اثر اسانس سه گیاه دارویی بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در کلم بروکلی (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*)

مرضیه فصیح[1]، مجید قربانی نهوجی[2]، عبدالرحمان رحیمی[3]*

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران
۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران
۳- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران
* آدرس مکاتبه: سنندج، چهار راه سعدی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، دانشکده کشاورزی
صندوق‌پستی: ۶۱۸، کدپستی: ۶۶۱۶۷۶۷۱۹۳
تلفن: ۳۳۳۶۷۱۱۰ (۰۸۷)، نمابر: ۳۳۳۶۷۱۰۰ (۰۸۷)
پست الکترونیک: abdolrahmanrahimi60@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۲۱ **تاریخ تصویب:** ۹۵/۲/۱۵

چکیده

مقدمه: فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز منجر به قهوه‌ای شدن آنزیمی و سبب تغییرات نامطلوب کیفی در میوه‌ها و سبزی‌ها می‌شود.

هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثر اسانس‌های گیاهی بر کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در قهوه‌ای شدن آنزیمی کلم بروکلی می‌باشد.

روش بررسی: گل‌آذین‌های کلم بروکلی در دو شرایط **in vitro** و **in vivo** با آب مقطر (شاهد)، اسید آسکوربیک (۱۷ پی‌پی‌ام) و غلظت‌های ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس‌های پونه، زیره سیاه و زیره سبز تیمار شدند و سپس فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز ارزیابی شدند.

نتایج: در شرایط **in vitro** اسانس زیره سبز در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و اسانس زیره سیاه در تمامی غلظت‌های مورد استفاده؛ در شرایط **in vivo** غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسانس پونه، ۵۰۰ و ۷۵۰ پی‌پی‌ام اسانس زیره سیاه، تمامی غلظت‌های اسانس زیره سبز و اسید اسکوربیک به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم پراکسیداز کلم بروکلی را نسبت به شاهد کاهش دادند. همچنین غلظت‌های ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسانس پونه و زیره سیاه، غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس زیره سبز و تیمار اسید اسکوربیک به طور چشمگیری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را نسبت به تیمار شاهد در شرایط **in vivo** کاهش دادند. بالاترین فعالیت بازدارندگی علیه پلی فنل اکسیداز و پرکسیداز به‌ترتیب توسط غلظت‌های ۵۰۰ و ۷۵۰ پی‌پی‌ام اسانس زیره سیاه و در شرایط **in vivo** به دست آمد.

نتیجه‌گیری: اسانس‌های مورد استفاده در این پژوهش بسته به غلظت مورد استفاده، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز را در کلم بروکلی کاهش دادند.

گل‌واژگان: آنتی‌اکسیدان، اسانس، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کلم بروکلی

www.SID.ir

مقدمه

تولید محصولات ارگانیک نیازمند عدم استفاده از مواد شیمیایی در خلال فرایندهای پس از برداشت می‌باشد. روش‌های مختلفی جهت حفظ محصولات به کار می‌رود و اسانس‌های طبیعی با توجه به خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌توانند جایگزین روش‌های معمول شوند [۱].

کلم بروکلی (*Brassica oleracea* L.var. *Italica*) یکی از سبزیجات معمول و متعلق به خانواده شب بو (Brassicaceae) می‌باشد که به دلیل وجود ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات ضد سرطانی از ارزش غذایی زیادی برخوردار است [۳، ۲]. در میان ترکیبات فعال موجود در بروکلی، فنل‌ها، ویتامین‌ها، کاروتنوئیدها [۴] و فلاونوئیدها [۵] مورد توجه می‌باشند. کلم بروکلی تازه بسیار آسیب‌پذیر بوده و طول عمر انبارداری آن بسیار کوتاه می‌باشد، عمر پس از برداشت آن در محدوده سه تا چهار هفته در دمای صفر درجه سانتی‌گراد و دو تا سه روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد [۶]. بنابراین روند پیری به سرعت در آن اتفاق می‌افتد و به دلیل از دست دادن کلروفیل، گل آذین آن زرد می‌شود [۷]. متابولیسم و تنفس بالای بروکلی و همچنین حساسیت آن نسبت به اتیلن [۸]، کاهش وزن، تجزیه کلروفیل و فعالیت پراکسیداز از جمله عوامل فساد و کاهش طول عمر آن می‌باشند [۷].

قهوه‌ای شدن آنزیمی بافت میوه‌ها و سبزیجات می‌تواند باعث تغییرات کیفی نامطلوب در آنها شود [۱۱ – ۹]. این واکنش غالباً توسط فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز که منجبر به تحولات فیزیولوژیک در گیاهان می‌شوند، کاتالیز می‌شود [۱۳، ۱۲]. نقش آنزیم پراکسیداز در قهوه‌ای شدن مشروط به دسترس بودن آنزیم هیدروژن پراکسیداز می‌باشد و صدمات مکانیکی و اتیلن می‌توانند متابولیسم فنولیک در بافت‌های تازه بریده شده را تحریک کنند. همچنین ترکیبات فنلی تجمع یافته می‌توانند به عنوان پیش ماده در دسترس آنزیم پلی فنل اکسیداز قرار گیرند و این امر منجر به قهوه‌ای شدن بافت گیاه می‌شود. از این‌رو، توجه به غیرفعال‌سازی آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، به جهت به حداقل رساندن احتمال از بین رفتن کیفیت، ضروری بوده و اهمیت زیادی در نگهداری میوه‌ها و سبزیجات دارد [۱۱، ۹]. ممانعت کردن از قهوه‌ای شدن آنزیمی در میوه‌ها، به طور کلی با استفاده از تیمارهای فیزیکی یا شیمیایی مانند حرارت‌دهی انجام می‌شود [۱۵، ۱۴]. از طرف دیگر نشان داده شده است که آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، بر خلاف سایر آنزیم‌ها که در اثر حرارت غیر فعال می‌شوند، فعال باقی می‌مانند [۱۵]. بنابراین، تیمارهای حرارتی متداول مورد استفاده برای فرآوری میوه‌ها و سبزیجات، برای غیرفعال‌سازی برگشت‌ناپذیر پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، خیلی مؤثر نیستند [۱۶].

پژوهش‌های انجام شده حاکی از آن است که خصوصیات آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها باعث کاهش آسیب‌های فیزیولوژیکی مانند قهوه‌ای شدن آنزیمی و توسعه زمان ماندگاری میوه‌ها و سبزی‌ها همراه با حفظ کیفیت آن می‌شوند [۲۰، ۱۷، ۱۲]. در این راستا پونس و همکاران [۱۷] کارایی اسانس‌های گیاهی چای، بادرنجبویه، رزماری، میخک و لیموترش را در کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز موجود در عصاره سبزیجات برگی از قبیل چغندر برگی، اسفناج، کاهو و کلم گزارش نمودند. در تحقیقی دیگر علیخانی و همکاران [۱۲] گزارش نمودند که اسانس آویشن در غلظت‌های ۲۵۰ پی‌پی‌ام و ۴۰۰ پی‌پی‌ام منجر به کاهش فعالیت پراکسیداز در گلابی شد. موسوی‌زاده و صداقت‌حور [۱۸] اظهار کردند که اسانس آویشن در غلظت ۵۰۰ و ۷۵۰ پی‌پی‌ام و اسانس رزماری در غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام بیشترین اثر را در کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز سیب دارا بودند. همچنین موسوی‌زاده و همکاران [۱۹] به این نتیجه رسیدند که غلظت‌های مختلف اسانس گشنیز و غلظت ۲۰۰ میکرولیتر اسانس رزماری برای کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در کرفس مؤثر بوده و اسانس‌های آویشن و رزماری در غلظت ۲۰۰ میکرولیتر در اسفناج به ترتیب به میزان ۷۸ و ۸۱ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی علیه آنزیم پراکسیداز را دارا بودند.

از آنجا که کلم بروکلی یک سبزی ارزشمند از نظر تغذیه‌ای بوده و نسبت به قهوه‌ای شدن آنزیمی نیز بسیار حساس

www.SID.ir

می‌باشد و همچنین با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها و خلاء مطالعات انجام شده در این خصوص، در این پژوهش اثر اسانس‌های حاصل از بذر گیاهان دارویی زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) و زیره سیاه (*Bunium persicum* (Boiss.) B.Fedtsch.) و اندام هوایی پونه (*Mentha pulegium* L.) بر فعالیت پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در کلم بروکلی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

ماده گیاهی

کلم بروکلی به عنوان منبع آنزیمی جهت ارزیابی فعالیت پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز استفاده شد و از بازار محلی تهیه شدند. برای اسانس‌گیری از اندام هوایی پونه و بذر زیره سبز و زیره سیاه به عنوان ماده گیاهی حاوی اسانس استفاده شد. اسانس‌گیری با روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد. بعد از اسانس‌گیری، اسانس حاصله توسط سولفات سدیم آبگیری و تا زمان آنالیز اسانس در ظروف شیشه‌ای و در یخچال نگهداری شدند.

آنالیز ترکیبات موجود در اسانس

برای شناسایی ترکیبات موجود در اسانس از دستگاه کروموتوگرافی گازی مجهز به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) استفاده شد و سپس با استفاده از دستگاه GC میزان ترکیبات موجود در اسانس تعیین مقدار شدند.

GC: دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Younglin Acme6000 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر از نوع BP5 بود. برنامه دمائی ستون به صورت ذیل تنظیم شد: دمای ابتدائی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و سپس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۳ دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ ۷۵ دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد به صورت split ۱ به ۲۵ بود، دمای شناساگر FID، ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

GC-MS: دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع BPX5 بود. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. محدوده اسکن مس‌ها از ۴۰ تا ۵۰۰ تنظیم شد. برنامه دمای ستون، آون و اتاقک تزریق و همچنین گاز حامل و حجم تزریق مشابه شرایط GC بود.

تیمارهای آزمایشی

طرح آزمایشی در این آزمایش شامل ۱- تیمارهای آزمایشی شاهد (بدون تیمار)، اسید اسکوربیک و غلظت‌های ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس‌های زیره سبز، زیره سیاه و پونه) و ۲- دو شرایط آزمایشی (in vitro و in vivo) بود.

روش در شیشه (در شرایط ازمایشگاهی) (In vitro): در این روش پس از استخراج عصاره کلم بروکلی به عنوان منبع آنزیمی، در کووت حاوی محلول معرف و واکنش، محلول آنتی‌اکسیدان (اسانس زیره سبز، زیره سیاه و پونه) و عصاره به صورت جداگانه و به طور مستقیم به کووت اضافه شدند.

روش در محیط (در موجود زنده) (In vivo): در این روش ۷۲ ساعت قبل از ارزیابی فعالیت آنزیمی، نمونه‌های کلم بروکلی در محلول آنتی‌اکسیدان (اسانس‌های زیره سبز، زیره سیاه و پونه) غوطه‌ور شدند و با قرارگیری در درجه حرارت اتاق خشک شدند و بعد از عصاره‌گیری کلم بروکلی، عصاره به کووت حاوی محلول معرف اضافه شد و سپس فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل‌اکسیداز ارزیابی شد. برای تهیه غلظت‌های مختلف اسانس از اتانول ۴ درصد استفاده شد. همچنین اتانول ۴ درصد نیز به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد.

www.SID.ir

آنزیم پراکسیداز

فعالیت پراکسیداز توسط روش پونس و همکاران [۱۷] و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر ارزیابی شد. برای آماده‌سازی عصاره، ۱۰ گرم از نمونه حین اضافه کردن ۳۰ میلی‌لیتر بافر فسفات در هاون خرد و کوبیده شدند. محلول حاصل پس از صاف شدن، در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شد و محلول رویی برای اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز استفاده شد. مخلوط سوبسترا شامل ۱۰ میلی‌لیتر گایاکول ۱٪ + ۱۰ میلی‌لیتر H_2O_2 ۰/۳ ٪ + ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار بود که pH آن روی ۶/۵ تنظیم شد. کاوت واکنش نیز شامل ۲/۸۷ میلی‌لیتر مخلوط سوبسترا + ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره + ۰/۰۳ میلی‌لیتر اسانس یا اسید آسکوربیک و یا اتانول ۴ درصد بود. در نهایت هر بخش از فعالیت آنزیم پراکسیداز به صورت تغییرات در جذب در یک هزارم دقیقه (min^{-1} ۰/۰۰۱) تعریف و فعالیت آنزیم به صورت هر بخش در دقیقه بر گرم (units/min/g) قید شد [۲۱].

آنزیم پلی فنل اکسیداز

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز طبق روش پیزوکار و همکاران [۲۲] و بر اساس اکسیداسیون کاتکول انجام شد. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بهوسیله اسپکتروفتومتر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و توسط تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی (تهیه شده به صورت فوق) به ۲/۵ میلی‌لیتر کاتکول ۵۰ میلی‌مولار (تهیه شده با بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار، pH= ۶/۵) اندازه‌گیری شد. البته لازم به ذکر است که در روش in vitro مخلوط واکنش ۳/۱ میلی‌لیتر (۲/۵ میلی‌لیتر کاتکول ۵۰ میلی‌مولار + ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی + ۰/۱ میلی‌لیتر از اسانس یا اسید آسکوربیک و یا اتانول ۴ درصد) بود. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه قرائت شد و سپس فعالیت آنزیم به صورت تغییرات در جذب در یک هزارم دقیقه (min^{-1} ۰/۰۰۱) تعریف و فعالیت آنزیم به صورت هر بخش در دقیقه بر گرم (units/min/g) بیان شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای اعمال شده شامل دو فاکتور تیمارها شاهد (بدون تیمار)، اسید آسکوربیک (در غلظت درصد ۱۷ پی‌پی‌ام) و غلظت‌های ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس‌های زیره سبز، زیره سیاه و پونه) و دو شرایط آزمایشی (in vitro و in vivo) و در مجموع ۲۸ تیمار و ۸۴ واحد آزمایشی بودند. داده‌های مربوط به آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش لگاریتمی نرمال شدند. نرم‌افزار SAS برای تجزیه و تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت. همچنین مقایسه میانگین‌های صفات مورد بررسی با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. از مقایسه‌های گروهی برای بررسی روابط بین اسانس‌های مورد استفاده با شاهد و اسید آسکوربیک استفاده شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

نتایج

ترکیبات موجود در اسانس پونه

طبق نتایج به دست آمده ۳۱ ترکیب معادل ۹۸/۸۵ درصد کل ترکیبات موجود در اسانس برگ پونه شناسایی شدند. پولگون (۷۰/۰۶ درصد) به عنوان ترکیب اصلی و ترکیبات پیپریتنون (۸/۱۲ درصد)، ۱،۸ سینوئل (۴/۴۲ درصد)، ایزو پولوگن (۳/۰۳ درصد) و پیپر تنوئن اکسید (۲/۰۲ درصد) جزو ترکیبات غالب موجود در اسانس پونه می‌باشند و مابقی ترکیبات زیر ۲ درصد بودند (جدول شماره ۱).

ترکیبات موجود در اسانس زیره سیاه

۲۱ ترکیب (۹۸/۷۹ درصد کل ترکیبات) در اسانس بذر زیره سبز به ترتیب توسط دستگاه GC-MS و GC شناسایی و تعیین مقدار شدند. ترکیباتی از قبیل کومین آلدئید (۳۱/۹۲ درصد)، گاما ترپنن (۲۳/۷۸ درصد)، بتا پینن (۱۸/۱۰ درصد)، پاراسیمن (۱۲/۵۲ درصد)، سیس دی هیدرو کاروون (۳/۴۵

www.SID.ir

جدول شماره ۱- ترکیبات موجود در اسانس برگ پونه (*Mentha pulegium* L.)

ردیف	ترکیبات	مقدار (درصد)	شاخص بازداری
۱	α-Pinene	۰/۶۷	۹۳۵
۲	Sabinene	۰/۴۲	۹۷۶
۳	β-pinene	۰/۹۰	۹۸۱
۴	Myrcene	۰/۹۴	۹۹۲
۵	3-Octanol	۰/۱۱	۱۰۰۳
۶	Limonene	۰/۷۹	۱۰۳۴
۷	1,8-Cineole	**۴/۴۲**	**۱۰۳۷**
۸	(Z)-β-Ocimene	۰/۲۶	۱۰۴۷
۹	p-Menth-3-en-8-ol	۰/۵۲	۱۱۵۹
۱۰	Menthone	۰/۳۸	۱۱۶۶
۱۱	*iso*-Menthone	۰/۱۱	۱۱۷۵
۱۲	δ-Terpineol	۰/۱۵	۱۱۸۱
۱۳	**isopulegone**	**۳/۰۳**	**۱۱۸۶**
۱۴	Terpinen-4-ol	۰/۱۲	۱۱۹۰
۱۵	α-T erpineol	۰/۱۱	۱۲۰۶
۱۶	Shisofuran	۰/۱۲	۱۲۳۰
۱۷	**Pulegone**	**۷۰/۰۶**	**۱۲۵۳**
۱۸	Carvone	۱/۵۸	۱۲۸۴
۱۹	**Piperitenone**	**۸/۱۲**	**۱۳۵۴**
۲۰	**Piperitenone oxide**	**۲/۰۲**	**۱۳۷۶**
۲۱	(E)-Jasmone	۰/۵۲	۱۴۰۶
۲۲	α-Gurjunene	۰/۱۳	۱۴۱۲
۲۳	(E)-Carypphyllene	۰/۱۶	۱۴۲۷
۲۴	β-Copaene	۰/۱۲	۱۴۵۶
۲۵	(Z)-β-Farnesene	۰/۲۹	۱۴۵۶
۲۶	Cis-Muurola-4(14),5-diene	۰/۱۳	۱۴۷۰
۲۷	Germacrene D	۱/۶۷	۱۴۸۹
۲۸	Bicyclogermacrene	۰/۴۴	۱۵۰۴
۲۹	Veridiflorol	۰/۳۱	۱۶۰۸
۳۰	α-Cadinol	۰/۱۰	۱۶۷۰
۳۱	Manoyl oxide	۰/۱۵	۲۰۱۰
	کل ترکیبات شناسایی شده	**۹۸/۸۵**	

درصد) و آلفا ترپنن- ۷- آل (۲/۲۵ درصد) به ترتیب ترکیبات اصلی موجود در اسانس زیره سیاه بودند و مابقی ترکیبات از میزان جزئی کمتر از ۲ درصد برخوردار بودند (جدول شماره ۲).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۲- ترکیبات موجود در اسانس بذر زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) و زیره سیاه (*Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch.)

	ترکیبات	مقدار (درصد)		شاخص بازداری
		زیره سبز	زیره سیاه	
۱	α-Thujene	۰/۲۸	۰/۳۹	۹۲۷
۲	α-Pinene	۰/۷۹	۱/۰۵	۹۳۵
۳	Sabinene	۰/۷۷	۰/۹۱	۹۷۶
۴	β-pinene	**۱۴/۳۹**	**۱۸/۱۰**	۹۸۱
۵	Myrcene	۰/۸۴	۰/۸۹	۹۹۲
۶	α-Phellandrene	۰/۶۳	۰/۵۹	۱۰۱۰
۷	α-Terpinene	۰/۲۰	۰/۱۶	۱۰۲۱
۸	ρ-Cymene	**۵/۴۹**	**۱۲/۵۲**	۱۰۳۱
۹	Limonene	۰/۲۷	۰/۳۶	۱۰۳۴
۱۰	β-Phellandrene	۰/۴۱	۰/۴۲	۱۰۳۶
۱۱	γ-Terpinene	**۲۴/۱۳**	**۲۳/۷۸**	۱۰۶۴
۱۲	Trans-Sabinol	–	۰/۱۲	۱۱۵۱
۱۳	Terpinene-4-ol	۰/۱۱	–	۱۱۹۰
۱۴	*cis*-Dihydro carvone	۰/۹۷	**۳/۴۱**	۱۲۰۷
۱۵	Cumin aldehyde	**۱۶/۱۶**	**۳۱/۹۲**	۱۲۵۸
۱۶	α-Terpinene-7-al	**۱۰/۹۴**	**۲/۲۵**	۱۳۰۲
۱۷	γ-Terpinene-7-al	**۲۱/۸۶**	۰/۹۲	۱۳۰۷
۱۸	Daucene	۰/۲۷	**۰/۲۶**	۱۳۸۳
۱۹	(E)-Carypphyllene	۰/۱۳	۰/۱۰	۱۴۲۷
۲۰	(Z)-β-Farnesene	۰/۲۲	۰/۱۸	۱۴۵۶
۲۱	γ-muurolene	۰/۱۵	۰/۲۴	۱۴۸۲
۲۲	Carotol	۰/۲۳	۰/۲۲	۱۶۱۶
	کل ترکیبات شناسایی شده	**۹۹/۲۴**	**۹۸/۷۹**	

ترکیبات موجود در اسانس زیره سبز

طبق نتایج گاز کروموتوگرافی (جدول شماره ۲) ۲۱ ترکیب (۹۹/۲۴ درصد کل ترکیبات) در اسانس زیره سبز شناسایی شدند. ترکیبات اصلی به ترتیب عبارت بودند گاما ترپنن (۲۴/۱۳ درصد)، گاما ترپنن- ۷-آل (۲۱/۸۶ درصد)، کومین آلدئید (۱۶/۱۶ درصد)، بتا پینن (۱۴/۳۹ درصد)، آلفا ترپنن- ۷- آل (۱۰/۹۴ درصد) و پارا سیمن (۵/۴۹ درصد).

آنزیم پراکسیداز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول شماره ۳)، اثر اصلی مرحله کاربرد اسانس به صورت in vitro و in vivo معنی‌دار نمی‌باشد. اما اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز در بین اسانس‌های اعمال شده در کلم بروکلی مشاهده شد. همچنین اثر متقابل مرحله کاربرد اسانس در نوع اسانس اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۳- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز کلم بروکلی تیمار شده با اسانس‌های مختلف در دو شرایط in vitro و in vivo بر اساس مجموع مربعات

منبع تغییرات	درجه آزادی	پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز
مرحله (a)	۱	۰/۲۴^{ns}	۷۱۴۴۶۶۶/۷**
اسانس (b)	۱۳	۲/۵۷**	۸۱۸۸۲۵۰/۱**
a×b	۱۳	۲/۳۲*	۵۵۶۵۴۲۷/۲**
خطا	۵۶	۴/۰۲	۸۲۶۳۷۷۶
کل	۸۳	۹/۱۵	۲۹۱۶۲۱۲۰/۱
ضریب تغییرات (درصد)		۷/۳۶	۲۰/۱۶

** معنی‌دار در سطح یک درصد، * معنی‌دار در سطح پنج درصد

طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول شماره ۴)، در شرایط in vitro اسانس زیره سیاه در تمامی غلظت‌های مورد استفاده و همچنین اسانس زیره سبز در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام به طور قابل ملاحظه‌ای فعالیت آنزیم پراکسیداز کلم بروکلی را نسبت به شاهد افزایش دادند. اسانس پونه و مابقی غلظت‌های اسانس زیره سبز اگرچه میزان فعالیت آنزیم را کاهش دادند ولی تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. علاوه بر این تیمار اسید اسکوربیک میزان فعالیت آنزیم را به میزان اندکی افزایش داد. در واقع به غیر از غلظت‌های ۵۰۰ و ۷۵۰ پی‌پی‌ام اسانس پونه که تفاوت معنی‌داری با تیمار اسید اسکوربیک نداشتند سایر اسانس‌های مورد استفاده از فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری برای مهار آنزیم پراکسیداز در مقایسه با اسید آسکوربیک برخوردار بودند. همچنین در حالت in vitro، اسانس‌های مورد استفاده در همه غلظت‌های کاربردی اختلاف معنی‌داری مبنی بر کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز با یکدیگر نشان ندادند. بالاترین درصد فعالیت کاهشی آنزیم پراکسیداز (۸۱/۳۰- درصد) در شرایط in vitro در اثر اعمال غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسانس زیره سیاه به دست آمد (جدول شماره ۴).

در شرایط in vivo نتایج نشان داد که به غیر از غلظت‌های ۵۰۰ و ۷۵۰ پی‌پی‌ام اسانس پونه که میزان فعالیت آنزیم را به مقدار جزئی افزایش داده است، سایر اسانس‌های مورد استفاده موجب کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه کلم بروکلی شدند ولی فقط برخی از تیمارها تأثیر معنی‌داری بر روی آن داشتند. بدین صورت بود که، غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسانس پونه، ۵۰۰ و ۷۵۰ پی‌پی‌ام اسانس زیره سیاه و تمامی غلظت‌های اسانس زیره سبز به طور معنی‌داری فعالیت آنزیم پراکسیداز کلم بروکلی را نسبت به شاهد کاهش می‌دهد. اسید اسکوربیک نیز به طور چشمگیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را نسبت به تیمار شاهد در مرحله in vivo کاهش داده و موجب کاهش ۷۲/۵۴ درصدی در فعالیت آنزیم شد. درخصوص مقایسه بین اسید اسکوربیک و اسانس‌ها نتایج بیانگر این است که میزان فعالیت آنزیم پرکسیداز در غلظت‌های ۷۵۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس پونه نسبت به اسید اسکوربیک بیشتر بود درحالی‌که تفاوت معنی‌داری بین سایر غلظت‌های اسانس‌های استفاده شده از لحاظ فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه با اسید آسکوربیک مشاهده نشد. بالاترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۵ درصد) مربوط به اسانس زیره سیاه در غلظت ۷۵۰ پی‌پی‌ام بود. بعد از آن غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسانس پونه، با ۸۲ درصد بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد (جدول شماره ۴).

بر اساس نتایج به دست آمده (شکل شماره ۱) اعمال اسانس پونه در دو حالت in vitro و in vivo واکنش تقریباً یکسانی نسبت به آنزیم پراکسیداز نشان دادند. بدین صورت که با کاربرد ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسانس موردنظر، فعالیت آنزیم کاهش یافت در حالی که در حالت in vivo از روند کاهشی بیشتری برخوردار بود. بعد از آن در غلظت ۷۵۰ پی‌پی‌ام میزان فعالیت آنزیم افزایش یافت و این افزایش در حالت in vivo بیشتر بود. سپس با ادامه افزایش غلظت اسانس میزان فعالیت آنزیم نیز کاهش یافت.

Archive of SID
www.SID.ir

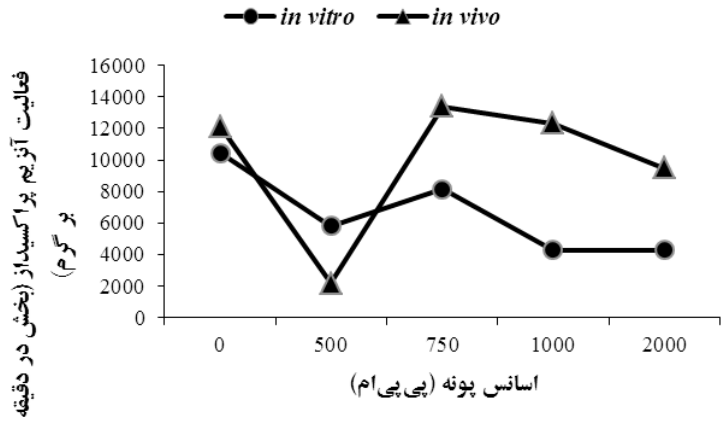
جدول شماره ۴- تأثیر اسانس پونه، زیره سیاه و سبز بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در کلم بروکلی

مرحله	اسانس	غلظت (میکرولیتر در صد میلی لیتر)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (Units/min/gr)	فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (Units/min/gr)
In vitro	پونه	۵۰۰	۵۷۹۰ (-۴۴/۴۸) ^{bcde}	۱۵۹۰ (-۲۹/۳۳) ^{cd}
		۷۵۰	۸۱۴۰ (-۲۱/۹۵) ^{abcde}	۱۳۸۰ (-۳۸/۶۶) ^{cd}
		۱۰۰۰	۴۲۹۰ (-۵۸/۸۶) ^{cde}	۱۶۵۰ (-۲۶/۶۶) ^{cd}
		۲۰۰۰	۴۲۸۰ (-۵۸/۹۶) ^{cde}	۲۴۷۰ (۹/۷۷) ^{abc}
	زیره سبز	۵۰۰	۴۸۴۰ (-۵۳/۵۹) ^{cde}	۱۰۹۰ (-۵۱/۵۵) ^{d}
		۷۵۰	۵۰۲۰ (-۵۱/۸۶) ^{cde}	۱۲۷۰ (-۴۳/۵۵) ^{cd}
		۱۰۰۰	۳۰۸۰ (-۷۰/۴۶) ^{de}	۱۴۵۰ (-۳۵/۵۵) ^{cd}
		۲۰۰۰	۴۱۶۰ (-۶۰/۱۱) ^{cde}	۱۳۶۰ (-۳۹/۵۵) ^{cd}
	زیره سیاه	۵۰۰	۱۹۵۰ (-۸۱/۳۰) ^{e}	۱۹۱۰ (-۱۵/۱۱) ^{bcd}
		۷۵۰	۲۰۵۰ (-۸۰/۳۴) ^{e}	۱۴۳۰ (-۳۶/۴۴) ^{cd}
		۱۰۰۰	۲۳۳۰ (-۷۷/۶۶) ^{e}	۱۵۲۰ (-۳۲/۴۴) ^{cd}
		۲۰۰۰	۳۲۹۰ (-۶۸/۴۵) ^{de}	۱۴۸۰ (-۳۴/۲۲) ^{cd}
	اسید آسکوربیک	۰/۰۱۷ گرم در صد میلی‌لیتر	۱۱۸۸۰ (۱۳/۹۰) ^{ab}	۱۷۳۴ (-۲۲/۹۳) ^{cd}
	شاهد	-	۱۰۴۳۰ (۰) ^{abc}	۲۲۵۰ (۰) ^{abcd}
In vivo	پونه	۵۰۰	۲۱۸۰ (-۸۲/۰۲) ^{e}	۱۸۰۰ (-۴۳/۹۲) ^{bcd}
		۷۵۰	۱۳۴۰۰ (۱۰/۴۶) ^{a}	۲۳۸۰ (-۲۵/۸۵) ^{abc}
		۱۰۰۰	۱۲۳۱۰ (۱/۴۸) ^{ab}	۲۳۳۰ (-۲۷/۴۱) ^{abc}
		۲۰۰۰	۹۴۹۰ (-۲۱/۷۶) ^{abcd}	۲۱۸۰ (-۳۲/۰۸) ^{abcd}
	زیره سبز	۵۰۰	۳۴۵۰ (-۷۱/۵۵) ^{de}	۱۹۹۰ (-۳۸/۰۰) ^{abcd}
		۷۵۰	۵۱۰۰ (-۵۷/۹۶) ^{cde}	۲۱۱۰ (-۳۴/۲۶) ^{abcd}
		۱۰۰۰	۳۴۹۰ (-۷۱/۲۲) ^{de}	۲۱۱۰ (-۳۴/۲۶) ^{abcd}
		۲۰۰۰	۴۷۱۰ (-۶۱/۱۷) ^{cde}	۱۸۹۰ (-۴۱/۱۲) ^{bcd}
	زیره سیاه	۵۰۰	۴۹۸۰ (-۵۸/۹۴) ^{cde}	۱۵۴۰ (-۵۲/۰۲) ^{cd}
		۷۵۰	۱۷۴۰ (-۸۵/۶۵) ^{e}	۲۳۸۰ (-۲۵/۸۵) ^{abc}
		۱۰۰۰	۸۸۲۰ (-۲۷/۲۸) ^{abcd}	۲۱۸۰ (-۳۲/۰۸) ^{abcd}
		۲۰۰۰	۶۲۲۰ (-۴۸/۷۲) ^{bcde}	۲۹۸۰ (-۷/۱۶) ^{ab}
	اسید آسکوربیک	۰/۰۱۷ گرم در صد میلی‌لیتر	۳۳۳۰ (-۷۲/۵۴) ^{de}	۱۶۷۰ (-۴۷/۹۷) ^{cd}
	شاهد	-	۱۲۱۳۰ (۰) ^{ab}	۳۲۱۰ (۰) ^{a}
LSD پنج درصد			۶۶۴۴/۲	۱۲۲۶/۶

اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون به معنی عدم اختلاف معنی‌داری می‌باشند. اعداد داخل پرانتز نشان دهنده درصد کاهش (-) یا افزایش (+) فعالیت آنزیم می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل شماره ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس پونه بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در حالت in vitro و in vivo

طبق نتایج این پژوهش (شکل شماره ۲) اعمال اسانس زیره سبز در هر دو حالت in vitro و in vivo واکنش مشابهی نسبت به آنزیم پراکسیداز نشان دادند. بدین‌صورت که با کاربرد ۵۰۰ پی‌پی‌ام، فعالیت آنزیم به سرعت کاهش و بعد از آن در غلظت ۷۵۰ پی‌پی‌ام میزان فعالیت آنزیم با روند ملایمی افزایش پیدا کرد. سپس با ادامه افزایش غلظت اسانس میزان فعالیت آنزیم نیز کاهش یافت.

نتایج به دست آمده بیانگر آن است که (شکل شماره ۳) اعمال اسانس زیره سیاه در هر دو حالت in vitro و in vivo تا غلظت ۷۵۰ پی‌پی‌ام واکنش تقریباً مشابهی نسبت به روند کاهشی آنزیم پراکسیداز دارند. بعد از آن اعمال اسانس در حالت in vivo در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام روند افزایشی در میزان آنزیم پراکسیداز نشان داد درحالی‌که در حالت in vitro روند تقریباً ثابتی تا غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام ادامه داشت.

بر اساس نتایج مقایسات گروهی (جدول شماره ۵) کاربرد اسانس‌های پونه، زیره سبز و زیره سیاه به صورت in vitro و in vivo سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه با اسید آسکوربیک و تیمار شاهد شده‌اند.

آنزیم پلی فنل اکسیداز

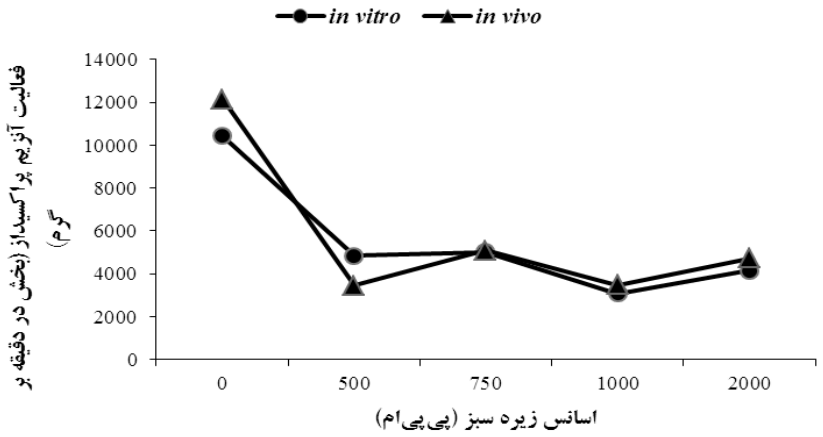
بر اساس نتایج تجزیه آماری (جدول شماره ۳)، اثر اصلی اسانس و مرحله کاربرد اسانس به صورت in vitro و in vivo در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. همچنین اثر متقابل مرحله کاربرد اسانس در نوع اسانس اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<0/01$).

طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول شماره ۴)، به غیر از غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس پونه در حالت in vitro که به مقدار اندکی میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را افزایش داد، مابقی تیمارها در هر دو حالت in vitro و in vivo میزان آن را کاهش دادند.

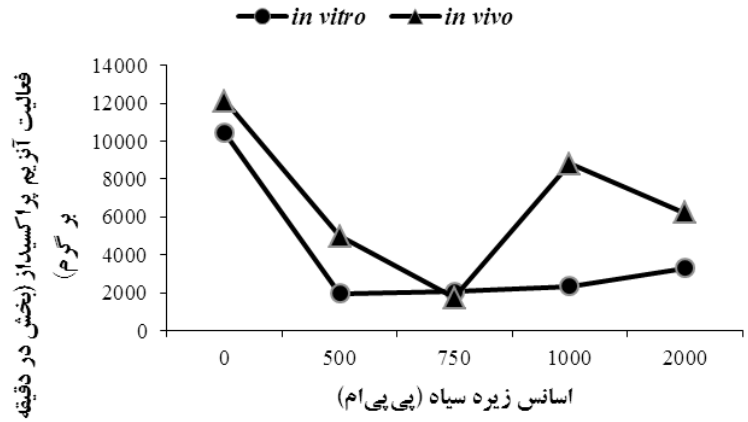
در شرایط in vitro، هیچ‌کدام از تیمارهای اعمال شده اختلاف معنی‌داری مبنی بر کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز با یکدیگر و تیمار شاهد نشان ندادند و بیشترین میزان کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (۵۱/۵۵- درصد) توسط اعمال اسانس زیره سبز در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام به دست آمد (جدول شماره ۴).

در حالت in vivo، غلظت‌های ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسانس پونه و زیره سیاه، غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس زیره سبز و تیمار اسید اسکوربیک تأثیر چشمگیری را در کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز داشتند و به طور معنی‌داری میزان آن را نسبت به تیمار شاهد کاهش نمودند. بالاترین درصد کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (۵۲/۰۲- درصد) نیز مربوط به غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسانس زیره سیاه بود. همچنین نتایج درخصوص

Archive of SID
www.SID.ir



شکل شماره ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در حالت in vitro و in vivo



شکل شماره ۳- تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در حالت in vitro و in vivo

جدول شماره ۵- مقایسات گروهی تأثیر اسانس‌های پونه، زیره سیز وزیره سیاه بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در کلم بروکلی

مقایسه	پونه In vitro	پونه In vivo	زیره سبز In vitro	زیره سبز In vivo	زیره سیاه In vitro	زیره سیاه In vivo	اسید آسکوربیک In vitro	اسید آسکوربیک In vivo	شاهد In vitro	شاهد In vivo	مجموع مربعات	P
۱	+۱	۰	+۱	۰	+۱	۰	۰	۰	-۳	۰	۶۶۹۷۰۳۱۴/۳	۰/۰۵
۲	۰	+۱	۰	+۱	۰	+۱	۰	۰	۰	-۳	۷۲۴۳۶۰۰۱/۸	۰/۰۴۴
۳	+۱	۰	+۱	۰	+۱	۰	-۳	۰	۰	۰	۱۳۷۶۰۲۵۸۰	۰/۰۰۶
۴	۰	+۱	۰	+۱	۰	+۱	۰	-۳	۰	۰	۷۳۶۱۲۸۴۵	۰/۰۴۳

P = سطح معنی‌دار بودن

www.SID.ir

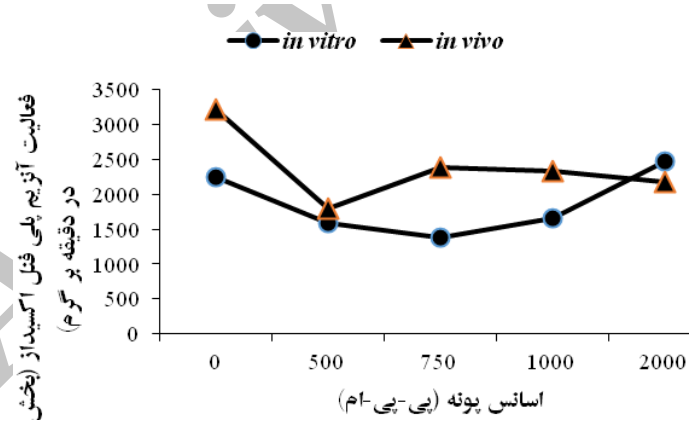
فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های اعمال شده در مقایسه با اسید آسکوربیک حاکی از آن است که میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس زیره سیاه نسبت به تیمار اسید اسکوربیک بیشتر می‌باشد در صورتی که سایر غلظت‌های اسانس‌های مورد استفاده تفاوت معنی‌داری از این لحاظ با تیمار اسید اسکوربیک نداشتند (جدول شماره ۴).

با توجه به نتایج به دست آمده (شکل شماره ۴) با کاربرد ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسانس پونه، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شرایط in vivo کاهش یافت و بعد از آن تا غلظت ۷۵۰ پی‌پی‌ام روند افزایشی نشان داد و سپس بصورت خطی ادامه یافت. در صورتیکه در حالت in vitro تا غلظت ۷۵۰ پی‌پی‌ام میزان فعالیت آنزیم کاهش و سپس با ادامه افزایش غلظت اسانس میزان فعالیت آنزیم افزایش یافت.

طبق نتایج این تحقیق (شکل شماره ۵) اعمال اسانس زیره سبز در دو حالت in vitro و in vivo واکنش مشابهی نسبت به آنزیم پلی فنل اکسیداز نشان دادند. بدین‌صورت که با کاربرد ۵۰۰ پی‌پی‌ام، فعالیت آنزیم به سرعت کاهش پیدا کرد و بعد از آن در غلظت ۷۵۰ پی‌پی‌ام میزان فعالیت آنزیم با روند ملایمی افزایش یافت سپس با ادامه افزایش غلظت اسانس میزان فعالیت آنزیم نیز کاهش پیدا کرد.

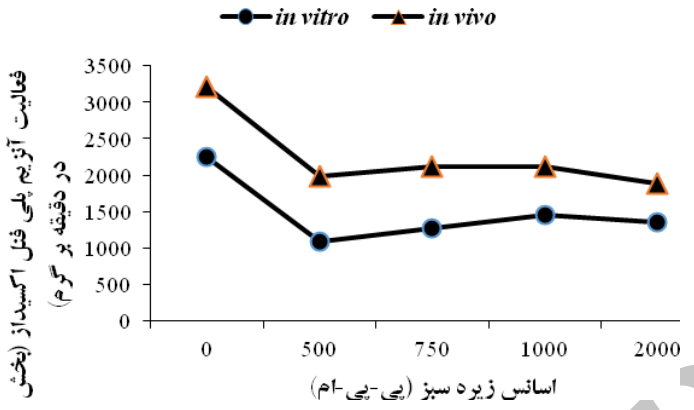
نتایج به دست آمده حاکی از آن است که (شکل شماره ۶) اعمال اسانس زیره سیاه در حالت in vivo تا غلظت ۵۰۰ پی-پی‌ام سبب کاهش آنزیم پلی فنل اکسیداز شد و بعد از آن با افزایش غلظت اسانس روند افزایشی در میزان آنزیم پلی فنل اکسیداز نشان داد، درصورتیکه در حالت in vitro روند کاهشی تقریباً ثابتی تا غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام ادامه داشت.

بر اساس نتایج مقایسات گروهی (جدول شماره ۶) کاربرد اسانس پونه، زیره سبز و زیره سیاه به صورت in vitro تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در مقایسه با شاهد نداشت. اما اعمال آنها به صورت in vivo سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در مقایسه با شاهد شد. همچنین اعمال اسانس‌های مذکور در هر دو حالت in vitro و in vivo در مقایسه با اسید آسکوربیک اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نشان ندادند.

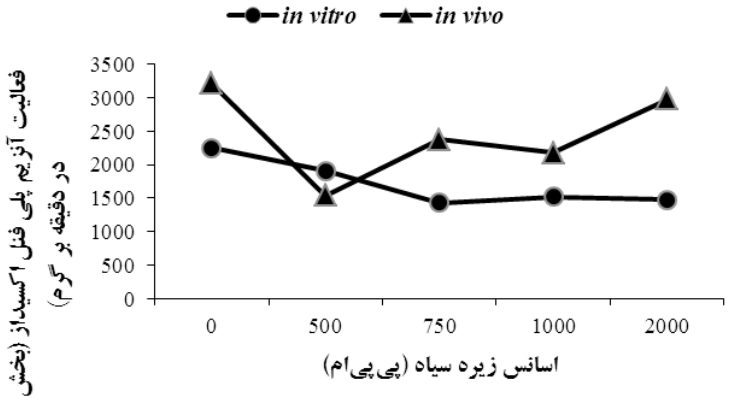


شکل شماره ۴- تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس پونه بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در حالت in vitro و in vivo

www.SID.ir



شکل شماره ۵- تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در حالت in vitro و in vivo



شکل شماره ۶- تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در حالت in vitro و in vivo

جدول شماره ۶- مقایسات گروهی تأثیر اسانس‌های پونه، زیره سیز وزیره سیاه بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در کلم بروکلی

مقایسه	*In vitro* پونه	*In vivo* پونه	*In vitro* زیره سبز	*In vivo* زیره سبز	*In vitro* زیره سیاه	*In vivo* زیره سیاه	*In vitro* اسید آسکوربیک	*In vivo* اسید آسکوربیک	*In vitro* شاهد	*In vivo* شاهد	مجموع مربعات	P
۱	+۱	۰	+۱	۰	+۱	۰	۰	۰	-۳	۰	۳۶۴۸/۲	۰/۸۹
۲	۰	+۱	۰	+۱	۰	+۱	۰	۰	۰	-۳	۱۶۴۲۲۸۷/۵	۰/۰۰۵
۳	+۱	۰	+۱	۰	+۱	۰	-۳	۰	۰	۰	۲۵۰۸۸۰	۰/۲۶
۴	۰	+۱	۰	+۱	۰	+۱	۰	-۳	۰	۰	۲۸۵۶۰۵	۰/۲۳

P = سطح معنی‌دار بودن

www.SID.ir

بحث

همانطور که در نتایج ذکر شد پولگون (۷۰/۰۶ درصد) به‌عنوان ترکیب اصلی و ترکیبات پیپریتنون، ۱،۸ سینوئل، ایزوپولوگن و پیپر تنوئن اکسید جزو ترکیبات غالب موجود در اسانس برگ پونه بودند. در سایر پژوهش‌ها نیز محمودی و همکاران [۲۳]، ۲۲ ترکیب از اسانس پونه را شناسایی نمودند و ترکیباتی نظیر پولگون (۳۱/۵۴ درصد)، ۸،۱ سینوئل (۱۵/۸۹ درصد)، منتوفوران (۱۱/۸ درصد) و سیس ایزو پولگون (۹/۷۴ درصد) را به عنوان ترکیبات عمده موجود در اسانس گیاه پونه عنوان کردند. همچنین محبوبی و حقی [۲۴]، پیپریتون (۳۸ درصد)، پیپریتنون (۳۳ درصد)، ۴/۷٪ آلفا- ترپینئول (۴/۷ درصد) و پولگون (۲/۳) را بعنوان اجزای اصلی موجود در اسانس پونه گزارش نمودند.

در اسانس بذر زیره سیاه نیز ترکیباتی از قبیل کومین آلدئید، گاما ترپنن، بتا پینن، پاراسیمن، سیس دی هیدرو کاروون و آلفا ترپنن- ۷- آل به ترتیب به عنوان ترکیبات اصلی موجود در اسانس شناسایی شدند.

اسانس زیره سیاه در ایران و جهان مورد مطالعه، شناسایی و تحقیق قرار گرفته است. از جمله، ترکیب‌های اسانس *B. persicum* در سه رویشگاه مختلف استان کرمان مورد بررسی و مقایسه قرار گرفته است. در اسانس جمعیت منطقه دره‌در ترکیباتی از قبیل گاما ترپینن، کومین آلدئید، لیمونن، پاراسیمن و بتا پینن؛ در منطقه بی بی حیات گاما ترپینن، کومین آلدئید، پاراسیمن، لیمونن و ۲-کارن-۱۰- آل و در جمعیت منطقه راور ترکیبات گاما- ترپینن، کومین آلدئید، پاراسیمن، و ۲-کارن-۱۰- آل، لیمونن و ۲-کارن-۱۰- آل از ترکیبات عمده موجود در اسانس بودند [۲۵]. در تحقیق دیگری ترکیب‌های اسانس *B. persicum* در هند مورد بررسی قرار گرفته که به ترتیب کومین آلدئید، گاما ترپینن و پاراسیمن از عمده‌ترین ترکیبات موجود در اسانس بذر بودند [۲۶]. همچنین ترکیبات غالب اسانس بذر این گونه در پاکستان به ترتیب پاراسیمن، گاما ترپنن، بتا پینن، کومین آلدئید و پارا منتا-۱و۴- دی ان-۷-آل گزارش شده است [۲۷].

همانطور که در نتایج بیان شد گاما ترپنن، گاما ترپنن- ۷- آل، کومین آلدئید، بتا پینن، آلفا ترپنن- ۷- آل و پارا سیمن به ترتیب به عنوان ترکیبات اصلی در اسانس زیره سبز موجود بودند. در سایر مطالعات پژوهی الموتی و همکاران [۲۸] کومین آلدهید، آلفا ترپینن ۷ آل، گاماترپینن، گاما ترپینن ۷ آل، پاراسیمن و بتا پینن را به عنوان ترکیبات غالب در اسانس زیره سبز گزارش نمود. همچنین رحیمی و همکاران [۲۹] به ترتیب ترکیبات کومین آلدئید، گاما ترپنن- ۷-آل، آلفا ترپنن- ۷- آل، پارا سیمن و بتا پینن را در زیره سبز گزارش نمود که با نتایج حاصله مطابقت دارد. همچنین ترکیباتی از قبیل پارا منتا-۱-۴-دیئن ۷ آل، کومین آلدهید، گاما ترپینن، بتا پینن، پارا منتا-۱-۳-دیئن ۷ آل و پاراسیمن به عنوان ترکیبات غالب در اسانس زیره سبز گزارش شده‌اند [۳۰]. در مطالعه حاضر نتایج به دست آمده از تجزیه اسانس‌ها تا حدودی با سایر بررسی‌ها همخوانی دارد. اختلاف جزئی در مقادیر و ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس در بین نتایج حاصله و گزارشات منتشر شده می‌تواند ناشی از تفاوت در فصل برداشت گیاه، شرایط آب و هوایی، منطقه جغرافیایی رویش گیاه، قسمت‌های مختلف گیاه، روش و مدت زمان استخراج اسانس باشد [۳۱].

طبق نتایج به دست آمده، کلم بروکلی فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتری نسبت به آنزیم پلی فنل اکسیداز نشان داد. در این راستا گزارش شده است که کلم پیچ که نوع دیگری کلم از تیره شب بو است بالاترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را در بین سبزی‌ها دارد [۱۷]. به طور کلی مطابق نتایج این پژوهش، تمامی اسانس‌های اعمال شده بسته به غلظت مورد استفاده از کارایی بالایی در کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز برخوردار بودند. طی تحقیقی نتیجه‌گیری شد که استفاده از اسانس آویشن سبب کاهش تغییرات رنگ و درخشندگی میوه توت فرنگی می‌شود و دلیل آن جلوگیری از فعالیت آنزیم پراکسیداز و بالطبع ممانعت از قهوه‌ای شدن آنزیمی توسط اسانس آویشن بیان شد [۱۳]. پونس و همکاران [۳۲] گزارش کردند که اسانس رزماری باعث کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در کدو مسمایی می‌شود. در سایر مطالعات نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های آویشن و رزماری در سیب

Archive of SID
www.SID.ir

[۱۸] و اسانس‌های گشنیز، آویشن و رزماری در برخی از سبزیجات برگی علیه آنزیم پراکسیداز دارا بیان شده است [۱۹] که با نتایج حاصله از این پژوهش مطابقت دارد.

بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، اسانس‌های پونه، زیره سبز و زیره سیاه در هر دو حالت in vitro و in vivo فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را در کلم بروکلی کاهش دادند به نحوی که در شرایط in vivo غلظت‌های ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسانس پونه و زیره سیاه و غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس زیره سبز تأثیر قابل ملاحظه‌ای را در کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز داشتند و به طور معنی‌داری میزان آن را نسبت به تیمار شاهد کاهش نمودند. در سایر پژوهش‌ها نیز تأثیر مثبت اسانس‌های آویشن کوهی و آویشن باغی علیه فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در توت فرنگی گزارش شده است [۳۳]. همچنین گزارش‌هایی نیز مبتنی بر اثر مهارکنندگی اسانس‌های آویشن و رزماری در قارچ [۳۴] و اسانس رزماری در موز [۳۵] علیه آنزیم پلی فنول اکسیداز موجود است. نصیری و همکاران [۳۶] اعلام کردند که اسانس آویش شیرازی با غلظت ۰/۲۵ درصد توانایی کنترل و مهار آنزیم و پلی فنول اکسیداز میگو را دارد و درخصوص مکانیسم تأثیر اسانس اظهار داشتند که ترکیبات فنولی موجود در اسانس آویشن باعث واسرشتی آنزیم‌ها می‌شوند [۳۷]. همچنین ترکیبات پلی فنولی در اثر واکنش با جایگاه فعال آنزیم موجب مهار آنزیم پلی فنول اکسیداز می‌شوند. بدین صورت که این ترکیبات از طریق گروه هیدروکسیل خود به جایگاه فعال آنزیم متصل می‌شوند و یا توسط گروه آلدهیدی خود از طریق تشکیل باز شیف، باعث کمپلکس کردن فلز مس (کوفاکتور آنزیم پلی فنول اکسیداز) می‌شوند [۳۶]. عیسی و همکاران [۳۸] نیز کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و میزان قهوه‌ای شدن آب میوه سیب را در اثر کاربرد اسانس‌های علف لیمو، میخک و رزماری گزارش نمودند. ایشان مکانیسم و دلیل امر را به وجود ترکیبات آلدئیدی در اسانس و عمل بازدارندگی این ترکیبات علیه آنزیم‌های دخیل در قهوه‌ای شدن مربوط دانستند. همچنین فعالیت بازدارندگی گروهی از ترکیبات معطر با گروه‌هایی شیمیایی مختلف از قبیل اسیدهای کربوکسیلیک حلقوی، الکل‌ها و آلدئیدها علیه آنزیم پلی فنل اکسیداز توسط کاجیوارا و همکاران [۳۹] نشان داده شده است، ایشان در نتایج خود عنوان نمودند که ترکیبات آلدئیدی نسبت به الکل‌ها و ترکیبات آلدئیدی با جایگاه آلفا- بتا غیر اشباع شده نسبت به ترکیبات با جایگاه بتا- گاما غیر اشباع شده و اشباع شده از قدرت بازدارندگی بیشتری برخوردار بودند. در این مطالعه فعالیت بازدارندگی اسانس زیره سیاه و زیره سبز را احتمالاً بتوان به تأثیرگذاری ترکیب غالب کومین آلدئید موجود در آنها نسبت داد و همانطور که در نتایج ذکر شد کومین آلدئید به عنوان ترکیبات غالب موجود در هر دو گیاه مذکور یافت شد. در سایر یافته‌ها نیز تأثیر مثبت ترکیب کومین آلدئید موجود در اسانس زیره علیه مهار آنزیم پلی فنل اکسیداز گزارش شده است [۴۰].

در این تحقیق، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس‌های به کار رفته با اسید آسکوربیک نیز مقایسه شدند. نتایج نشان داد که کاربرد اسید آسکوربیک در حالت in vivo، سبب کاهش ۷۲/۵ درصد از فعالیت آنزیم پراکسیداز شده است. همچنین اسید آسکوربیک در حالت in vitro سبب کاهش ۲۲/۹۳ درصدی و به صورت in vivo موجب کاهش ۴۷/۹۷ درصدی در فعالیت پلی فنل اکسیداز کلم بروکلی شد. استفاده از اسید آسکوربیک سبب می شود تا اکسیژن سطحی کم شود و جلوی واکنش اتواکسیداسیون گرفته شود. زیرا بهترین نقش مطالعه شده اسید آسکوربیک، سهم آن در دفع مسمومیت ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال موجود در کلروپلاست، سیتوزول و پراکسی زوم بوسیله آسکوربات پراکسیداز می‌باشد [۴۱] که در نتیجه از اکسیداسیون گروه تیول آنزیم‌ها و پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند [۴۲]. نتایج بررسی حاضر نشان داد که کاربرد اسید آسکوربیک سبب کاهش زیادی از فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز شده است. بررسی علیخانی و همکاران [۴۳] نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسید آسکوربیک در عصاره سیب زمینی ۸۹/۱۱ درصد می‌باشد. در تحقیقی بیان شده است که استفاده از اسید آسکوربیک سبب جلوگیری از قهوه‌ای شدن سیب‌زمینی می‌شود [۴۴]. در این راستا پونس و همکاران [۱۷] نیز نتیجه گرفتند که کاربرد اسید آسکوربیک تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره سبزی‌ها دارد به گونه‌ای که کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز

Archive of SID
www.SID.ir

در اسفناج ۸۷ درصد، کاهو پیچ ۷۴ درصد، کاهو رومن ۵۶ درصد و کلم پیچ و چغندر برگی ۳۵ درصد بود.

این نکته قابل ذکر است که اسانس‌ها علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارای خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی بوده که این خصوصیت در اسید آسکوربیک دیده نمی‌شود. لانسیوتی و همکاران [۲۰] نیز اظهار داشتند که اسانس‌ها می‌توانند از رشد و تکثیر میکروب‌ها در میوه‌های تازه بسته‌بندی شده یا نشده، جلوگیری کنند.

همچنین عکس‌العمل متفاوت سبزیجات مختلف نسبت به اسانس‌های مورد مطالعه را می‌توان به مواردی از قبیل اختلاف در مواد گیاهی، ترکیبات موجود در اسانس و نوع و فرم آنزیم مربوط دانست. البته گزارش شده است که اختلاف معنی‌داری از لحاظ میزان آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها در سبزی‌های مختلف وجود دارد [۴۳، ۱۷]. از طرف دیگر میزان قند موجود در میوه‌ها و سبزی‌ها در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مؤثر است. زیرا گزارش‌هایی وجود دارد مبنی بر اینکه محلول‌های دارای قند تا حدودی مانع فعالیت آنزیم می‌شوند [۹]. زیرا قند، غلظت اکسیژن نامحلول و نفوذ اکسیژن هوا به داخل میوه را کاهش می‌دهد. حتی پراکسیداز می‌تواند برای تعیین میزان گلوکز نیز به کار برده شود [۴۵]. در ادامه گزارشی وجود دارد مبنی بر اینکه که تأثیرگذاری اسانس‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با تغییر منبع آنزیم، تغییر می‌کند [۱۷]. همچنین، زیاد بودن فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در شرایط in vivo نسبت به in vitro را می‌توان به متابولیسم و تنفس بالای کلم بروکلی مربوط دانست [۸]. عصاره‌گیری برای شرایط in vivo در سه روز بعد از in vitro انجام شد و در طی زمان مذکور متابولیسم و تنفس کلم بروکی با شدت بیشتری ادامه یافته است. بنابراین، در طی تنفس میزان قندهای موجود در گیاه مصرف می‌شوند و با توجه به نقش مهم قندها در کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسیدانت [۹]، موارد مذکور قابل تفسیر می‌باشد. البته درک صحیحی درخصوص تفاوت‌های جزئی در عکس‌العمل متفاوت دو آنزیم در پاسخ به اسانس‌های گیاهی تحت دو شرایط in vivo و in vitro موجود نمی‌باشد. ولی پاسخ معنی‌دار آنزیم پلی فنل اکسیداز در شرایط in vivo را، شاید بتوان به تأثیر مثبت قندهای موجود در گیاه و همچنین به مدت زمان قرارگیری بیشتر آنزیم در مقابل اسانس‌ها مربوط دانست.

نتیجه‌گیری

بطور کلی نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که اسانس‌های پونه، زیره سبز و زیره سیاه بسته به غلظت مورد استفاده، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز را در کلم بروکلی کاهش دادند. از اینرو اسانس‌های مذکور می‌توانند به منظور کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز و کاهش قهوه‌ای شدن آنزیمی در کلم بروکی مورد استفاده قرار گیرند. علاوه براین، نتایج این تحقیق می‌تواند رویکردی نوین درخصوص استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان جایگزین‌های طبیعی، در راستای مطالعات پس از برداشت و افزایش عمر نگهداری محصولات باغبانی باشد.

منابع

1. Mohseni M, Mohamadi Sani A and Daraei Garmakhany A. An investigation on the effects of Clove essence on deactivation of of Green beans peroxidase. *J. Innov. Food Sci. Technol*. 2013; 1: 179 - 184.

2. Lemoine ML, Civello PM, Chaves AR and Martínez GA. Influence of a combined hot air and UV-C treatment on quality parameters of fresh-cut broccoli florets at 0 C. *Int. J. Food Sci. Tech*. 2010; 45 (6): 1212 - 18.

3. Lemoine ML, Civello P, Chaves A and Martıinez GA. Hot air treatment delayssenescence and maintains quality of fresh-cut broccoli florets during refrigeratedstorage. *Food Sci. Technol*. 2009; 42: 1076 - 81.

4. Borowski J and Szajdek A. Content of selected bioactive components and antioxidant properties of

Archive of SID
www.SID.ir

broccoli (*Brassica oleracea* L.). *Eur. Food Res. Technol*. 2008; 226: 459–465.

5. Hounsome N, Hounsome B, Tomos D and Edwards-Jones G. Changes inantioxidant compounds in white cabbage during winter storage. *Postharvest Biol. Technol*. 2009; 52: 173 -9.

6. Balouchi GA, Peyvast, M and Ghasemnezhad SM. Changes of antioxidant components of broccoli (*Brassica oleracea* L.var. Italica) during storage at low and high temperatures. *South South-west J. Hortic Biol. Environ*. 2011; 2 (2): 193 - 212.

7. Luiz Finger F, Endres L, Roberto Mosqim P and Puiatti M. Physiological Changes during Postharvest senescence of broccoli. *Pesq. Agropec. Bras*. 1999; 34 (9): 1565 - 69.

8. Jacobsson A, Nielsen T and Sjoholm I. Influence of temperature, modified atmosphere packaging, and heat treatment on aroma compounds in broccoli. *J. Agric. Food Chem*. 2004; 52 (6): 1607 - 14.

9. Nicoli MC, Elizalde BE, Pitotti A and Lerici CR. Effect of sugares and maillard reaction products on polyphenol oxidase and peroxidase activity in food. *J. Food Biochem*. 1991; 15.3: 169-84.

10. Nicoli MC, Anese M and Severini C. Combined effects in preventing enzymatic browining reaction in minimallyprocessed Fruit. *J. Food Qual*. 1994; 17: 221 - 29.

11. Valderrama P and Clemente E. Isolation and thermostability of peroxidase isoenzymes from apple cultivars Gala and Fuji. *Food Chem*. 2004; 87: 601 - 606.

12. Alikhani M, Sharifani M, Azizi M, Hemmati K and Mousavizadeh SJ. The effect of some natural compounds in shelf-life and quality of Pear fruit (Esfahan Shah mive cultivar). *J. Agric. Sci. Natur. Resour*. 2009; 16: 158 - 71.

13. Alikhani M, Sharifani M, Azizi M, Musavizadehr SJ and Rahim M. Increasing shelf life and maintaining quality of strawberry (*Fragaria ananassa* L.) with application of mucilage edible coating and plant essential oil. *J. Agric. Sci. Natur. Resour*. 2009; 16 (2): 1 - 9.

14. Hemeda HM and Klein BP. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Food Sci*. 1990; 55 (1): 184 - 86.

15. Valderrama P and Clemente E. Isolation and thermostability of peroxidase isoenzymes from apple cultivars Gala and Fuji. *Food Chem*. 2004; 87: 601 - 6.

16. Khan AA and Robinson DS. The thermostability of purified mango soperoxidases. *Food Chem*. 1993; 47: 53 - 9.

17. Ponce AG, Delvalle CE and Roura SL. Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables. *Lebensm. Wiss. U. Technol*. 2004; 37.2: 199 - 20.

18. Mousavizadeh SJ and Sedaghathoor Sh. Apple and quince peroxidase activity in response to essential oils application. *Afr. J. Biotechnol.* 2011; 10 (57): 12319 - 25.

19. Mousavizadeh SJ and Sedaghathoor Sh. Peroxidase activity in response to applying natural antioxidant of essential oils in some leafy vegetables. *Aust. J. Crop Sci*. 2011; 5 (4): 494 -9.

20. Lanciotti R, Gianotti A, Patrignani F, Belletti N, Gverzoni ME and Gardini F. Use of natural aroma compound to improve shelf life and safety of minimally processed fruit. *Trends Food Sci. Technol*. 2004; 15: 201 - 8.

21. Ehteshamnia A, Rezaeinejhad AH, Musavizadeh SJ and Alikhani koopaei M. Investigation of peroxidase enzyme activity in some fruits by application of Thyme, Myrtle and Savoury essential oils. *Plant Products Technol*. 2011; 11 (2): 33 - 42.

22. Pizzocaro F, Torreggiani D and Gilardi G. Inhibition of apple polyphenoloxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride. *J. Food Proc. Preserv*. 1993; 17 (1): 21 - 30.

23. Mahmodi R, Tajik H, Farshid A, Ehsani A, Zaree P, Moradi M. Phytochemical properties of *Mentha longifolia* L. essential oil and its antimicrobial effects on *Staphylococcus Aureus*. *Armaghane Danesh* 2011; 16 (5): 400 - 12

24. Mahboubi M and Haghi G. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *J. Ethnopharmacol*. 2008; 119 (2): 325 - 7.

25. Kohestani S, Ranjbar Gh, Baghizadeh A and Babaeian Jelodar. Comparison of quantitative and qualitative chemical composition of essential oil in

Archive of SID
www.SID.ir

three different localities *Bunium persicum* Boiss. Second Conference on cellular and molecular biology abstracts, Kerman, 29-30 January 2008. pp: 847-845.

26. Thappa R, Ghoshs K, Agarwal SG, Raina AK and Jamwal PS,. Comparative studies on the major volatiles of Kalazira *(Bunium persicum* seed) of wild and cultivated sources. *Food Chem*. 1991; 41 (2): 129 - 34.

27. Karim A and Pervez M. Studies on the essential oil of the Pakistan species of the family umbelliferae part X. *Bunium persicum* Boiss. (Siah zira) seed. *Pak. J. Sci. Ind. Res*. 1977; 20 (2): 106-8.

28. Pajohi Alamoti MR, Tajik H, Akhondzade A, Gandomi H, Ehsani A. A Study on chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Mentha longifolia* L. and *Cuminum cyminum* L. in soup. *Iran. J. Food Sci. Tech.* 2012; 9: 33 - 45.

29. Rahimi AR, Rokhzadi A, Amini S and Karami E. Effect of salicylic acid and methyl jasmonate on growth and secondary metabolites in *Cuminum cyminum* L. *J. Biodivers Environ. Sci*. 2013; 3 (12): 140 - 9.

30. Iacobellis NS, Lo Cantore P, Capasso F and Senatore F. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. *J. Agric. Food Chem*. 2005; 53: 57 - 61.

31. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. *Int. J. Food Microbiol*. 2004; 94: 223 - 53.

32. Ponce AG, Roura SI, DelValle CE and Moreira MR. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: In vitro and in vivo studies. *Postharvest Biol. Technol*. 2008; 49: 294 - 300.

33. Jannati M, Abdossi V and Mashhadi Akbar Boujar M. Effect of calcium chloride and thyme essential oils application on some postharvest characteristics of strawberry fruit cv. Selva. *Modern Sci Sustain. Agric J*. 2014; 10, 2 (2): 25-32.

34. Alikhani-Koupaei M, Mazlumzadeh M, Sharifani M and Adibian M. Enhancing stability of essential oils by microencapsulation for preservation of button mushroom during postharvest. *Food Sci. Nutr*. 2014; 2 (5): 526 - 33.

35. Alikhani-Koupaei M. Liposomal and edible coating as control release delivery systems for essential oils: comparison of application on storage life of fresh-cut banana. *Qual. Assur. Saf. Crop Foods* 2014; 7 (12): 175 - 85.

36. Nasiri E, Moosavi-Nasab M, Shekarforoush SS and Golmakani MT. The effects of *Zataria multiflora* on inhibition of polyphenoloxidase and melanosis formation in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Iranian Scient Fish J*. 2014; 23 (3): 109 - 19.

37. Furneri PM, Marino A, Saija A, Uccella Nand Bisignano G. In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. *Int. J. Antimicrob Agents* 2002; 20: 293 - 6.

38. Eissa HA, Abd-Elfattah SM and Abu-Seif FA. Anti-microbial, anti-browning and anti-mycotoxigenic activities of some essential oil extracts in apple juice. *Pol. J. Food Nutr. Sci*. 2008; 58 (4): 425 - 32.

39. Kajiwara T, Matsui K, Akakabe Y, Murakawa T and Arai C. Antimicrobial browning-inhibitory effect of flavor compounds in seaweeds. *J. Appl. Phycol*. 2006; 18: 413 - 22.

40. Kubo I and Kinst-Hori I. Tyrosinase inhibitors from cumin. *J. Agric. Food Chem*. 1998; 46: 5338 - 41.

41. Talano AM, Agostini E, Oller WLA, Medina IM and Forchetti MRS. Modulator role of ascorbic acid on coniferyl alcohol oxidation by a basic peroxidase from tomato hairy roots. *Plant Sci*. 2008; 175: 724 - 30.

42. Vina SZ and Chaves AR. Antioxidant responses in minimally processed celery during refrigerated storage. *Food Chem*. 2006; 94: 68 - 74.

43. Alikhani M, Sharifani M, Mousavizadeh S.J and Azizi M. The antioxidative activity of some essential oils in reducing peroxidase activity and enzymatic browning in some vegetables. *J. Agric. Sci. Natur. Resour*. 2009; 16 (2): 203 - 7.

44. Baldwin EA, Nisperos MO, Chen X and Hagenmaier RD. Improving storage life of cut apple and potato with edible coating. *Postharvest Biol. Technol*. 1996; 9.2: 151 - 63.

45. Hamid M and Rehman Kh. Potential applications of peroxidases. *Food Biochem*. 2009; 115: 1177 - 86.

Archive of SID

www.SID.ir