



## غیرفعال سازی آنزیم پکتین متیل استراز موجود در آب هویج-کیوی طی فرایند حرارتی

صدف کنودان<sup>۱\*</sup>، امان محمد ضیائی فر<sup>۲</sup>، مهدی کاشانی نژاد<sup>۳</sup>، یحیی مقصدلو<sup>۴</sup>،  
سارا آقاجان زاده سورکی<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۳</sup> استاد گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۴</sup> استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۵</sup> دانش آموخته دکتری، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

دریافت: ۱۳۹۵/۰۱/۲۳؛ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۰۸

### چکیده

**سابقه و هدف:** کدورت در بسیاری از آب میوه‌ها مانند آب هویج-کیوی یک ویژگی مطلوب به شمار می‌رود که پکتین موجود در عصاره مهم‌ترین عامل ایجاد آن است. آنزیم پکتین متیل استراز با تجزیه‌ی پکتین، موجب از بین رفتن کدورت محصول می‌شود. فرایند حرارتی مرسوم‌ترین روش جهت غیرفعال‌سازی این آنزیم است. از این جهت هدف از این پژوهش، بررسی سینتیک غیرفعال‌سازی پکتین متیل استراز موجود در آب هویج-کیوی طی فرآوری حرارتی در دماهای مختلف بود.

**مواد و روش‌ها:** به منظور مطالعه‌ی سینتیک غیرفعال‌سازی آنزیم پکتین متیل استراز، ابتدا آب هویج-کیوی در حمام آب گرم در دماهای ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سلسیوس در بازه‌های زمانی مختلف (متناسب با دما) حرارت‌دهی شد. شاخص  $D$  و  $Z$  و پارامترهای سینتیک وابسته به دما شامل انرژی فعال‌سازی واکنش ( $E_a$ )، انتالپی ( $\Delta H$ )، انتروپی ( $\Delta S$ ) و انرژی آزاد گیبس ( $\Delta G$ ) مربوط به تخریب حرارتی پکتین متیل استراز محاسبه شد.

**یافته‌ها:** بر اساس نتایج به دست آمده، میزان شاخص  $Z$  انواع حساس و مقاوم به حرارت آنزیم پکتین متیل استراز موجود در آب هویج-کیوی طی فرآوری در دماهای ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سلسیوس به ترتیب معادل ۱۷/۸۵ و ۲۲/۲۷ درجه سلسیوس محاسبه شد. میزان  $E_a$  مورد نیاز جهت شروع غیرفعال‌سازی انواع حساس و مقاوم به حرارت این آنزیم موجود در آب هویج-کیوی به ترتیب معادل ۳۵۶/۸۳ و ۲۵۷/۱۷ کیلو ژول بر مول محاسبه شد. همچنین میزان انتالپی غیرفعال‌سازی انواع حساس و مقاوم به حرارت به ترتیب برابر ۳۵۴/۱ تا ۳۵۳/۸ کیلو ژول بر مول و ۲۵۴/۴ تا ۲۵۴/۱ کیلو ژول بر مول تخمین زده شد. طی فرآوری حرارتی آب میوه، میزان انتروپی مربوط به غیرفعال‌سازی دو نوع حساس و مقاوم به حرارت آنزیم به ترتیب برابر ۰/۷۳ تا ۰/۷۳ و ۰/۴۳ تا ۰/۴۳ محاسبه شد. انرژی آزاد گیبس مربوط به غیرفعال‌سازی انواع حساس به حرارت (۹۱/۱ تا ۸۷/۳) و مقاوم به حرارت (۹۷/۹ تا ۹۷/۰) این آنزیم نیز تخمین زده شد. این نتایج نشان‌دهنده‌ی اثر تغییر دما بر ساختار پروتئینی این آنزیم است. علاوه بر این، میزان درصد موثر مرحله‌ی افزایش دمای محصول در تخریب حرارتی انواع حساس و مقاوم به حرارت پکتین متیل استراز موجود در آب هویج-کیوی محاسبه شد.

\* مسئول مکاتبه: sadaf\_kanudan@yahoo.com

نتیجه‌گیری: با در نظر گرفتن درصد موثر مرحله‌ی افزایش دمای محصول و مقاومت حرارتی نوع حساس به حرارت این آنزیم، زمان مورد نیاز جهت پاستوریزاسیون حرارتی آب هویج- کیوی در دماهای ۷۵، ۸۰، ۸۵، ۹۰ و ۹۵ درجه سلسیوس به ترتیب ۲۲/۱۴، ۱۱/۶۱، ۶/۰۹، ۳/۱۹ و ۲/۰۱ دقیقه تخمین زده شد.

واژه‌های کلیدی: آب هویج- کیوی، فرایند حرارتی، آنزیم پکتین متیل استراز، خواص سینتیکی و ترمودینامیکی

## مقدمه

هوچ، منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند کاروتنوئیدها است (۳ و ۴). بتاکاروتن یک ترکیب کارتنوئیدی است که به عنوان پیش‌ساز ویتامین A و عامل ایجاد رنگ نارنجی این محصول شناخته می‌شود؛ از این جهت، مصرف هوچ و فراورده‌های حاصل از آن مانند آب هوچ موجب کاهش خطر ابتلاء به بسیاری از بیماری‌های قلبی-عروقی و انواع سرطان‌ها می‌گردد (۲۵، ۳۲ و ۴۳). آنزیم پکتین متیل استراز<sup>۱</sup> که تحت عناوین پکتیناز<sup>۲</sup>، پکتین‌استراز<sup>۳</sup> و پکتین متوکسیلاز<sup>۴</sup> نیز شناخته می‌شود، به طور طبیعی در گیاهان عالی مانند هوچ وجود دارد (۱۵، ۲۹ و ۳۶). این آنزیم طی آبیگری وارد عصاره میوه شده و با شکستن گروه‌های استری، متیل گالاکتورونیک اسید<sup>۵</sup> را به تدریج تجزیه کرده و موجب کاهش درجه‌ی استریفیکاسیون<sup>۶</sup> آن می‌شود. حاصل واکنش پکتین دمتیله شده<sup>۷</sup> با یون‌های کلسیم، تولید پکتات کلسیم نامحلول است که این عمل موجب از بین رفتن حالت ابری و کدورت مطلوب آب هوچ می‌شود (۷، ۱۶، ۱۸ و ۲۴). این آنزیم دارای انواع مختلف با مقاومت حرارتی متفاوت است. اسپاچس بارو و همکاران (۲۰۰۶) و لی نجوین و همکاران (۲۰۰۳) طی فراوری حرارتی آب هوچ، انواع مختلف پکتین متیل‌استراز با مقاومت حرارتی متفاوت را شناسایی کردند (۱۲ و ۱۹). پایین بودن اسیدیته‌ی آب هوچ (pH حدود ۶) شرایط مطلوبی را برای رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌زا فراهم می‌سازد. از طرفی به دلیل تغییرات ناشی از فعالیت پکتین متیل‌استراز مانند از بین

رفتن حالت ابری محصول، فراوری حرارتی جهت افزایش مدت زمان ماندگاری و حفظ کیفیت آب هوچ امری ضروری به شمار می‌رود (۲۳). با توجه به pH این محصول، استفاده از فرایند حرارتی استریلیزاسیون (دماهای بالاتر از ۱۰۰ درجه سلسیوس) توصیه می‌گردد از طرفی اعمال دماهای بالا می‌تواند موجب افت ارزش غذایی، تغییرات نامطلوب رنگ ناشی از وقوع واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی و بد طعمی فرآورده‌ی نهایی گردد (۴ و ۱۱). اما با تعدیل pH از طریق مخلوط کردن آب هوچ با آب سایر میوه‌ها و سبزی‌های با اسیدیته‌ی بالا مانند کیوی، می‌توان جهت سالم‌سازی محصول از فراوری حرارتی ملایم‌تر تحت عنوان پاستوریزاسیون (دماهای کم‌تر از ۱۰۰ درجه سلسیوس) استفاده نمود (۲۲ و ۲۶). کیوی بومی آسیای جنوبی به ویژه مناطق شمال ایران است. این میوه دارای اسیدیته‌ی بالا (pH حدود ۳) و حاوی ترکیبات مغذی از جمله ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ویتامین E، اسید فولیک و مواد معدنی مانند پتاسیم می‌باشد (۳۷ و ۴۰). از این جهت، با ترکیب آب کیوی و آب هوچ می‌توان ضمن تعدیل و کاهش pH فرآورده‌ی نهایی، محصولی با خواص کیفی مطلوب و ارزش غذایی بالا تولید نمود.

فراوری حرارتی مرسوم‌ترین روش جهت سالم‌سازی و افزایش مدت زمان ماندگاری آب میوه‌ها و سبزی‌های مختلف است. طی اعمال فرایند حرارتی بخشی از مرحله افزایش دمای محصول<sup>۸</sup> دارای اثر کشندگی بر میکروارگانیسم‌ها، آنزیم‌ها و همچنین تخریب ترکیبات مغذی است. از این جهت، بال (۱۹۲۳) بیان داشت که حدود ۴۲ درصد از این مرحله دارای اثر تخریبی بر عوامل فساد در محصولات غذایی است (۶). تاچاکاویت و رامسوامی (۱۹۹۷) طی بررسی تخریب حرارتی آنزیم پکتین متیل‌استراز

1. Pectin methylesterase
2. Pectinase
3. Pectin esterase
4. Pectin methoxylase
5. Galacturonic acid methyl
6. Esterification
7. Demethylation

8. Come up time (CUT)

سپس نمونه‌ها در حمام آب گرم در دماهای ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سلسیوس طی زمان‌های مختلف (متناسب با دما) حرارت‌دهی شدند. اندازه‌گیری دمای هر نمونه با قرار دادن ترموکوپل نوع T با ضخامت یک میلی‌متر در نقطه سرد لوله آزمایش حاوی نمونه (حدود یک سوم انتهایی لوله آزمایش) و ثبت دمای نمونه در هر ثانیه توسط سیستم ثبت کننده داده‌های دمایی (Data Logger) انجام گرفت. بلافاصله پس از فرایند حرارتی، نمونه‌ها در حمام آب یخ تا رسیدن به دما محیط (۲۵ درجه سلسیوس) خنک شدند.

**اندازه‌گیری خواص فیزیکوشیمیایی آب میوه تازه:** اندازه‌گیری pH، اسیدیته، دانسیته، رطوبت، خاکستر و ماده جامد محلول بر اساس روش ارائه شده در AOAC (۲۰۱۲) انجام شد (۵). جهت اندازه‌گیری میزان پالپ، آب میوه به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۱۵۰۰ سانتریفوژ شد و حجم آن بر حسب میلی‌لیتر در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه گزارش شد (۱۴).

**اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پکتین‌متیل‌استراز:** در این بررسی جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پکتین‌متیل‌استراز از روش کیم بال (۱۹۹۱) استفاده شد (۱۶). طبق این روش ۲۰ میلی‌لیتر محلول نمکی پکتین (محلول یک لیتری حاوی ۱۰ گرم پکتین و ۱۵/۳ گرم نمک سدیم کلرید) به ۵ میلی‌لیتر آب هویج-کیوی موجود در یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری اضافه شد. پس از رساندن pH محلول با استفاده از سود ۲ نرمال به حدود ۷، با کمک سود رقیق‌تر (۰/۰۵ نرمال) pH محلول روی ۷/۷ تنظیم شد. پس از آن ۰/۱ میلی‌لیتر سود ۰/۰۵ نرمال به صورت یکباره به نمونه اضافه شد (در دمای ۳۰ درجه سلسیوس). با جای‌گذاری زمان برگشت pH، به میزان قبل از افزودن ۰/۱ میلی‌لیتر سود ۰/۰۵ نرمال، در معادله (۱) میزان فعالیت این

در دماهای ۶۰ تا ۹۰ درجه سلسیوس، میزان اثر مرحله‌ی افزایش دمای محصول بر غیرفعال‌سازی این آنزیم را ۴۶ تا ۵۸ درصد گزارش کردند (۳۴). از این رو، جهت جلوگیری از افت کیفی و تغذیه‌ای محصول و همچنین اتلاف انرژی در اثر حرارت‌دهی بیش از حد، نیاز به محاسبه‌ی درصد اثر این مرحله در غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها و میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. بنابراین هدف از این پژوهش، بررسی سینتیک غیرفعال‌سازی حرارتی آنزیم پکتین‌متیل‌استراز و نیز تخمین درصد موثر مرحله افزایش دمای محصول بر تخریب این آنزیم طی فرایند حرارتی مخلوط آب هویج-کیوی در دماها و زمان‌های مختلف است.

### مواد و روش‌ها

**آماده‌سازی مخلوط آب هویج-کیوی:** جهت تهیه مخلوط آب میوه، هویج (واریته نانتس<sup>۱</sup>) و کیوی (واریته هایوارد<sup>۲</sup>) از بازار محلی شهرستان گرگان خریداری و تا زمان عصاره‌گیری در مکانی خشک و خنک (دمای ۴ درجه سلسیوس) نگهداری شد. پس از شست‌وشو و پوست‌گیری عمل عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه آب میوه‌گیری (Panasonic, MJ- J176P, Japan) انجام گرفت و سپس نمونه‌ها بلافاصله حرارت‌دهی شدند.

**فرایند حرارت‌دهی:** در این تحقیق جهت افزایش سطح تبادل حرارتی و همچنین حرارت‌دهی یکنواخت و سریع‌تر محصول از لوله‌های آزمایش شیشه‌ای (قطر، طول و ضخامت دیواره به ترتیب برابر ۱۵، ۱۶۰ و ۱ میلی‌متر) استفاده شد. جهت اعمال تیمار حرارت‌دهی، ۱۵ میلی‌لیتر آب میوه تازه هویج-کیوی (با نسبت ۴ به ۱ آب هویج به آب کیوی) دارای ۰/۰۱  $\pm$  pH = ۳/۰۵ به لوله‌های آزمایش انتقال داده شد،

1. Nantes
2. Hayward

در معادله (۴)،  $E_a$  انرژی فعال سازی (ژول بر مول)،  $k_0$  ثابت سرعت واکنش (عکس دقیقه)،  $R$  ثابت جهانی گازها (۸/۳۱۴۴ ژول بر مول در درجه کلونین) و  $T$  دمای مطلق (کلونین) است. انتالپی در هر دما بر حسب ژول بر مول و با استفاده از معادله (۵) محاسبه شد:

$$\Delta H = E_a - RT \quad \text{معادله ۵}$$

در معادله (۵)، انرژی فعال سازی برابر (ژول بر مول)،  $R$  ثابت جهانی گازها (۸/۳۱۴۴ ژول بر مول در کلونین) و  $T$  دمای مطلق (کلونین) است. انرژی آزاد گیبس ( $\Delta G$ ) جهت غیرفعال سازی ترکیب شیمیایی مورد نظر در دماهای مختلف (ژول بر مول) بر اساس معادله (۶) به دست آمد:

$$\Delta G = -RT \ln (K_h / K_B T) \quad \text{معادله ۶}$$

در معادله فوق،  $k$  ثابت سرعت واکنش غیرفعال سازی ترکیب (عکس دقیقه)،  $h$  ثابت پلانک ( $10^{-34}$ ) و  $6/623$  ژول در دقیقه،  $k_B$  ثابت بولتزمن ( $10^{-23}$ ) و  $1/381$  ژول بر کلونین) و  $T$  دمای مطلق (کلونین) است. با استفاده از معادلات ۵ و ۶ میزان انرژی ( $\Delta S$ ) ژول بر مول در کلونین طبق معادله (۷) محاسبه شد:

$$\Delta S = (\Delta H - \Delta G) / T \quad \text{معادله ۷}$$

محاسبه درصد موثر مرحله افزایش دمای محصول: بر اساس نظریه اعلام شده توسط تاجاکاویت و رامسوامی (۱۹۹۷)، چنانچه زمان حرارت دهی بیشتر از زمان مرحله افزایش دمای محصول باشد نیاز به در نظر گرفتن یک فاکتور تصحیح (درصد موثر مرحله‌ی افزایش دمای محصول) در محاسبه زمان بهینه‌ی انجام فرایند حرارتی است (۳۴). زمان حرارت دهی موثر

آنزیم<sup>۱</sup> بر حسب واحد PEU در هر میلی‌لیتر نمونه محاسبه شد:

معادله ۱

$$\text{میزان فعالیت آنزیم پکتین متیل استراز (PEU/ml)} = \frac{(0/1 \text{ میلی لیتر سود}) \times (\text{سود } 0/05 \text{ نرمال})}{(\text{زمان بازگشت بر حسب دقیقه}) \times (5 \text{ میلی لیتر نمونه})}$$

پارامترهای ترمودینامیکی و سینتیکی وابسته به دما: تخریب حرارتی ترکیبات شیمیایی اغلب از معادله درجه اول نیمه لگاریتمی (۲) تبعیت می‌کند:

$$\log_e \left( \frac{A}{A_0} \right) = -K \cdot t \quad \text{معادله ۲}$$

در معادله فوق  $A_0$  و  $A$  به ترتیب بیان‌گر میزان اولیه و میزان فعالیت باقی مانده پکتین متیل استراز پس از تیمار حرارتی (میزان فعالیت آنزیم بر میلی‌لیتر)،  $t$  زمان حرارت دهی (دقیقه) و  $K$  ثابت سرعت واکنش (عکس دقیقه) می‌باشد. زمان کاهش اعشاری عبارت است از مدت زمان لازم بر حسب دقیقه جهت کاهش ۹۰ درصد فعالیت پکتین متیل استراز در یک دمای معین که با استفاده از معادله‌ی (۳) محاسبه می‌شود.

$$D = \frac{2.303}{K} \quad \text{معادله ۳}$$

تغییرات زمان کاهش اعشاری در دماهای مختلف بیان‌گر مقاومت حرارتی (شاخص  $Z$ ) آنزیم پکتین متیل استراز است. میزان این شاخص برابر قرینه و معکوس شیب رگرسیون منحنی زمان کاهش اعشاری در برابر دما است.

در این تحقیق، از دو مدل آرنیویس<sup>۲</sup> و ایرینگ<sup>۳</sup> جهت بررسی اثر فرایند حرارتی بر غیرفعال سازی پکتین متیل استراز استفاده شد (۳۴ و ۳۵).

$$k = k_0 e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad \text{معادله ۴}$$

1. Pectin Esterase Unit
2. Arrhenius Model
3. Eyring Model

پکتین متیل استراز در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با استفاده نرم افزار SAS نسخه ۹.۱ در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. میانگین نتایج به دست آمده به روش دانکن در سطح معناداری ۹۵ درصد مقایسه و به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شدند.

### نتایج و بحث

خواص فیزیکوشیمیایی آب هویج-کیوی: تعیین خواص محصول فراوری نشده جهت تفسیر نتایج به دست آمده از آزمون‌های مختلف ضروری است از این جهت، برخی از خواص فیزیکوشیمیایی آب هویج-کیوی تازه در جدول ۱ ذکر شد. بر اساس نتایج به دست آمده، آب میوه هویج-کیوی در گروه محصولات غذایی با اسیدیته بالا ( $\text{pH} > 4/6$ ) طبقه‌بندی می‌شود؛ بنابراین در این پژوهش از حرارت‌دهی در دمای زیر ۱۰۰ درجه سلسیوس جهت مطالعه غیرفعال سازی پکتین متیل استراز استفاده شد.

بر اساس معادله‌ی (۸) و با استفاده از مقاومت حرارتی تصحیح نشده تعیین می‌گردد.

$$t_e = \int_0^t 10^{\frac{T-T_{ref}}{Z}} dt \quad \text{معادله ۸}$$

این مراحل تا جایی تکرار می‌شود که اختلاف میان دو مقاومت حرارتی متوالی کمتر از ۵٪ شود. در نهایت، مدت زمان موثر مرحله‌ی افزایش دمای محصول بر تخریب حرارتی پکتین متیل استراز در هر دما از تقسیم زمان غیرفعال‌سازی آنزیم (زمان محاسبه شده با استفاده از معادله (۸) بر زمان مرحله افزایش دمای محصول محاسبه می‌شود.

معادله ۹

$$\text{درصد موثر زمان افزایش دما} = \frac{\text{مساحت زیر منحنی}}{AB \times BC} \times 100$$

در معادله فوق AB و BC به ترتیب برابر قاعده و ارتفاع منحنی غیرفعال‌سازی (کشدگی) پکتین متیل استراز می‌باشد.

**آنالیز آماری:** در این تحقیق اثر سطوح مختلف دما و زمان حرارت‌دهی بر غیرفعال‌سازی حرارتی آنزیم

جدول ۱: برخی از خواص فیزیکی و شیمیایی آب هویج-کیوی تازه

Table 1. Some physical and chemical properties of fresh carrot-kiwi juice

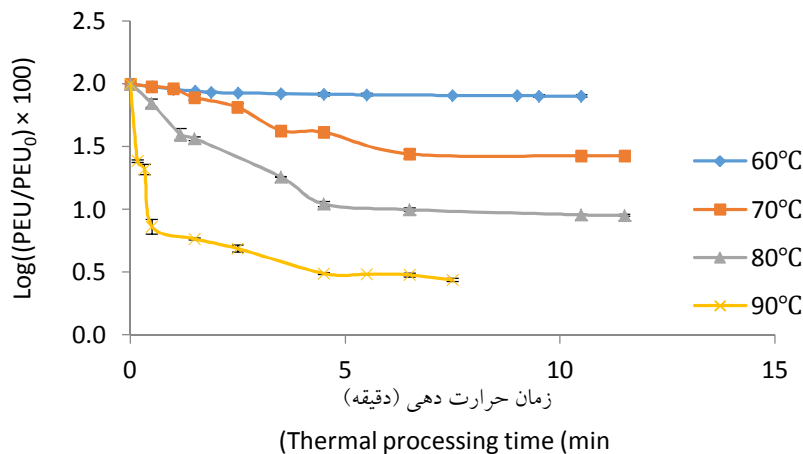
میزان Value	خواص Properties
3.05 ± 0.01	pH
1.03 ± 0.02	دانسیته (گرم بر سانتی متر مکعب) Density (g. cm <sup>-3</sup> )
88.7 ± 0.02	رطوبت (درصد بر مبنای وزن خشک) Humidity (% dry basis)
8.2 ± 0.02	ماده جامد محلول (درجه بریکس) Soluble solids (Brix)
4.9 ± 0.03	اسیدیته (برحسب درصد اسید سیتریک) Acidity (%based on citric acid)
0.6 ± 0.00	خاکستر (درصد بر حسب وزن خشک) Ash (% dry basis)
2.6 ± 0.01	پالپ (درصد) Pulp (%)

\* اعداد موجود در جدول میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار می‌باشند.

\* Mean  $\pm$  Standard Deviation (n=3).

شیب بیش تر) و مقاوم (بخشی از نمودار با شیب کم تر) به حرارت است. در بررسی های انجام شده در زمینه ی نابود سازی حرارتی آنزیم پکتین متیل استراز آب مرکبات نیز انواع مختلفی از این آنزیم با مقاومت های حرارتی متفاوت شناسایی شد. آقا جان زاده سورکی و همکاران (۲۰۱۶) طی فراوری حرارتی آب نارنج در حمام آب گرم در دمای ۶۰ درجه سلسیوس سه نوع و در دماهای ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سلسیوس دو نوع از این آنزیم با مقاومت حرارتی متفاوت شناسایی کردند (۲). همچنین طی فراوری حرارتی آب لیمو ترش در حمام آب گرم و با استفاده از امواج مادون قرمز در دماهای ۶۰ تا ۹۰ درجه سلسیوس دو نوع از این آنزیم شناسایی شد (۱).

مقاومت حرارتی آنزیم پکتین متیل استراز: شکل (۱) نشان دهنده روند غیرفعال سازی آنزیم پکتین متیل استراز در دماهای ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سلسیوس طی فرایند حرارتی در حمام آب گرم است. غیرخطی بودن این نمودار نشان دهنده وجود انواع مختلف آنزیم با مقاومت های حرارتی متفاوت است. به عبارت دیگر چنانچه منحنی غیرخطی تخریب حرارتی آنزیم را بر اساس شیب آن، به بخش های خطی تفکیک کنیم می توان بیان نمود که هر خط مربوط به روند تخریب حرارتی نوعی از آنزیم با مقاومت حرارتی متفاوت است (۱۲ و ۳۴). با توجه به ضریب همبستگی و شیب خط نمودار غیرفعال سازی در هر دما (جدول ۲)، آنزیم پکتین متیل استراز در آب هویج-کیوی دارای دو نوع حساس (بخشی از نمودار با

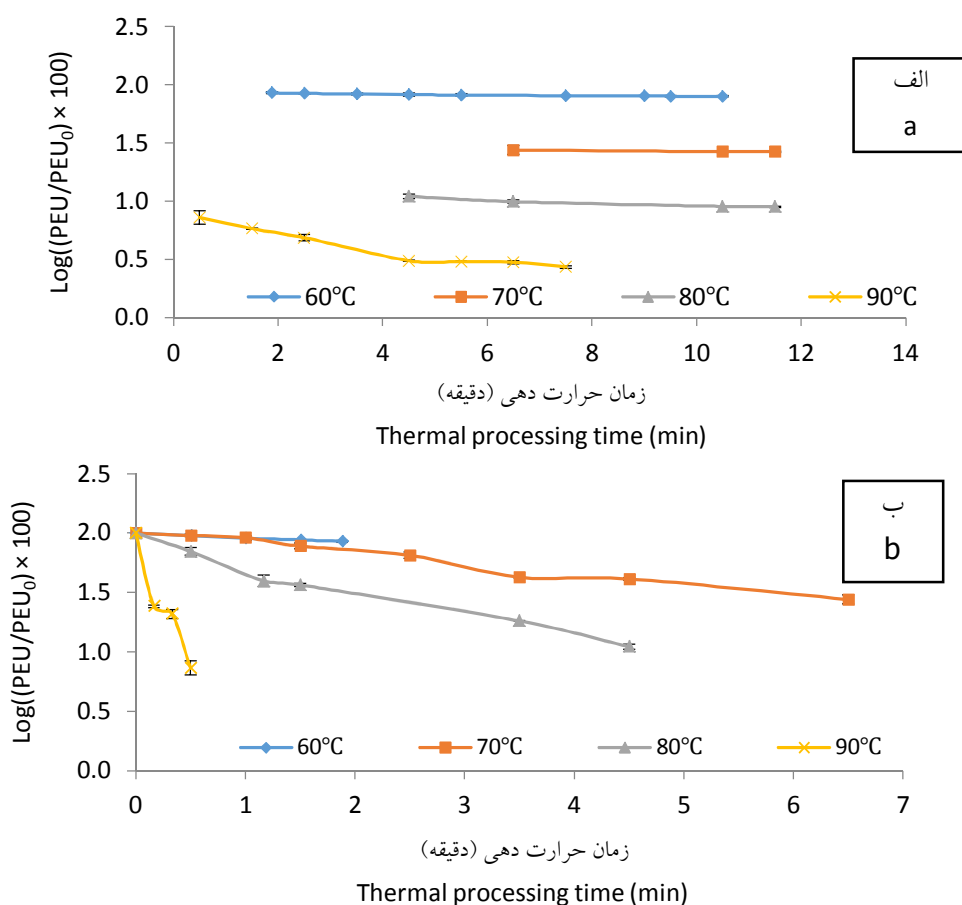


شکل ۱: غیرفعال سازی حرارتی پکتین متیل استراز موجود در آب هویج-کیوی در دماهای مختلف طی فرایند حرارتی  
Figure 1. Thermal inactivation of Pectin methylesterase in the carrot-kiwi juice at different temperatures during thermal processing

و ثابت سرعت واکنش غیرفعال سازی نوع حساس و مقاوم به حرارت آنزیم پکتین متیل استراز طی دماهای مختلف در جدول (۲) ذکر شد. همان گونه که مشاهده می شود با افزایش دمای فراوری، ثابت سرعت غیرفعال سازی حرارتی این آنزیم افزایش یافت. بر اساس مقایسه ی نتایج به دست آمده می توان بیان نمود که با افزایش دما به میزان ۱۰ درجه سلسیوس، زمان

شکل (۲-الف و ب) به ترتیب نشان دهنده روند غیرفعال سازی انواع حساس و مقاوم به حرارت پکتین متیل استراز موجود در آب هویج-کیوی می باشد. نتایج حاصل از آنالیز واریانس (ANOVA) نشان داد که سطوح متفاوت دما و زمان حرارت دهی آب هویج-کیوی تاثیر معناداری در غیرفعال سازی این آنزیم داشتند ( $P < 0.05$ ). زمان های کاهش اعشاری

غیرفعال‌سازی نوع حساس و مقاوم به حرارت این آنزیم به طور میانگین ۵/۰۷ و ۳/۲۲ برابر کاهش یافت.



شکل ۲: غیرفعال‌سازی حرارتی نوع حساس (الف) و مقاوم به حرارت (ب) آنزیم پکتین‌متیل‌استراز موجود در آب هویج-کیوی در دماهای مختلف.

Figure 2. Thermal inactivation of labile (a) and stable (b) isoforms of Pectin methylesterase in the carrot-kiwi juice at different temperature.

جدول ۲: ثابت سرعت واکنش و زمان کاهش اعشاری غیرفعال‌سازی نوع حساس و مقاوم به حرارت پکتین‌متیل‌استراز آب هویج-کیوی طی فرایند حرارتی در دماهای مختلف.

Table 2. The reaction rate constant and decimal reduction time for inactivation of labile and stable Pectin methylesterase isoforms in the carrot-kiwi juice during thermal processing at different temperature.

ضریب همبستگی Correlation coefficient	زمان کاهش اعشاری Decimal reduction time (min)	ثابت سرعت واکنش Reaction rate constant (min <sup>-1</sup> )	دما (°C) Temperature (°C)	نوع Isoform
0.98	62.9	0.04	60	حساس به حرارت Heat labile
0.97	25.0	0.09	70	
0.96	11.6	0.20	80	
0.92	1.10	2.09	90	
0.93	742.9	0.003	60	مقاوم به حرارت Heat stable
0.98	719.7	0.003	70	
0.95	184.2	0.013	80	
0.92	37.4	0.062	90	



شاخص‌های Z مربوط انواع حساس و مقاوم به حرارت پکتین متیل استراز با رسم منحنی نیمه لگاریتمی تغییرات زمان کاهش اعشاری در برابر دما تعیین شد. بر این اساس میزان مقاومت حرارتی نوع حساس و مقاوم به حرارت این آنزیم با ضریب همبستگی بالا ( $R^2 > 0.92$ ) به ترتیب برابر ۱۷/۸۵ و ۲۲/۲۷ درجه سلسیوس تخمین زده شد. تاچاکاویت و رامسوامی (۱۹۹۷) طی حرارت‌دهی آب پرتقال، مقاومت حرارتی دو نوع مقاوم و حساس به حرارت این آنزیم را به ترتیب برابر ۳۱/۱ و ۱۷/۶ درجه سلسیوس گزارش کردند (۳۴). سیو و همکاران (۲۰۰۱) مقاومت حرارتی پکتین متیل استراز موجود در آب پرتقال را در دامنه دمایی ۹۵-۷۵ و همچنین ۸۵-۷۵ و ۹۰/۲ و ۱۶/۴ درجه سلسیوس گزارش کردند. آن‌ها دلیل اختلاف در میزان این شاخص را غیرفعال سازی انواع مختلف آنزیم طی فرایند حرارتی در دماهای متفاوت دانستند (۳۳). همچنین چن و وو (۱۹۹۸) مقاومت حرارتی پکتین متیل استراز واریته‌های مختلف در آب مرکبات برای انواع حساس به حرارت در محدوده ۱۰/۸ تا ۱۷/۶ درجه سلسیوس و برای انواع مقاوم به حرارت در محدوده ۶/۵ تا ۳۱/۱ درجه سلسیوس گزارش کردند (۱۰). به‌طورکلی نتایج حاصل از مطالعات انجام شده پیرامون غیرفعال‌سازی پکتین متیل استراز نشان‌دهنده این موضوع است که مقاومت حرارتی این آنزیم به نوع، رقم، pH، میزان مواد جامد محلول محصول و روش استخراج عصاره بستگی دارد. با توجه به این موضوع، تفاوت میان مقاومت حرارتی اندازه‌گیری شده در این بررسی با نتایج گزارش شده توسط سایر محققان روی محصولات مختلف فرآوری شده تحت شرایط متفاوت، قابل درک است (۱۰، ۱۶، ۲۱ و ۲۸).

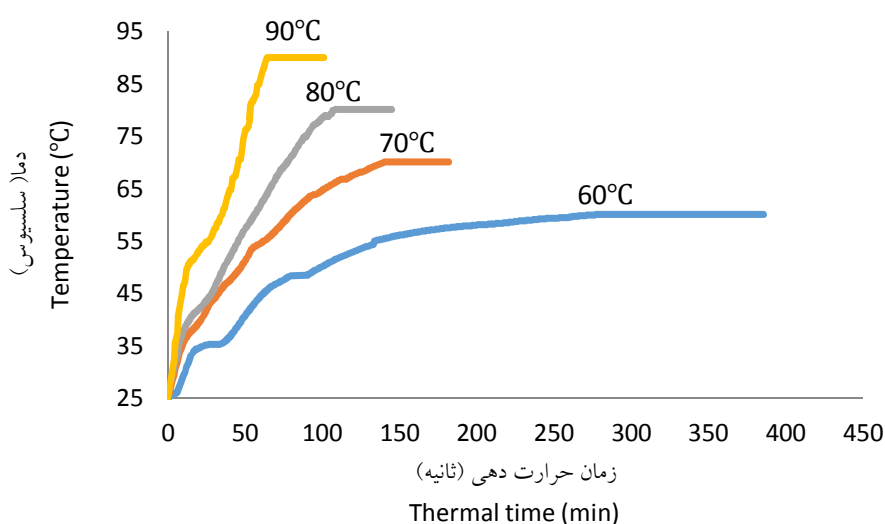
سنیتیک غیرفعال‌سازی حرارتی آنزیم پکتین متیل- استراز موجود در آب هویج- کیوی: در این بررسی نیز با توجه به شیب خط حاصل از نمودار ثابت سرعت واکنش، انرژی فعال‌سازی پکتین متیل استراز آب میوه هویج- کیوی برای دو نوع حساس و مقاوم به حرارت به ترتیب برابر ۳۵۶/۸۳ و ۲۵۷/۱۷ کیلو ژول بر مول محاسبه شد. انرژی فعال‌سازی میزان انرژی مورد نیاز برای شروع یک واکنش است و کم‌تر بودن آن به معنی افزایش نرخ تخریب یک ترکیب به ازای میزان تغییرات دمایی بیش‌تر است (۳۹ و ۴۲). غیرفعال‌سازی پکتین متیل استراز طی فرایند حرارتی ناشی از شکسته شدن پیوندهای هیدروژنی، باز شدن ساختار سه بعدی پروتئینی و همچنین دآمی‌داسیون حرارتی اسیدهای آمینه موجود در ساختار آنزیم می‌باشد (۳۵). تغییرات میزان انتالپی، انترپی، انرژی آزاد گیبس به منظور غیرفعال‌سازی حرارتی آنزیم پکتین متیل استراز موجود در آب میوه هویج- کیوی در جدول (۳) ذکر شد. بالا بودن مقادیر پارامترهای ترمودینامیکی مختلف محاسبه شده در این پژوهش نشان‌گر مقاومت حرارتی بالای این آنزیم می‌باشد.

محاسبه درصد موثر مرحله افزایش دمای محصول: شکل (۳) نشان‌دهنده‌ی چگونگی تغییرات دمای آب میوه از دمای اولیه (دمای محیط) به دمای مورد نظر در مرحله افزایش دمای محصول می‌باشد. با توجه به این که بخشی از این مرحله دارای اثر کشندگی بر میکروارگانیسم‌ها و همچنین غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها است، جهت جلوگیری از افت کیفی و تغذیه‌ای محصول و همچنین اتلاف انرژی در اثر حرارت‌دهی بیش از حد، میزان درصد اثر این مرحله در غیرفعال‌سازی آنزیم پکتین متیل استراز محاسبه شد.

جدول ۳: تغییرات پارامترهای ترمودینامیکی غیرفعال‌سازی پکتین متیل‌استراز طی فرآوری حرارتی آب هویج- کیوی

Table 3. Thermodynamic properties changes of Pectin methylesterase inactivation during carrot-kiwi juice thermal processing.

انرژی Entropy (kJ.mol <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> )	انرژی آزاد گیبس free energy (kJ.mol <sup>-1</sup> )	انتالپی Enthalpy (kJ.mol <sup>-1</sup> )	دما Temperature (°C)	نوع آنزیم Type of isoform
0.79	91.1	354.1	60	حساس به حرارت thermal labile
0.77	91.3	353.0	70	
0.74	91.7	353.9	80	
0.73	87.3	353.8	90	
0.47	97.9	254.4	60	مقاوم به حرارت thermal stable
0.45	100.8	254.3	70	
0.44	99.9	254.2	80	
0.43	97.0	254.1	90	



شکل ۳: تغییرات دمای آب هویج- کیوی طی فرآوری حرارتی در دمای ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سلسیوس.

Figure 3. Temperature profile of carrot- kiwi juice during thermal processing at 60, 70, 80 and 90°C

غیرفعال‌سازی نوع مقاوم به حرارت پکتین متیل‌استراز در دماهای ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سلسیوس به ترتیب برابر ۶۶، ۴۶، ۴۴ و ۲۶ درصد محاسبه شد. در این تحقیق، میزان PME در آب هویج- کیوی تازه برابر  $6/1 \times 10^{-4}$  (Unit/ml) و میزان فعالیت باقی‌مانده‌ی این آنزیم پس از فرایند حرارتی در دماهایی ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سلسیوس به ترتیب برابر  $3/86 \times 10^{-5}$ ،  $6/36 \times 10^{-5}$ ،  $4/23 \times 10^{-5}$  و  $2/1 \times 10^{-5}$  واحد در هر میلی‌لیتر بود. بر اساس نتایج گزارش شده توسط روچیلد و همکاران (۱۹۷۵) و سیو و همکاران (۲۰۰۱) زمانی آب میوه از نظر

براساس نظریه‌ی اعلام شده توسط تاجاکاویت و رامسوامی (۱۹۹۷)، در این بررسی جهت تعیین میزان اثر این مرحله با توجه به بیشتر بودن زمان حرارت دهی نسبت به زمان مرحله‌ی افزایش دمای محصول، نیاز به در نظر گرفتن یک فاکتور تصحیح جهت محاسبه‌ی زمان بهینه حرارت‌دهی است (۳۴). با استفاده از شاخص Z نوع حساس به حرارت و همچنین معادله (۸)، درصد موثر مرحله‌ی افزایش دمای محصول در دماهای ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سلسیوس به ترتیب برابر ۵۵، ۴۳، ۳۶ و ۲۲ درصد تخمین زده شد. همچنین میزان اثر این مرحله بر

این‌رو، غیرفعال‌سازی این آنزیم جهت حفظ کیفیت محصول امری حائز اهمیت است. در این پژوهش طی حرارت‌دهی آب هویج- کیوی، در دماهای ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سلسیوس، دو نوع پکتین‌متیل‌استراز با مقاومت‌های حرارتی متفاوت شناسایی شد. شاخص-های حرارتی D و Z آنزیم پکتین‌متیل‌استراز نیز با استفاده از منحنی غیرفعال‌سازی آن محاسبه شد. نتایج به‌دست آمده از محاسبه‌ی انتالپی و انتروپی نشان-دهنده‌ی اثر ناچیز تغییر دما بر ساختار پروتئینی این آنزیم است. انرژی آزاد گیبس معیاری جهت ارزیابی میزان خودبخودی واکنش می‌باشد از سوی دیگر بالاتر بودن میزان آن نشان‌دهنده پایداری بالای آنزیم پکتین‌متیل‌استراز آب هویج- کیوی نسبت به دما است. درصد اثر مرحله‌ی افزایش دمای محصول با استفاده از شاخص‌های Z و D این آنزیم تخمین زده شد که می‌توان از آن در تعیین زمان فرایند حرارتی، به منظور جلوگیری حرارت‌دهی بیش از حد محصول استفاده نمود.

#### منابع

1. Aghajanzadeh, S., Kashaninejad, M., and Ziaifar, A.M. 2016. Effect of infrared heating on degradation kinetics of key lime juice physicochemical properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 38, 139-148.
2. Aghajanzadeh, S., Ziaifar, A.M., Kashaninejad, M., Maghsoudlou, Y., and Esmailzadeh, E. 2016. Thermal inactivation kinetic of pectin methylesterase and cloud stability in sour orange juice. *Journal of Food Engineering*, 185: 72-77.
3. Alasalvar, C., Grigor, J.M., Zhang, D., Quantick, P. C., and Shahidi, F. 2001. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(3): 1410-1416.

تجاری دارای پایداری است که میزان فعالیت باقیمانده آنزیم PME در آن برابر و یا کوچک‌تر از (unit/ml)<sup>-۴</sup> باشد (۳۳ و ۳۶). از این جهت با توجه به میزان فعالیت اولیه‌ی آنزیم و میزان باقی‌مانده‌ی نوع حساس به حرارت آن، آب هویج- کیوی پس از اعمال فرایند حرارتی به میزان ۱D به پایداری مورد نظر از نظر تجاری خواهد رسید. با استفاده از معادله‌ی (۸) مدت زمان مورد نیاز جهت پاستوریزاسیون آب هویج- کیوی محاسبه گردید. با در نظر گرفتن دمای ۸۰°C به عنوان دمای مرجع، زمان مورد نیاز جهت فرایند حرارتی در دماهای ۷۵، ۸۰، ۸۵، ۹۰ و ۹۵ درجه سلسیوس به ترتیب برابر به ترتیب به مدت ۲۲/۱۴، ۱۱/۶۱، ۶/۰۹، ۳/۱۹ و ۲/۰۱ دقیقه محاسبه شد.

#### نتیجه‌گیری کلی

کدورت در آب هویج و مخلوط آن با سایر آب میوه‌ها یک ویژگی مطلوب در نظر گرفته می‌شود که تحت تاثیر فعالیت آنزیم پکتین‌متیل‌استراز می‌باشد؛ از

4. Allothman, M., Bhat, R., and Karim, A. 2009. UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 10: 4. 512-516.
5. AOAC. 2012. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC: AOAC, Ed. 19.
6. Ball, C.O. 1923. Thermal process time for canned food. Published by the National Research Council of The National Academy of Sciences.
7. Bordenave, M., and Goldberg, R. 1993. Purification and characterization of pectin methylesterases from mung bean hypocotyl cell walls. *Phytochemistry*. 33: 5. 999-1003.
8. Byers, T., and Guerrero, N. 1995. Epidemiologic evidence for vitamin C and vitamin E in cancer prevention. *The*

- American Journal of Clinical Nutrition. 62 (2): 1385-1392.
9. Cameron, R.G., Baker, R.A., and Grohman, K. 1998. Multiple forms of pectinmethylesterase from citrus peel and their effects on juice cloud stability. *Journal of Food Science*. 63(2): 253-256.
  10. Chen, C., and Wu, M. 1998. Kinetic models for thermal inactivation of multiple pectinesterases in citrus juices. *Journal of Food Science*. 63 (5): 747-750.
  11. Ercan, S.Ş., and Soysal, Ç. 2011. Effect of ultrasound and temperature on tomato peroxidase. *Ultrasonics Sonochemistry*. 18(2): 689-695.
  12. Espachs-Barroso, A., VanLoey, A., Hendrickx, M., and Martín-Belloso, O. 2006. Inactivation of plant pectin methylesterase by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. *Innovative food Science & Emerging Technologies*. 7(1): 40-48.
  13. Eyring, H. 1935. The activated complex and the absolute rate of chemical reactions. *Chemical Reviews*. 17(1): 65-77.
  14. Hsieh, C.-W., and Ko, W.-C. 2008. Effect of high-voltage electrostatic field on quality of carrot juice during refrigeration. *LWT-Food Science and Technology*. 41(10): 1752-1757.
  15. Kertesz, Z.I. 1951. The pectic substances. Vol. 1: Interscience Publishers New York.
  16. Kimball, D.A. 1991. Citrus processing-quality control and technology, New York: Van Nostrand Reinhold, 117-243.
  17. Kuldiloke, J. 2002. Effect of ultrasound, temperature and pressure treatments on enzyme activity and quality indicators of fruit and vegetable juices. PhD TU-Berlin.
  18. Ly-Nguyen, B., Loey, AV., AM., Fachin, D., Verlent, I., Duvetter, T., Vu, ST., Smout, C., and Hendrickx, ME. 2002. Strawberry Pectin Methylesterase (PME): Purification, Characterization, Thermal and High-Pressure Inactivation. *Biotechnology Progress*. 18(6): 1447-1450.
  19. Ly-Nguyen, B., Loey, AV., Smout, C., ErenÖzcan, S., Fachin, D., Verlent, I., Truong, S.V., Duvetter, T., and Hendrickx, ME. 2003. Mild-Heat and High-Pressure Inactivation of Carrot Pectin Methylesterase: A Kinetic Study. *Journal of Food Science*. 68(4): 1377-1383.
  20. Marques-Vidal, P., Ravasco, P., and Camilo, M.E. 2006. Foodstuffs and colorectal cancer risk: a review. *Clinical Nutrition*. 25(1): 14-36.
  21. Marshall, M., Marcy, J., and Braddock, R.J. 1985. Effect of total solids level on heat inactivation of pectinesterase in orange juice. *Journal of Food Science*. 50(1): 220-222.
  22. Marx, M., Schieber, A., and Carle, R. 2000. Quantitative determination of carotene stereoisomers in carrot juices and vitamin supplemented (ATBC) drinks. *Food Chemistry*. 70(3): 403-408.
  23. Patterson, M.F., Patterson, M.F., McKay, AM., Connolly, M., and Linton, M. 2012. The effect of high hydrostatic pressure on the microbiological quality and safety of carrot juice during refrigerated storage. *Food Microbiology*, 30(1): 205-212.
  24. Polydera, A., Galanou, E., Stoforos, N.G., and Taoukis, PS. 2004. Inactivation kinetics of pectin methylesterase of greek Navel orange juice as a function of high hydrostatic pressure and temperature process conditions. *Journal of Food Engineering*. 62(3): 291-298.
  25. Rakcejeva, T., Augspole, I., Dukalska, L., and Dimins, F. 2012. Chemical composition of variety 'Nante' hybrid carrots cultivated in Latvia. *J World Acad Sci Eng Technol*. 6(4): 901-907.
  26. Rivas, A., Rivas, A., Rodrigo, D., Martínez, A., Barbosa-Cánovas, G.V., and Rodrigo, M. 2006. Effect of PEF and heat pasteurization on the physical-chemical characteristics of blended orange and carrot juice. *LWT-Food Science and Technology*. 39(10): 1163-1170.
  27. Rodriguez-Amaya, D. 1993. Stability of carotenoids during the storage of foods. *Developments in food Science*.
  28. Rouse, A. 1953. Distribution of pectinesterase and total pectin in component parts of citrus fruits. *Food Technology*. 7(9): 360-362.

29. Rouse, A., and Atkins, C. 1955. Pectinesterase and pectin in commercial citrus juices as determined by methods used at the Citrus Experiment Station.
30. Rothschild G, Vanvliet C and Karsenty A, 1975. Pasteurization conditions for juices and comminuted products of Israeli citrus fruits. *Food Technology*, 10: 29-38.
31. Sensoy, I., Zhang, Q.H., and Sastry, S.K. 1997. Inactivation kinetics of Salmonella dublin by pulsed electric field. *Journal of Food Process Engineering*. 20(5): 367-381.
32. Sharma, K.D., Karki, S., Thakur, N.S., and Attri, S. 2012. Chemical composition, functional properties and processing of carrot-a review. *Journal of Food Science and Technology*. 49(1): 22-32.
33. Sio, F., Palmieri, A., Servillo, L., Giovane, A., and Castaldo, D. 2001. Thermoresistance of pectin methylesterase in Sanguinello orange juice. *Journal of Food Biochemistry*. 25(2): 105-115.
34. Tajchakavit, S., and Ramaswamy, H. 1997. Thermal vs. Microwave Inactivation Kinetics of Pectin Methylesterase in Orange Juice Under Batch Mode Heating Conditions. *LWT-Food Science and Technology*. 30(1): 85-93.
35. Tanaka, A., and Hoshino, E. 2003. Similarities between the thermal inactivation kinetics of Bacillus amyloliquefaciens $\alpha$ -amylase in an aqueous solution of sodium dodecyl sulphate and the kinetics in the solution of anionic-phospholipid vesicles. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 38(2): 175-181.
36. Tiwari, B., Muthukumarappan, K., O'donnell, CP., and Cullen, PJ. 2009. Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 10(2): 166-171.
37. Vandresen, S., Quadri, MG., de Souza, JA., and Hotza, D. 2009. Temperature effect on the rheological behavior of carrot juices. *Journal of Food Engineering*. 92(3): 269-274.
38. Versteeg, C., Rombouts, FM., Spaansen, CH., and Pilnik, W. 1980. Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange. *Journal of Food Science*. 45(4): 969-971.
39. Vikram, V., Ramesh, M., and Prapulla, S. 2005. Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. *Journal of Food Engineering*. 69(1): 31-40.
40. Wang, T., and Gleave, A.P. 2012. Applications of Biotechnology in Kiwifruit (Actinidia).: Intech Open Access Publisher.
41. Wicker, L., and Temelli, F. 1988. Heat inactivation of pectinesterase in orange juice pulp. *Journal of Food Science*. 53(1): 162-164.
42. Yeom, H., Zhang, Q., and Chism, G. 2002. Inactivation of pectin methyl esterase in orange juice by pulsed electric fields. *Journal of Food Science*. 67(6): 2154-2159.
43. Zhou, L., Wang, Y., Hu, X., Wu, J., and Liao, X. 2009. Effect of high pressure carbon dioxide on the quality of carrot juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 10(3): 21-327.



## Investigation of pectin methylesterase inactivation during thermal processing of carrot-kiwi juice

S. Kanudan<sup>1\*</sup>, A.M. Ziaifar<sup>2</sup>, M. Kashaninejad<sup>3</sup>, Y. Maghsoudlou<sup>4</sup>,  
S. Aghajanzadeh Suraki<sup>5</sup>

<sup>1</sup>MSc. Graduate, Department of Food Materials and Process Design Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Food Materials and Process Design Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

<sup>3</sup>Professor, Department of Food Materials and Process Design Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

<sup>4</sup>Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

<sup>5</sup>PhD. Graduated, Department of Food Materials and Process Design Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 2016/04/11; Accepted: 2016/10/29

### Abstract

**Background and objectives:** Turbidity is a desirable property in some juices such as carrot-kiwi juice that is influenced by the presence of released pectin. Pectin methylesterase (PME) causes turbidity loss in the juice because of desterification of the pectin. Thermal processing is the most common method to PME inactivation. The aim of this study was investigation of PME inactivation during thermal processing of carrot-kiwi juice at different temperature.

**Materials and methods:** To study the PME inactivation, the carrot-kiwi juice was heated at 60, 70, 80 and 90 °C at different time (proportional to the temperature). D and Z-value and thermal dependence kinetic parameters consisting of activation energy ( $E_a$ ), enthalpy ( $\Delta H$ ), entropy ( $\Delta S$ ) and free energy ( $\Delta G$ ) of the thermal inactivation of PME were calculated.

**Results:** Based on the obtained results, the Z-values of heat sensitive and heat resistant isoforms of PME in the juice during processing at 60, 70, 80 and 90 °C were calculated 17.85 °C and 22.27 °C, respectively. The required  $E_a$  to inactivate the heat sensitive and heat resistant isoforms of PME in the carrot-kiwi juice were 356.83 kJ/mol and 257.17 kJ/mol, respectively. Also, enthalpy for inactivation of the heat sensitive and heat resistant isoforms ranged between 354.1 to 353.8 kJ.mol<sup>-1</sup> and 254.4 to 254.1 kJ.mol<sup>-1</sup>, respectively. During the juice thermal processing, the entropy of the inactivation of the heat sensitive and heat resistant isoforms were calculated 0.79 to 0.73 K<sup>-1</sup>.kJ.mol<sup>-1</sup> and 0.47 to 0.43 K<sup>-1</sup>.kJ.mol<sup>-1</sup>, respectively. The free energy related to the inactivation of the heat sensitive (91.1 to 87.3 kJ.mol<sup>-1</sup>) and heat resistant (97.9 to 97.0 kJ.mol<sup>-1</sup>) isoforms of PME were measured. These results represent the effect of temperature on the protein structure of the PME. In addition, the effectiveness percentage of the come up time (CUT) on inactivation of the heat sensitive and heat resistant isoforms of PME in the carrot- kiwi juice were computed.

**Conclusion:** By considering the effect of come up time and thermal resistance of the heat sensitive isoform of PME, the required pasteurization time for carrot- kiwi juice at 75, 80, 85, 90 and 95 °C were 22.14, 11.61, 6.09, 3.19 and 2.01 min, respectively.

**Keywords:** Carrot-kiwi juice, Thermal processing, Pectin methylesterase, Kinetic and thermodynamic properties.

\* Corresponding author: sadaf\_kanudan@yahoo.com