‌اکسیدان در ۵ سطح (آویشن باغی، مورد، مرزه

1. Wagner et al.
2. *Thymus vulgaris*
3. *Myrtus communis* L.
4. Satureja khuzistanica Jamzad.
5. Clevenger
6. Hydro-distillation
7. Minimum inhibitory Concentration
8. Ponce et al.
9. Moreira et al.
10. Supernatant
11. Shimadzu coporation, Japan
12. Guaiacol
13. Cuvette

Archive of SID
www.SID.ir

خوزستانی، اسید آسکوربیک و آب مقطر) و غلظت آنتی‌اکسیدان در ۶ سطح شامل اسانس در ۴ غلظت (۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر)، اسید آسکوربیک در یک غلظت (۰/۰۱۷ گرم) و آب مقطر در یک غلظت بعد از عصاره‌گیری (آب خالص) اعمال شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد و با کاربرد نرم افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج (جدول ۱)، اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز با کاربرد اسانس‌های آویشن، مورد و مرزه خوزستانی بر روی میوه‌های مورد بررسی در هر دو مرحله کاربرد آنتی‌اکسیدان قبل از عصاره‌گیری و بعد از عصاره‌گیری وجود دارد. طبق نتایج به‌دست آمده، اثر متقابل مرحله کاربرد آنتی‌اکسیدان در نوع آنتی‌اکسیدان در غلظت آنتی‌اکسیدان معنی‌دار است ($P<0/01$).

جدول ۱: تجزیه واریانس فعالیت آنزیم پراکسیداز قبل و بعد از تیمار اسانس و اسید آسکوربیک

Table 1: Variance analysis of peroxidase enzyme activity in some fruits extracts after and before essence and Ascorbic acid treatments

Mean Square میانگین مربعات	DF درجه آزادی	Source of variations منبع تغییرات
234164.82**	1	Stage (a)
215181.3**	2	Antioxidant (b)
18709.91**	3	Concentration (c)
189121.43**	2	a×b
72486.86**	3	a×c
28095.16**	6	b×c
43795.84**	6	a×b×c
72.23	84	Error
2079529.8	111	Corrected Total (%)
8.03		Coefficient Var

بررسی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در عصاره میوه‌ها بدون افزودن اسانس (جدول ۲)، نشان داد که در مرحله قبل از عصاره‌گیری بالاترین فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به میوه موز با ۴۸۰ واحد در دقیقه بر گرم بود که اختلاف معنی‌داری با سایر میوه‌ها داشت ($p<0/01$). در همین مرحله، بعد از میوه موز به‌ترتیب میوه شلیل دارای فعالیت آنزیم پراکسیداز بالا و بعد از آن فعالیت آنزیم پراکسیداز در میوه‌های گلابی، انگور، آلو، هلو و سیب لبنانی زرد از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم نداشته و در نهایت سیب لبنانی قرمز کم‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز را نشان داد ($p<0/01$). در مرحله بعد از عصاره‌گیری بالاترین فعالیت آنزیم پراکسیداز با اختلاف معنی‌داری به میزان ۷۶۵ واحد در دقیقه بر گرم در میوه آلو مشاهده شد ($p<0/01$). سپس، میوه موز با ۳۷۵ واحد در دقیقه بر گرم فعالیت آنزیم پراکسیداز بالاتری نسبت به سایر میوه‌ها داشت.

جدول ۲: میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در عصاره برخی میوه‌ها بدون افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها

Table 2: value of peroxidase enzyme activity in some fruits extracts without adding antioxidants

Red Delicious	Golden Delicious	Peach	Plum	Grape	Pear	Nectarine	Banana	Stage زمان تیمار	Crude Extract عصاره
157.5 c	180 bc	165 bc	165 bc	165 bc	165 bc	202.5 b	480 a	PE	Enzyme activity (units/min/gr)
180 c	172.5 c	157.5 c	765 a	120 c	135 c	150 c	375 b	A.E	فعالیت آنزِم

P.E = مرحله قبل از عصاره گیری. A.E = مرحله بعد از عصاره گیری.

Each mean within row followed by the same letters are not significantly different at 1%.

Archive of SID

www.SID.ir

فعالیت آنزیم پراکسیداز در میوه‌های شلیل، گلابی، انگور، هلو، سیب لبنانی زرد و سیب لبنانی قرمز از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۱$). با هم نداشته و نسبت به میوه‌های آلو و موز فعالیت آنزیم پراکسیداز کم‌تری در این مرحله از خود نشان دادند (جدول ۲).

به‌طور کلی، در مرحله قبل از عصاره‌گیری (جدول ۳)، اسانس‌های آویشن و مورد در میوه‌های انگور، آلو، هلو و سیب زرد فعالیت ضد اکسایشی کم‌تری نسبت به مرزه خوزستانی دارند که شاید به‌دلیل ترکیب کارواکرول موجود در اسانس مرزه خوزستانی باشد که دارای توان ضد اکسایشی بسیار بالایی است. بنابراین طبق نتایج پژوهش حاضر کاربرد اسانس مرزه خوزستانی قبل از عصاره‌گیری در میوه‌های انگور، آلو، هلو و سیب زرد تاثیر بیش‌تری در جلوگیری از قهوه‌ای شدن آنزیمی دارد.

هم‌چنین، در مرحله بعد از عصاره‌گیری (جدول ۴)، کاربرد اسانس مورد روی میوه‌های موز، آلو، هلو، سیب لبنانی زرد و اسانس آویشن روی میوه‌های گلابی، انگور، آلو و سیب لبنانی قرمز تاثیر معنی‌داری در کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز ندارند. طبق این نتایج، کاربرد اسانس مرزه خوزستانی بعد از عصاره‌گیری در این میوه‌ها توانایی بیش‌تری در کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز خواهد داشت.

همان‌طور که در بالا ذکر شد، اسانس مرزه خوزستانی در مراحل قبل و بعد از عصاره‌گیری روی میوه شلیل و در مرحله بعد از عصاره‌گیری روی میوه گلابی تاثیر معنی‌داری در کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز ندارد.

در یک پژوهش، ارقام مختلف سیب، از لحاظ قابلیت قهوه‌ای شدن به دو دسته ضعیف (ماتسو، فلورینا، ال استار و گلدن) و قوی (رد دلیشز، فوجی، گالا، کانادا، مک اینشتاین، چاردن) تقسیم بندی شده است (*آموئیت*[1] و همکاران، 1992). با توجه به دسته‌بندی فوق، سیب لبنانی زرد دارای قابلیت قهوه‌ای شدن ضعیف و سیب لبنانی قرمز، قابلیت قهوه‌ای شدن قوی دارد. نتیجه بررسی حاضر بر روی سیب لبنانی قرمز و زرد، با نتیجه این پژوهش مطابقت ندارد و در مرحله قبل از عصاره‌گیری در بین میوه‌های مورد بررسی، سیب لبنانی قرمز کم‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز را داشت و هم‌چنین در مرحله بعد از عصاره‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز در سیب لبنانی قرمز و زرد اختلاف معنی‌داری با هم نداشت. در پژوهش دیگر، فعالیت آنزیم پراکسیداز در سیب لبنانی قرمز پایین‌تر از سیب لبنانی زرد بود (علیخانی و همکاران، ۱۳۸۸) که با نتیجه بررسی حاضر، مطابقت دارد. بنابراین عامل یا عوامل دیگری در قهوه‌ای شدن سیب دخالت دارند. در این راستا عامل اصلی قهوه‌ای شدن در ارقام مختلف سیب، مقدار پلی فنول‌ها و میزان فعالیت پلی فنول اکسیداز بیان شده است (حامدی و محمدزاده، ۱۳۸۲).

به‌طور کلی آنزیم پراکسیداز می‌تواند به پراکسید هیدروژن متصل شده و ایجاد یک کمپلکس فعال نماید که در رِنج وسیعی با مولکول‌های دهنده واکنش دهد. بنابراین غیر فعال کردن این آنزیم سبب افزایش مدت نگهداری محصولات کشاورزی می‌شود (*باتا*[2] و همکاران، 1999). هم‌چنین، میزان قند موجود در محصولات کشاورزی (میوه‌ها و سبزی‌ها) در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز موثر است و محلول‌های دارای قند تا حدودی مانع فعالیت آنزیم می‌شوند (سحری، ۱۳۸۱ و *نیکولی* و همکاران، 1991)، به‌دلیل این‌که قند، غلظت اکسیژن نامحلول و نفوذ اکسیژن هوا به داخل میوه را کاهش می‌دهد (سحری، ۱۳۸۱). حتی پراکسیداز می‌تواند برای تعیین میزان گلوکز نیز به‌کار برده شود (حمید و رحمان، 2009). در این پژوهش که بر روی میوه‌ها انجام شده است، میزان فعالیت پراکسیداز کم‌تری در مقایسه با تحقیقاتی که بر روی سبزیجات انجام شده است (علیخانی و همکاران، ۱۳۸۸) به‌دست آمده که شاید یکی از دلایل آن میزان قند کل موجود در محصولات میوه‌ای باشد که بالاتر از محصولات سبزی است و سبب شده تا حدودی مانع فعالیت آنزیم در محصولات میوه‌ای شود. چنان‌چه در پژوهشی که بر روی برخی میوه‌ها و سبزی‌ها (علیخانی و همکاران، ۱۳۸۸) انجام گرفت، در سبزی‌هایی مانند کلم‌پیچ سفید و قرمز، اسفناج، کاهو و سیب‌زمینی، فعالیت بالایی از آنزیم پراکسیداز وجود داشت، که از میزان قند کم‌تری برخوردار بودند.

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز در بین اسانس‌های اعمال شده در میوه‌ها وجود دارد. نتایج یک بررسی نشان داد که استفاده از اسانس آویشن، سبب کاهش تغییرات رنگ و درخشندگی میوه توت‌فرنگی می‌شود و دلیل آن جلوگیری از فعالیت آنزیم پراکسیداز و بالطبع ممانعت از قهوه‌ای شدن آنزیمی توسط اسانس آویشن بیان شد (علیخانی و همکاران، ۱۳۸۸).

1. Amiot *et al.*

2. Buta *et al.*

www.SID.ir

جدول3: تاثیر اسانس‌های مختلف و اسید آسکوربیک روی فعالیت آنزیم پراکسیداز قبل از عصاره گیری میوه‌ها

Table 3: Effect of different antioxidants on peroxidase enzyme activity before fruits extraction

enzyme activity (units/min/gr)								concentration (l/100µ ml) غلظت	Essential oil نوع اسانس	stage
Red Delicious سیب رِد	Golden Delicious سیب گلدن	Peach هلو	Prune آلو	Grape انگور	Pear گلابی	Nectarine شلیل	Banana موز			
97.5 efg (38.09)	172.5 bcd (4.16)	142.5 abc (13.64)	142.5 gh (13.64)	97.5 fgh (40.91)	105 bcde (36.36)	232.5 a (14.81)	75 fghi (84.37)*	50	Thyme آویشن باغی	Application peroxidase enzyme activity before fruits extraction
82.5 efgh (47.62)	127.5 ab (29.17)	90 def (45.45)	135 ghi (18.18)	150 cd (9.09)	90 bcdef (45.45)	225 a (11.11)	67.5 ghi (85.94)	75		
75 fghi (52.38)	165 ab (8.33)	142.5 abc (13.64)	90 hijk (45.45)	90 fghi (45.45)	90 bcdef (45.45)	105 defghi (48.15)	60 hi (87.5)	100		
67.5 ghi (57.14)	150 abc (16.67)	142.5 abc (13.64)	90 hijk (45.45)	142.5 cde (13.64)	90 bcdef (45.45)	67.5 ghij (66.66)	90 efghi (81.25)	200		
75 fghi (52.38)	90 defg (50)	60 ef (63.63)	97.5 hijk (40.90)	262 a (58.79)	75 defg (54.54)	157.5 bcd (22.22)	67.5 ghi (85.94)	50	Myrtle مورد	
45 hi (71.42)	82.5 defgh (54.17)	75 def (54.54)	127.5 ghij (22.72)	120 edf (27.27)	90 bcdef (45.45)	150 bcde (25.92)	52.5 i (89.06)	75		
45 hi (71.42)	75 efgh (58.33)	82.5 def (50)	90 hijk (45.45)	75 ghijk (54.54)	60 efg (63.63)	150 bcde (25.92)	157.5 d (67.19)	100		
82.5 efgh (47.62)	67.5 efgh (62.5)	75 def (54.54)	90 hijk (45.45)	105 edf (36.36)	60 efg (63.63)	60 hij (70.37)	136.5 a (71.56)	200		
97.5 efg (38.09)	52.5 fgh (70.83)	45 f (72.73)	165 g (0)	195 b (18.18)	120 abcd (27.27)	75 ghij (62.96)	−345 l (171.87)	50	Savoury مرزه خوزستانی	
45 hi (71.42)	52.5 fgh (70.83)	45 f (72.73)	135 ghi (18.18)	82.5 fghij (50)	127.5 abc (27.72)	180 abc (11.11)	339 k (170.62)	75		
75 fghi (52.38)	45 gh (75)	45 f (72.73)	135 ghi (18.18)	60 hijk (63.63)	60 efg (63.63)	187.5 abc (7.41)	22.5 j (104.69)	100		
37.5 i (76.19)	37.5 h (79.17)	45 f (72.73)	82.5 ijk (50)	90 fghi (45.45)	37.5 g (77.27)	120 defg (40.74)	21 j (104.37)	200		
52.5 hi (66.67)	37.5 h (79.17)	45 f (72.73)	67.5 k (59.09)	37.5 k (77.27)	37.5 g (77.27)	97.5 efghij (51.85)	90 efghi (81.25)	0.017 (g/100ml)	Ascorbic acid آسکوربیک اسید	
157.5 ab	180 a	165 a	165 g	165 bc	165 a	202.5 ab	480 b	Distilled water آب مقطر	Control شاهد	

*اعداد داخل پرانتز درصد کاهش (علامت-) یا افزایش (علامت +) فعالیت آنزیم پراکسیداز را نشان می‌دهند.

*The numbers within parenthesis indicated decrease or increase percent of peroxidase enzyme activity.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 4: تاثیر اسانس‌های مختلف و اسید آسکوربیک روی فعالیت آنزیم پراکسیداز بعد از عصاره گیری میوه‌ها

Table 4: Effect of different antioxidants on peroxidase enzyme activity after fruits extraction

stage	Essential oil نوع اسانس	concentration (l/100µ ml) غلظت	enzyme activity (units/min/gr)							
			Red Delicious سیب رِد	Golden Delicious سیب گلدن	Peach هلو	Prune آلو	Grape انگور	Pear گلابی	Nectarine شلیل	Banana موز
Application peroxidase enzyme activity after fruits extraction	Thyme آویشن باغی	50	120 bcde (33.33)	82.5 defgh (52.17)	75 def (52.38)	952 b (24.44)	67.5 ghijk (43.75)	75 defg (44.44)	60 hij (60)	127.5 edf (66)*
		75	112.5 cdef (37.5)	60 efgh (65.22)	75 def (52.38)	1020 a (33.33)	75 ghijk (37.5)	60 efg (55.55)	45 j (70)	112.5 edfgh (70)
		100	97.5 efg (45.83)	52.5 fgh (69.56)	45 f (71.42)	592.5 f (22.55)	52.5 ijk (56.25)	75 defg (44.44)	157.5 bcd (5)	135 de (64)
		200	75 fghi (58.33)	37.5 h (78.26)	45 f (71.42)	757.5 e (0.98)	60 hijk (50)	85.5 cdefg (36.66)	112.5 defgh (25)	97.5 efghi (74)
	Myrtle مورد	50	150 abc (16.66)	90 defg (47.82)	67.5 edf (57.14)	637.5 f (16.66)	67.5 ghijk (43.75)	52.5 fg (61.11)	60 hij (60)	142.5 de (62)
		75	142.5 abcd (20.83)	97.5 def (43.47)	105 cde (33.33)	975 ab (27.45)	52.5 ijk (56.25)	45 fg (66.66)	135 efghij (35)	127.5 edf (66)
		100	75 fghi (58.33)	105 cde (39.13)	97.5 cde (38.09)	922.5 bc (20.58)	52.5 ijk (56.25)	45 fg (66.66)	52.5 ij (65)	120 edfg (68)
		200	45 hi (75)	90 defg (47.82)	82.5 def (47.61)	142.5 gh (81.37)	37.5 k (68.75)	60 efg (55.55)	105 defghi (30)	120 edfg (68)
	Savoury مرزه خوزستانی	50	105 defg (41.66)	105 cde (13.39)	112.5 bcd (28.75)	870 cd (13.72)	75 ghijk (37.5)	67.5 efg (50)	90 fghij (40)	90 efghi (76)
		75	75 fghi (58.33)	75 efgh (56.52)	45 f (71.42)	847.5 d (10.78)	60 hijk (50)	90 bcdef (33.33)	135 cdef (10)	120 edfg (68)
		100	82.5 efgh (54.16)	82.5 defgh (52.17)	67.5 edf (57.14)	45 k (94.12)	45 jk (62.5)	105 bcde (22.22)	112.5 defgh (25)	97.5 efghi (74)
		200	37.5 i (79.16)	67.5 efgh (60.87)	67.5 edf (57.14)	847.5 d (10.78)	37.5 k (68.75)	105 bcde (22.22)	157.5 bcd (5)	97.5 efghi (74)
	Ascorbic acid آسکوربیک اسید	0.017 (g/100ml)	52.5 hi (70.83)	60 efgh (65.22)	60 ab (61.9)	75 jk (90.19)	45 jk (62.5)	90 bcdef (33.33)	97.5 efghij (35)	75 fghi (80)
	Control شاهد	Distilled water آب مقطر	180 a	172.5 ab	157.5 ab	765 e	120 edf	135 ab	150 bcde	375 c

*اعداد داخل پرانتز درصد کاهش (علامت-) یا افزایش (علامت +) فعالیت آنزیم پراکسیداز را نشان می‌دهند.

*The numbers within parenthesis indicated decrease or increase percent of peroxidase enzyme activity.

Archive of SID

www.SID.ir

اما در این پژوهش کاربرد اسانس مرزه خوزستانی در موز، هلو، آلو، انگور و سیب لبنانی زرد و قرمز موجب کاهش بیش‌تری از فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه با کاربرد اسانس آویشن شد. اسانس مورد نیز به‌طور پراکنده تاثیر مثبتی در برخی از غلظت‌های به‌کار برده شده در روی میوه‌های مختلف داشت. در این رابطه گزارش شده است که اختلاف معنی‌داری از لحاظ میزان ضد اکسایشی اسانس‌ها در محصولات سبزی مختلف وجود دارد (علیخانی و همکاران، ۱۳۸۸ و *پونس* و همکاران، 2004). هم‌چنین در ادامه گزارشی وجود دارد مبنی بر این‌که که تاثیرگذاری اسانس‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با تغییر منبع آنزیم، تغییر می‌کند (*پونس* و همکاران، 2004). در واقع اختلاف در آنزیم پراکسیداز بر ضد مواد آنتی‌اکسیدان می‌تواند به حضور ایزوآنزیم‌ها نسبت داده شود (*همدا* و *کلین*[1]، 1990). در این راستا ایزوآنزیم‌های مختلف پراکسیداز را از ریشه و ریشه‌های مویین کلم خالص سازی شده است (*آگوستینی*[2] و همکاران، 2002).

طبق گزارش‌های موجود، اسانس‌ها در غلظت‌های پایین (۰/۰۵ و ۰/۰۷۵ درصد) اثر ناچیزی روی فعالیت آنزیم پراکسیداز در سبزی کاهو پیچ دارند و زمانی که غلظت اسانس افزایش می‌یابد، فعالیت آنزیم پراکسیداز در عصاره سبزی‌های کاهو پیچ و اسفناج کاهش می‌یابد (علیخانی و همکاران، ۱۳۸۸). نتیجه پژوهش حاضر با نتیجه این تحقیق مشابه است که در آن غلظت‌های بالاتر اسانس مرزه خوزستانی در کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در عصاره میوه‌های تاثیر بیش‌تری دارند. بنابراین محصولات دارای فعالیت بالای آنزیم پراکسیداز، مقاومت نسبتا بالایی را نسبت به اسانس‌های اعمال شده نشان می‌دهند. در واقع در این‌گونه محصولات آنزیم پراکسیداز دارای پایداری است. از این رو برطرف کردن پایداری پراکسیداز یک مشکل جدی و سخت برای تولید ترکیبات وابسته‌ای است که ارزش اقتصادی دارند (حمید و رحمان، 2009).

در این پژوهش ، فعالیت ضد اکسایشی اسانس‌های به کار رفته با اسید آسکوربیک مقایسه شد. نتایج نشان داد که در کلیه تیمارها کاربرد اسید آسکوربیک قبل و بعد از عصاره‌گیری، سبب کاهش درصد زیادی از فعالیت آنزیم پراکسیداز شده است. استفاده از اسید آسکوربیک سبب می‌شود تا اکسیژن سطحی کم شود و جلوی واکنش خود اکسایشی گرفته شود (سحری، ۱۳۸۱). در این راستا نتیجه‌گیری شده است که کاربرد اسید آسکوربیک تاثیر معنی‌داری بر فعالیت ضد اکسایشی عصاره میوه‌ها در هر دو مرحله قبل و بعد از عصاره‌گیری دارد به گونه‌ای که در پژوهش *پونس* و همکاران (2004) کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در اغلب میوه‌های مورد بررسی به‌طور میانگین بالای ۶۵ درصد بوده است. مطابق نتایج پژوهش حاضر، کاربرد اسید آسکوربیک قبل و بعد از عصاره‌گیری از سیب لبنانی زرد و سیب لبنانی قرمز به‌ترتیب ۷۹/۱۷ و ۶۵/۲۲ درصد و ۶۶/۶۷ و ۷۰/۸۳ درصد از فعالیت آنزیم پراکسیداز را کاهش داد. گزارش‌هایی وجود دارد مبنی بر این‌که اسید آسکوربیک می‌تواند آنزیم‌های موثر در قهوه‌ای شدن سیب را غیر فعال سازد (سحری، ۱۳۸۱). البته این نکته قابل ذکر است که اسانس‌ها علاوه بر خاصیت ضد اکسایشی دارای خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی بوده که این خصوصیت در اسید آسکوربیک دیده نمی‌شود.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی در این پژوهش، در کاربرد اسانس در مرحله قبل از عصاره‌گیری، اسانس‌های آویشن و مورد در میوه‌های انگور، آلو، هلو و سیب زرد فعالیت ضد اکسایشی کم‌تری نسبت به مرزه خوزستانی نشان دادند که احتمالاً در ارتباط با وجود ترکیب کارواکرول به‌عنوان مهم‌ترین ترکیب فعال بیولوژیکی موجود در اسانس مرزه خوزستانی است، که دارای فعالیت ضد اکسایشی بسیار بالایی است. بنابراین طبق نتایج پژوهش حاضر کاربرد اسانس مرزه خوزستانی قبل از عصاره‌گیری در میوه‌های انگور، آلو، هلو و سیب زرد تاثیر بیش‌تری در جلوگیری از قهوه‌ای شدن آنزیمی دارد.

هم‌چنین، در کاربرد اسانس در مرحله بعد از عصاره‌گیری، اسانس مورد روی میوه‌های موز، آلو، هلو، سیب لبنانی زرد و اسانس آویشن روی میوه‌های گلابی، انگور، آلو و سیب لبنانی قرمز تاثیر معنی‌داری در کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز ندارند. طبق این نتایج، کاربرد اسانس مرزه خوزستانی بعد از عصاره‌گیری در این میوه‌ها توانایی بیش‌تری در کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز خواهد داشت. در کل می‌توان اظهار داشت که غلظت‌های بالای اسانس مرزه خوزستانی (عمدتا ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر) نسبت به سایر تیمارها درصد بالایی از فعالیت ضد اکسایشی را نشان دادند.

1. Hemeda and Klein
2. Agostini *et al.*

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

امید بیگی، ر. ۱۳۸۴. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات آستان قدس رضوی. ج ۳. چاپ اوّل. ۶۵۳ صفحه.

حامدی، م.، و محمدزاده میلانی، ج. ۱۳۸۲. حساسیت پنج رقم سیب به قهوه‌ای شدن. مجله علوم کشاورزی ایران. ج۳۴. ش۱، ص۹۶-۹۱.

سحری، م. ع. ۱۳۸۱. شیمی واکنش‌های قهوه‌ای شدن (در مواد غذایی). انتشارات اندیشمند. ۱۲۸ صفحه.

علیخانی، م.، شریفانی، م.، عزیزی، م.، موسوی‌زاده، س. ج. و رحیمی، م. ۱۳۸۸. افزایش عمر انباری و حفظ کیفیت میوه توت‌فرنگی (*Fragaria ananasa* L.) با استفاده از پوشش خوراکی موسیلاژ و اسانس آویشن. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ج۱۶. ش۲، ص۱۰-۱.

علیخانی، م.، شریفانی، م.، موسوی‌زاده، س. ج. و عزیزی، م. ۱۳۸۸. فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخی اسانس‌های گیاهی در خصوص کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز و قهوه‌ای شدن آنزیمی در برخی سبزی‌ها. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ج۱۶. ش ۲، ص ۲۰۷-۲۰۳.

مسکوکی، ع. م. ۱۳۷۷. تکنولوژی تولید اسانس و فرآورده‌های دارویی از گیاهان معطره. گزارش طرح تحقیقات نیمه صنعتی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، مرکز خراسان.

Agostini, E., Hernandez-Ruiz, J., Arnao, M. B., Milrand, S. R., Tigier, H. A. and Acosta, M. 2002. A peroxidase isoenzyme secreted by turnip (*Brassica napus*) hairy-root culture inactivation by hydrogen peroxide and application in diagnostic kits. Biotechnology and Applied Biochemistry. 35:1-7.

Amiot, M. J., Tacchini, M., Aubert, S. and Nicolas J. 1992. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. Journal of Food Science. 57: 958-962.

Azizi, M., Ebrahimpour, A. and Ghani, A. 2007. Effect of essential oils and temperature on storage improvement of Sour cherry. 38th international symposium on essential oils research. 9-12 September, Graz, Austria. P-48.

Buta, J. G., Moline, H. E., Spaulding, D. W. and Wang, C. Y. 1999. Extending shelf-life of fresh-cut apples using natural products and their derivatives. Agricultural and Food Chemistry. 47:1-6.

Farsam, H., Manlou., M., Radpour, M. R., Salehinia, A. N. and Shafiee, A. 2004. Composition of the essential oils of wild and cultivated *Satureja khuzistanica* Jamzad from Iran. Flavour and Fragrant Journal, 9: 308- 310.

Hamid, M. and Rehman, Kh. 2009. Potential applications of peroxidases. Food Biochemistry. 115:1177-1186.

Hemeda, H. M. and Klein, B. P. 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. Food Science. 55.1: 184-186.

Holley. R. A. and Patel, D. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology. 22: 273-292.

Jamzad, Z., 1994. A new species of the genus *Satureja* from Iran. The Iranian Journal of Botny 6(2): 215-218.

Lanciotti, R., Gianotti, A., Patrignani, F., Belletti, N., Gverzoni, M. E. and Gardini, F. 2004. Use of natural aroma compound to improve shelf life and safety of minimally processed fruit. Trend in Food Science and Technology. 15: 201–208.

Moreira, M. R., Ponce, A. G., Delvalle, C. E. and Roura, S. I. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. LWT. 38:565-570.

Nicoli, M. C., Anese, M. and Severini, C. 1994. Combined effects in preventing enzymatic browning reaction in minimally processed Fruit. Journal of Food Quality. 17:221-229.

Nicoli, M. C., Elizalde, B. E., Pitotti, A. and Lerici, C. R. 1991. Effect of sugars and maillard reaction products on polyphenol oxidase and peroxidase activity in food. Journal of Food Biochemistry. 15.3:169-184.

Ponce, A. G., Delvalle, C. E. and Roura, S. L. 2004. Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables. Lebensm. Wiss. U. Technol. 37.2:199-20.

Ponce, A. G., Fritz, R., Delvalle, C. E. and Roura, S. I. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on native microbial population of organic Swiss chard. Lebensm. Wisconsin University of Technology 36.7:679-684.

Serrano, M., Martinez–Romero, D., Castillo, S., Guillen, F. and Valero, D. 2005. The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in Sweet cherry storage. Journal of Innovative food science and Emerging Technologies. 6:115-123.

Ultee, A., Kets, P. E., and Smid, E. J. 1999. Mechanism of action of carvacol on the foodborne poathogen bacillus cereus. Applied and environmental microbiology. 65:4606-4610.

Wagner, H., Wierer, M. and Bauer, R., 1986. Planta Medica, 3: 184-187.

Archive of SID

www.SID.ir

Investigation of Peroxidase Enzyme Activity in Some Fruits by Application of Thyme, Myrtle and Savoury Essential Oils

Ehteshamnia[*1], A., Rezaeinejhad[2]. A. H., Musavizadeh[3]. S. J. and Alikhani koopaei[4]. M.

Abstract

In this experiment, the effect of Thyme, Myrtle and savoury essential oils was evaluated on value of peroxidase enzyme activity in some fruits extractions. Peroxidase enzyme activity using factorial test in randomized completely design with 3 factor including stage of applying antioxidants, source and concentrations of antioxidants. Four concentrations of 50, 75, 100, and 200 µl/100ml from each essential oil were applied. Extractions of Banana, Nectarine, Pear, Plum, Peach, Grape, Golden Delicious and Red Delicious apples fruits used as source of peroxidase enzyme. The antioxidant activity of essential oils was compared to that of ascorbic acid. One unit of enzyme activity is defined as a change in absorbance of 0.001 min^{-1} (units/min/gr).The results revealed that the antioxidant activity of each essential oil was different in the fruits ($p<0.01$). The highest percent antioxidant activity was obtained under applying high concentrations of savoury essential oils in most of fruits than thyme and myrtle essential oils. This result can cause presence of carvacrol in savoury essential oils that have high antioxidant activity.

Keywords: Essential oils, Peroxidase enzyme, Antioxidant activity, Carvacrol

Archive of SID

1. Young Researchers Chub, Khorramabad Branch, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran
2. Assistant professor of plant production, Agriculture college, Lorestan university, Iran
3. Young Researchers Chub, Khorramabad Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
4. Plant production Dept., Agriculture and Natural Resources College of Saravan, Sistan and Baloochestan University, Iran
*:Corresponding author, Email: ab.ehteshamnia@gmail.com

www.SID.ir