Archive of SID

مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

غیر فعال سازی غیر حرارتی آنزیم پراکسیداز کدو سبز: مدل‌سازی سطح پاسخ تأثیر اسانس‌های زیره، رازیانه و میخک

نرجس آقاجانی[۱]، امیر دارائی گرمه خانی[۲*]

۱- استادیار، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی بهار، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

۲- استادیار، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده فنی و منابع طبیعی تویسرکان، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹ /۰۸/۱٤

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۰۹

کلمات کلیدی:

کدو سبز،

غیر فعال سازی آنزیم پراکسیداز،

اسانس زیره،

اسانس میخک،

اسانس رازیانه.

DOI: 10.29252/fsct.18.05.09

* مسئول مکاتبات:

amirdaraey@basu.ac.ir.

چکیده

با افزایش آگاهی مصرف کنندگان به مضرات مواد شیمیایی و تأثیر فراوری حرارتی در کاهش ارزش تغذیه‌ای، تقاضای برای تولید و استفاده از مواد غذایی تازه و یا کمتر فرآوری شده افزایش یافته است. در این مطالعه توانایی اسانس‌های زیره سبز، رازیانه و میخک (غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ppm ۲۰۰ و فرم خالص) در غیر فعال سازی آنزیم پراکسیداز کدو سبز بررسی شد. نتایج نشان داد که تنها فرم خالص و غلظت ppm ۲۰۰ اسانس زیره سبز و همچنین فرم خالص و غلظت‌های بالای (۱۰۰ و ppm ۲۰۰) اسانس رازیانه، توانایی کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز را دارا بودند اما استفاده از غلظت‌های ۵۰ و ppm ۷۵ اسانس رازیانه باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز شده بود. اسانس میخک در کلیه غلظت‌های مورد مطالعه موجب کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد که نشان دهنده توانایی اسانس میخک در واکنش با اکسیژن محیط و ممانعت از واکنش آنزیم پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز (قهوه‌ای شدن آنزیمی) می‌باشد. بهترین شرایط برای غیر فعال سازی آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر اسانس زیره شامل غلظت اسانس ppm ۱۹٤/۵ و زمان فعالیت آنزیمی ۰/۰۲ ثانیه بود در حالیکه شرایط بهینه برای دست یابی به کم‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز شامل استفاده از ppm۲۰۰ اسانس رازیانه و زمان فعالیت آنزیمی صفر ثانیه، و ppm ۲۰۰ اسانس میخک و زمان فعالیت آنزیمی ۱/۷ ثانیه می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

۱- مقدمه

آنزیم‌ها پروتئین‌های با نقش‌های بیولوژیکی مختلف هستند که به صورت بسیار تخصصی واکنش‌های بیولوژیکی مربوط به بسیاری از فرآیندهای متابولیک موجودات زنده را کاتالیز می‌کنند [۱]. آنزیم‌ها واکنش‌های شیمیایی را از طریق تبدیل سوبسترا به محصول کاتالیز یا تسریع کرده و از یک یا تعداد بیشتری اسکلت پلی پتیدی متشکل از توالی اسیدهای آمینه با ساختار مارپیچی تشکیل شده‌اند. فعالیت آنزیم‌ها معمولاً به ساختار سه بعدی آن‌ها وابسته است. در صنایع غذایی معمولاً فعالیت آنزیم‌های مخرب مطلوب نبوده و باعث افت کیفیت در طی دوره انبارداری می‌شوند. آنزیم پلی فنول اکسیداز (**PPO**) یکی از آنزیم‌های مخرب در صنایع غذایی است که متالوپروتئینی اکسیدورودکتاز و حاوی مس است که مسئول واکنش‌های قهوه‌ای شدن در میوه‌ها و سبزیجات (سیب، گلابی، هلو، کاهو، قارچ و ....) و برخی غذاهای دریایی می‌باشد [۲]. برای کنترل فعالیت **PPO** از ترکیبات ضد قهوه‌ای شدن نظیر سولفیت، کلرور سدیم، سیستئین، ویتامین ث و سینامیک اسید استفاده می‌شود که هرکدام از این ترکیبات مکانیسم بازدارندگی فعالیت آنزیم **PPO** متفاوت و مخصوص به خود را دارند [۳].

مصرف کنندگان محصولات غذایی عاری از نگه‌دارنده‌ها را ترجیح می‌دهند بنابراین تمایل جهانی به سمت کاهش مصرف افزودنی‌های شیمیایی است که می‌توانند اثرات منفی روی سلامت مصرف کننده بگذارند. غیر فعال سازی آنزیم‌ها معمولاً از طریق ممانعت دسترسی به سوبسترا، حذف و تغییر شرایط محیط از نظر **pH** و وجود یا عدم وجود اکسیژن و یا تخریب بخش پروتئینی آنزیم (دناتوراسیون) صورت می‌گیرد. فرآیند حرارتی ساده‌ترین روش برای کنترل قهوه‌ای شدن میوه‌ها و سبزیجات است که در صنعت به آن بلانچینگ و پاستوریزاسیون می‌گویند. اما استفاده از حرارت می‌تواند اثرات منفی روی عطر و طعم محصول گذاشته و برخی مواد مغذی مثل ویتامین ث، پلی فنول‌ها و سایر ترکیبات آنتی اکسیدانی را تخریب نماید [٦-٤]. بلانچینگ پیش تیمار حرارتی رایج مورد استفاده در میوه‌ها و سبزیجات قبل از فرآوری و فرآیندهای انجماد، خشک کردن و کنسروسازی است. بلانچینگ در آب داغ (۱۰۰- ۸۵ درجه سانتی‌گراد) معمولاً منجر به از دست دادن مواد مغذی مانند مواد معدنی و ویتامین‌ها می‌شود [۷].

شاخص کلی مورد استفاده برای بلانچینگ میوه‌ها و سبزیجات، غیر فعال سازی آنزیم پراکسیداز (**EC1.11.1.7**) است که مقاوم‌ترین آنزیم در برابر حرارت است. پراکسیداز گیاهی (**POD**) آنزیمی است که به فرم‌های مختلف در گیاهان یافت شده و دارای نقش‌های فیزیولوژیکی مختلفی است. پراکسیداز در فرآیند رشد و نمو موجب بیوسنتز و تجزیه لیگنین در دیواره سلولی، پاسخ به تنش‌های محیطی و فلزات شده و دارای نقش حفاظتی بر علیه پاتوژن‌ها نیز می‌باشد، همچنین در رسیدگی و رشد میوه و سبزی نیز نقش دارد [۹-۸]. این آنزیم با تجزیه آب اکسیژنه موجب ایجاد اکسیژن می‌شود که این اکسیژن برای فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز و اکسیداسیون ترکیبات فنولی داخل میوه و سبزی به ترکیبات قهوه‌ای رنگ ضروری است. این آنزیم همچنین در محصولات غذایی فرآوری شده و فرآوری نشده نقش مهمی در ایجاد بد طعمی و بد رنگی محصول دارد [۱۰]. بنابراین، غیر فعال‌سازی این آنزیم به منظور حفظ محصول از بد طعمی و بد رنگی در صنعت ناگزیر است و با غیر فعال سازی آن اکسیژن لازم برای قهوه‌ای شدن آنزیمی و فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز تولید نشده و واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی ممانعت می‌شود. **POD** در بافت‌های گیاهی به صورت ترکیبی از ایزو آنزیم‌های مختلف با مقاومت حرارتی متفاوت وجود دارد و مقاومت حرارتی آن‌ها بسته به نوع و منبع سبزی متفاوت است [١٤-١١]. به علت فراوانی این آنزیم در گیاهان و مقاومت حرارتی بالای آن به عنوان شاخص آنزیمی مطرح است و با غیر فعال‌سازی آن می‌توان فرض کرد کلیه آنزیم‌های مخرب از بین رفته‌اند [۱۵]. جهت اطمینان از غیر فعال‌سازی آنزیم، حرارت دهی یا بلانچینگ معمولاً در دمایی بالاتر از دمای مورد نیاز برای تخریب آنزیم انجام می‌شود.

امروزه تمایل به مصرف غذاهای آماده و سالم نظیر کنسروها، کنسانتره‌ها، سبزیجات آماده مصرف و ... افزایش یافته است و این محصولات بایستی علاوه بر ایمنی، دارای خواص عطر و طعمی، بافت، رنگ و ارزش تغذیه‌ای طبیعی بوده و عاری از عوامل فساد و تخریب نیز باشند [١٦]. روش‌های مختلفی برای غیر فعال سازی غیر حرارتی آنزیم‌های گیاهی استفاده شده است که محدودیت‌ها و مزایای خاص خود را دارند. به عنوان مثال در تحقیقی کارایی فرآیند فشار هیدرواستاتیک بالا (**HHP**) در ترکیب با فرایند حرارتی ملایم بر غیر فعال سازی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

آنزیم‌های پراکسیداز (**POD**) در هویج، لوبیای سبز و نخود سبز بررسی شد. در مرحله اول، نمونه‌ها تحت فشار ٤٥۰-۲٥۰ مگا پاسکال و دمای ٥۰-٥۰ به مدت ۱٥-٦۰ دقیقه قرار گرفتند. در مرحله دوم تحقیق، تیمار دو مرحله‌ای به صورت بلانچ در آب با دمای ٤۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱٥ و ۳۰ دقیقه و سپس فرآیند فشار ۲٥۰ مگا پاسکال و ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱٥-٦۰ دقیقه انجام شد. در هویج مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز پس از اعمال ۳۰ دقیقه تیمار فشار ۳٥۰ مگا پاسکال در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به ۱٦٪ فعالیت اولیه کاهش یافت و با طولانی‌تر کردن زمان اعمال فشار بالا به ٦۰ دقیقه مقدار فعالیت آنزیم به ۹٪ مقدار اولیه کاهش یافت. برای لوبیای سبز، مؤثرترین نتایج با اعمال تیمار دو مرحله‌ای به دست آمد اما در نخود سبز غیر فعال سازی آنزیم پراکسیداز به صورت موثری به دست نیامد [۱۷]. همچنین با توجه به ماهیت اکسیداسیون و احیایی بودن فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز، استفاده از آنتی اکسیدان های گیاهی می‌تواند به عنوان یک ایده مناسب در غیر فعال سازی آنزیم پراکسیداز در میوه‌ها و سبزیجات مطرح باشد. در این زمینه تحقیقات مختلفی نظیر بررسی تأثیر اسانس آویشن بر فعالیت آنزیم پراکسیداز ترب سیاه و لوبیا سبز [۱۸]، تأثیر اسانس میخک بر غیر فعال سازی آنزیم پراکسیداز تربچه [۱۹]، غیر فعال سازی آنزیم پراکسیداز کلم قرمز تحت تأثیر اسانس‌های میخک، رازیانه و زیره سبز [۲۰]، تأثیر اسانس‌های گلپر، آویشن و میخک بر آنزیم پراکسیداز کرفس [۲۱] توسط محققین مختلف صورت گرفته است. نتایج این تحقیقات نشان داد که واکنش و رفتار آنزیم پراکسیداز به اسانس‌های مختلف بر اساس نوع منبع آنزیمی متفاوت بود. به طوری که اسانس آویشن در ترب سیاه و لوبیا سبز به ترتیب موجب کاهش و تشدید فعالیت آنزیم پراکسیداز شده بود. همچنین این محققین علت کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز را به خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس‌های مورد استفاده مرتبط دانستند. در حقیقت اسانس‌ها با ترکیب شدن با اکسیژن مورد نیاز برای اکسیداسیون ترکیبات فنولی (گایاکول) را حذف کرده و مانع ایجاد رنگ قهوه‌ای می‌شوند. خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی اسانس‌های مختلف به مواد مؤثره موجود در آن‌ها بستگی دارد بنابراین آگاهی از نوع و مقدار این مواد در اسانس‌ها می‌تواند به درک بهتر مکانیسم اثر بازدارندگی اسانس کمک کند. اسانس میخک دارای ترکیبات فراری نظیر اوژنول، کاربوفیلین، الکل بنزیلیک، بنزوات دو متیل، فورفوول و اتیلن می‌باشد که اوژنول ماده اصلی میخک می‌باشد. کومینول ماده مؤثره زیره سبز می‌باشد که ترکیبی آلدئیدی است و حدود ۳۰-٥۰ درصد ترکیبات فرار زیره سبز را تشکیل می‌دهد. در اسانس دانه رازیانه حدود ٤۰ ترکیب شناسایی شده است که بتا- میرسن، آلفا، فلاندورن، لیمونن، آلفا- پینن ترکیبات غالب شناسی شده می‌باشند. با توجه به مطالب قید شده و تمایل مصرف کننده‌ها به مصرف غذاهای با حداقل فرآوری و عاری از نگه‌دارنده‌های شیمیایی این مطالعه با هدف بررسی تأثیر استفاده از اسانس‌های میخک، زیره و رازیانه در غیر فعال‌سازی آنزیم پراکسیداز کدو سبز انجام شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد مورد استفاده

در این مطالعه کدو سبز به عنوان منبع آنزیم پراکسیداز انتخاب و از بازار میوه و سبزی همدان (ایران) تهیه شد. اسانس‌های میخک، زیره و رازیانه از شرکت باریج اسانس تهیه و غلظت-های ٥۰، ۷٥، ۱۰۰ و ppm ۲۰۰ آن‌ها با استفاده از توین ۸۰ (مرک، آلمان) به عنوان امولسیفایر تهیه و تأثیر آن‌ها بر فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز بررسی شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- تهیه عصاره آنزیمی

برای تهیه عصاره آنزیمی ٥ گرم کدو سبز با افزودن ۱٥ میلی لیتر آب مقطر (٤ درجه سانتی‌گراد) خرد و مخلوط حاصل به مدت ۱٥ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ (rpm ۱۰۰۰۰) شد و فاز رویی به عنوان عصاره آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت [۱۸].

۲-۲-۲- مخلوط سوبسترای واکنش

مخلوط سوبسترای آزمایش شامل ۱۰ میلی لیتر گایاکول ۱٪، ۱۰ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳٪ و ۱۰۰ میلی لیتر بافر فسفات سدیم بود که پس از تهیه pH آن روی ٦/٥ تنظیم شد [۲۲].

۲-۲-۳- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز بر اساس روش پونس و همکاران (۲۰۰٤) انجام شد برای این منظور، مقدار ۲/۸۷ میلی لیتر مخلوط سوبسترا، ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره خام کدو

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

سبز و ۰/۰۳ میلی لیتر آب مقطر که جمعاً ۳ میلی‌لیتر بود به کاوت منتقل و با استفاده از اسپکتروفتومتر دو پرتویی ماوراء بنفش- مرئی (پی جی اینسترومنت، انگلستان)، در طول موج ٤٧٠ نانومتر و در دمای محیط (۳۰ درجه سانتی‌گراد) جذب نمونه‌ها به صورت سینتیکی قرائت شد [۲۲]. تأثیر اسانس‌های گیاهی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز، با افزودن ۰/۰۳ میلی لیتر از غلظت‌های مختلف اسانس‌های گیاهی، به جای ۰/۰۳ میلی لیتر آب مقطر (در مخلوط فوق) به کاوت و سپس قرائت جذب نمونه‌ها در طول موج ٤٧٠ نانومتر بررسی شد.

۲-۳- آزمایشات بهینه‌سازی

بهینه‌سازی فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر اسانس‌های گیاهی با استفاده از روش سطح پاسخ (نرم افزار Design Expert 6.0.2) و طرح مرکب مرکزی (CCD[1]) با ۳ سطح و ۵ تکرار در نقطه مرکزی انجام شد (۱+، ۰، ۱-) (جدول ۱). محدوده‌ی متغیرهای مستقل زمان فعالیت آنزیمی (X_1)، غلظت اسانس‌های مورد استفاده (X_2) از آزمون‌های اولیه استنتاج گردید. مدل‌های رگرسیونی چند جمله‌ای درجه دوم به منظور پیش‌بینی پاسخ، در نظر گرفته شد که به صورت معادله (۱) می‌باشد:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{3} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{3} \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{2} \sum_{j=i+1}^{3} \beta_{ij} x_i x_j$$

که Y متغیر وابسته (فعالیت آنزیم پراکسیداز که به صورت جذب اسپکتروفتومتر) می‌باشد، β_0 ضریب ثابت مدل و β_i و β_{ii} و β_{ij} ضرایب ثابت برآورد شده توسط مدل برای متغیرهای مستقل x_i و x_j و اثرات متقابل آن‌ها هستند.

Table 1 Independent variables and their applied levels for optimizing peroxidase enzyme activity in courgette under effect of different essential oils

Independent variables	Variables level		
	-1	0	+1
The time of enzyme activity (s)	0	200	400
Essential oil concentration (ppm)	0	100	200

٢-٤- تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار به منظور بررسی تأثیر نوع و غلظت اسانس‌های طبیعی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز انجام شد. با توجه به اینکه فعالیت آنزیم‌ها به صورت سینتیکی می‌باشد، برای بررسی تأثیر اسانس‌های مورد مطالعه در کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز، منحنی‌های فعالیت آنزیم پراکسیداز به صورت سینتیکی رسم و با نمونه شاهد (بدون اسانس) مقایسه شدند ($p< ۰/۰۵$). برای رسم نمودارها از نرم افزار (۲۰۰۷) Excel استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز تحت تأثیر اسانس‌های زیره سبز، رازیانه و میخک

همان‌طور که در شکل (۱) ملاحظه می‌شود تنها فرم خالص و غلظت ppm ۲۰۰ اسانس زیره سبز باعث کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در کدو سبز شده است. همچنین فرم خالص و غلظت‌های بالای (۱۰۰ و ppm ۲۰۰) اسانس رازیانه، توانایی کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز را دارا بودند اما استفاده از غلظت‌های ۵۰ و ppm ۷۵ اسانس رازیانه باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز شده است. اسانس میخک در کلیه غلظت‌های مورد مطالعه موجب کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز شدند که این کاهش بیانگر کاهش سوبسترای مصرفی و یا کاهش اکسیژن مورد نیاز آنزیم برای ایجاد رنگ قهوه‌ای می‌باشد که نشان دهنده توانایی این اسانس در واکنش با اکسیژن محیط و ممانعت از واکنش آنزیم پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز (قهوه‌ای شدن آنزیمی) می‌باشد. نتایج سایر محققین نیز بیانگر تأثیر مثبت اسانس میخک در ممانعت از فعالیت آنزیم پراکسیداز در کلم سفید و کلم قرمز بود و اثر ممانعت کنندگی اسانس با افزایش غلظت اسانس تشدید می‌شد [۲۳].

شکل ۲ منحنی‌های سه بعدی و دو بعدی (کنتور) تأثیر هم‌زمان غلظت اسانس‌های زیره، رازیانه و میخک و زمان فعالیت آنزیمی بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز را نشان می‌دهد. همان‌طور که در بخش‌های (A) و (B) شکل ۲ ملاحظه می‌شود با افزایش غلظت اسانس‌های زیره و رازیانه میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز روند افزایشی را نشان می‌دهد که این افزایش فعالیت آنزیمی با طولانی شدن زمان واکنش بیشتر مشهود می‌باشد. همچنین با افزایش زمان فعالیت آنزیمی، فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش می‌یابد هرچند که در انتهای

1. Central Composite Design

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

زمان فعالیت آنزیمی به علت کم شدن سوبسترای در دسترس آنزیم و کم شدن فعالیت اکسیداتیو آنزیم، میزان فعالیت آنزیمی روند تقریباً ثابت و نزولی آهسته‌ای را نشان می‌دهد [۲۵-۲٤].

همان‌طور که در بخش (C1 و C2) شکل ۲ مشخص است در غلظت ثابت اسانس میخک، با افزایش زمان فعالیت آنزیمی، فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش می‌یابد که می‌تواند به علت افزایش دسترسی آنزیم به سوبسترا باشد که با نتایج سایر محققین نیز مطابقت دارد. به گونه‌ای که در بالاترین زمان فعالیت آنزیمی انتخاب شده بیشترین فعالیت آنزیمی (جذب) مشاهده می‌شود. همان‌طور که مشاهده می‌شود در زمان‌های اولیه واکنش آنزیمی، افزایش غلظت اسانس میخک منجر به تغییر ثابت توام با افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز می‌شود. در زمان‌های فعالیت آنزیمی طولانی‌تر و غلظت‌های بالاتر اسانس، به دلیل ترکیب شدن اسانس با اکسیژن محیط از واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی ممانعت شده و در نتیجه فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش می‌یابد [۲۰]. با افزایش زمان فعالیت آنزیمی از شدت و نرخ فعالیت آنزیمی (جذب) کاسته می‌شود که این کاهش می‌تواند به علت کم شدن سوبسترای در دسترس آنزیم و کم شدن فعالیت اکسیداتیو آنزیم باشد؛ از سوی دیگر تشکیل ترکیبات ممانعت کننده، از فعالیت آنزیمی نیز می‌تواند در این مورد اثرگذار باشند [۲۵-۲٤].

افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزایش زمان فعالیت آنزیمی، در مطالعات سایر محققین نیز ثابت شده است [۲۰-۱۸ و ۲٦].

کاشانی نژاد و دارائی (۲۰۱۳) نیز در تحقیقی بیان داشتند که اسانس‌ها با ترکیب شدن با اکسیژن محیط مانع از قهوه‌ای شدن آنزیمی شده و در نتیجه فعالیت آنزیم پراکسیداز را تحت کنترل قرار می‌دهند که با نتایج اسانس میخک در تحقیق حاضر مطابقت داشت [۲٤]. تحقیقات سایر محققین نیز اثر ممانعت کنندگی فعالیت آنزیم پراکسیداز در سبزیجات مختلف تحت تأثیر اسانس‌های گیاهی را نشان می‌دهد که موید نتایج تحقیق حاضر می‌باشند [۲۰ و ۲۳].

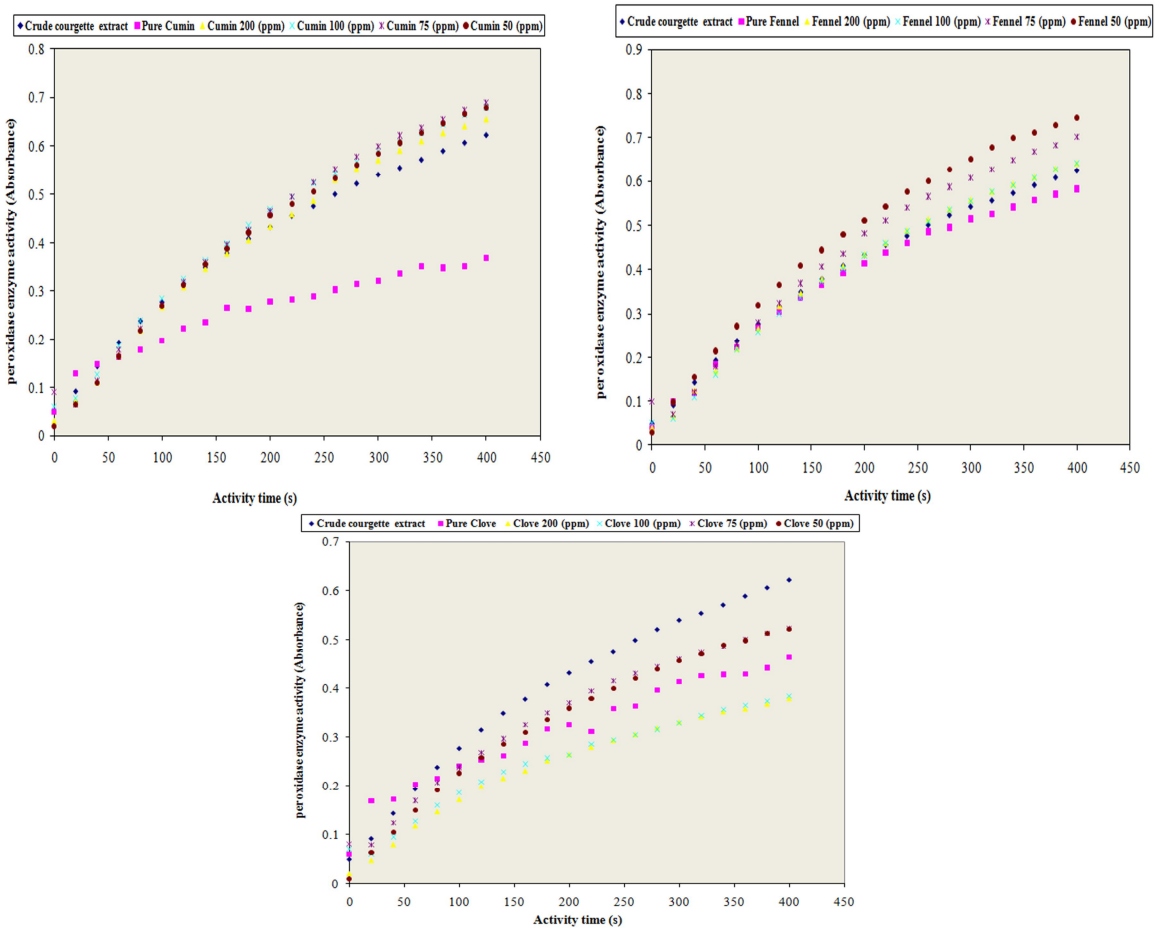

Fig 1 Effect of a) Cumin b) fennel and c) Clove essential oils on peroxidase enzyme activity in courgette extract

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

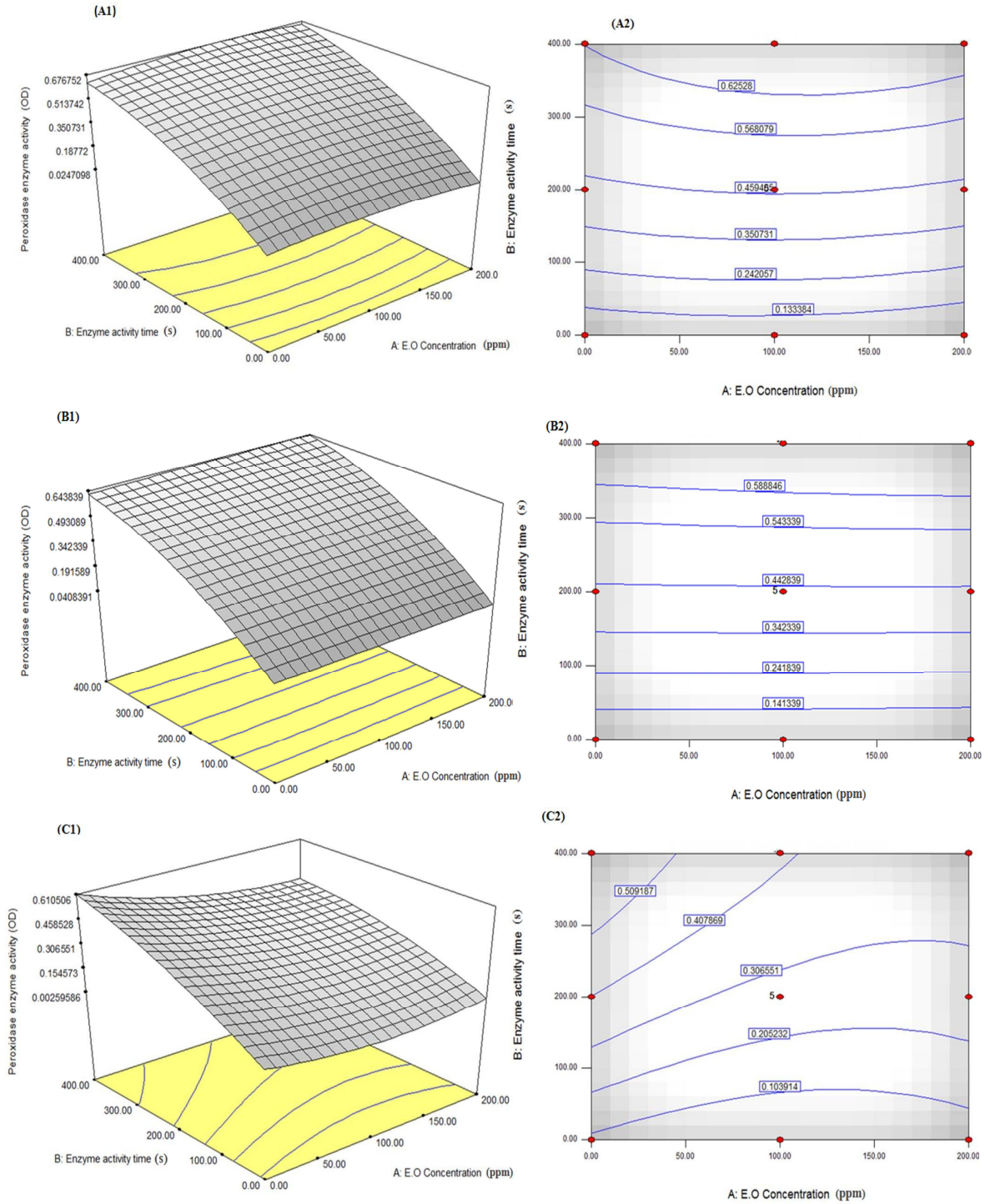

Fig 2 3D surface of the simultaneous effect of different concentration of a) Cumin b) and fennel c) Clove essential oils and enyme activity time on peroxidase enzyme activity in courgette

با افزایش مدت زمان فعالیت آنزیمی خصوصاً هرچه به انتهای واکنش نزدیک شویم، شدت و نرخ فعالیت آنزیمی (جذب) کاهش می‌یابد؛ که می‌تواند ناشی از کاهش سوبسترا، کاهش فعالیت اکسیداتیو آنزیم و نیز تشکیل ترکیبات ممانعت کننده از فعالیت آنزیمی باشد [۲۰ و ۲۳]. اسانس‌ها با ترکیب شدن با اکسیژن محیط مانع واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی شده و در نتیجه فعالیت آنزیم پراکسیداز را کنترل می‌کنند [۲٤]. دارائی گرمه خانی و همکاران (۲۰۱۰) افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در کلم سفید و کلم قرمز را با افزایش زمان فعالیت و افزایش غلظت اسانس‌های رازیانه و زیره سبز گزارش

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

نمودند در حالی کـه بـا افـزایش غلظـت اسـانس میخـک اثـر بازدارندگی فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت که می‌تواند به علت قدرت آنتی اکسیدانی و مهار کنندگی اکسیژن، بـالاتر اسانس میخک نسبت به اسانس‌های رازیانه و زیره سـبز باشـد [۲٦].

۳-۲- بهینه‌سازی تأثیر اسانس‌های زیـره سـبز، رازیانه و میخک بـر غیـر فعـال سـازی آنـزیم پراکسیداز کدو سبز

در جدول ۲ طرح آزمایشی با سطوح واقعی متغیرهای مستقل و نتایج فعالیت آنزیم پراکسیداز (جذب اسپکتروفتومتر) مربوط به تأثیر اسانس‌های زیره سبز، رازیانه و میخک بر فعالیـت آنـزیم پراکسیداز کدو سبز به همـراه نتـایج پـیش بینـی شـده توسـط معادلات حاصل از روش سطح پاسخ نـشان داده شـده اسـت. نتایج مربوط به تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر اسانس‌های میخک، زیره و رازیانه در جدول ۳ ارائه شده‌اند. ضرایب رگرسیون چندگانه به منظور پیش‌بینی مدل مناسب برای متغیر پاسخ محاسبه شد و با توجه به معنی‌داری ضرایب (جدول ۳)، معادلات ۲، ۳ و ٤ به ترتیب برای فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز تحت تأثیر اسانس‌هـای زیره، رازیانه و میخک ارائه گردید:

$$Y1= 0.468034 + (0.002333) \times X_1 + (0.303167) \times X_2 - (0.03362)\ X_1^2 - (0.09612) \times X_2^2 + (0.01275) \times X_1 X_2 \quad (۲)$$

$$Y2= 0.432138 + (0.002167) \times X_1 + (0.2945) \times X_2 - (0.00198)\ X_1^2 - (0.08998) \times X_2^2 + (0.007) \times X_1 X_2 \quad (۳)$$

$$Y3= 0.269138 - (0.07367) \times X_1 + (0.207667) \times X_2 + (0.063517)\ X_1^2 - (0.05748) \times X_2^2 - (0.054) \times X_1 X_2 \quad (٤)$$

که در معادلات فوق X_1 و X_2 به ترتیب غلظت اسانس و زمان فعالیت آنزیمی می‌باشند.

معادله ۲ تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز تحت تأثیر اسانس زیره را نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود این معادله به صورت چند جمله‌ای و درجه دوم می‌باشد. در بررسی تأثیر اسانس زیره بر فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز، آزمون ANOVA مشخص نمود که مدل درجه دوم به اندازه کافی بیانگر فعالیت آنزیم پراکسیداز (پاسخ)، با ضرایب مشخص می‌باشد. ضریب تعیین بالا (R^2 =۰/۹۹۹۷) موید این است که مدل رگرسیون، واکنش را به خوبی توضیح داده و مدل برازش شده توانسته ۹۹/۹۷ درصد از کل تغییرات در دامنه‌ی مقادیر مورد مطالعه را توضیح دهد. مقادیر R^2 واقعی و R^2 تعدیل شده[2] به ترتیب ۰/۹۹۹۷ و ۰/۹۹۹۵ به دست آمدند، نیز بیانگر توصیف مناسبی از پراکندگی داده‌ها هستند (معادله ۲). همچنین آزمون ANOVA مشخص نمود که مدل چند جمله‌ای درجه‌ی دوم قادر به پیش بینی تأثیر اسانس رازیانه بر فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز می‌باشد. در معادله ۳، مقادیر R^2 واقعی و R^2 تعدیل شده به ترتیب ۰/۹۹۹۸ و ۰/۹۹۹۷ به دست آمدند که بیانگر توصیف مناسبی از پراکندگی داده‌ها می‌باشند. مناسب بودن مدل با استفاده از آزمون فقدان برازش[3] مورد بررسی قرار گرفت که برای $P > ۰/۰۵$ معنی‌دار نبود. فرض آزمون عدم برازش در معادله مدل (معادله ۳) معنی‌دار نبود ($P> ۰/۰۵$) و مدل بر اساس فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز (تحت تأثیر اسانس رازیانه) برازش گردید. برازش خوب به این معنی است که مدل ایجاد شده توانسته است که تغییرات در داده‌ها را به اندازه کافی توضیح دهد [۲۰]، لذا این مدل جهت پیش‌بینی در دامنه متغیرهای مورد استفاده مناسب بود (معادله ۳). همچنین مقادیر R^2 واقعی و R^2 تعدیل شده در معادله ٤، به ترتیب ۰/۹۷۱۳ و ۰/۹۵۰۳ می‌باشد که بیانگر توصیف مناسب پراکندگی داده‌ها توسط معادله ٤ می‌باشند. شکل (۳) رابطه بین مقادیر واقعی فعالیت آنزیم پراکسیداز حاصل از آزمایش و مقادیر پیش بینی شده توسط معادله‌های Y1، Y2 و Y3 برای اسانس‌های زیره، رازیانه و میخک را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل (۳) مشاهده می‌شود مقادیر ضریب تعیین (R^2) بالایی بین داده‌های واقعی و پیش بینی شده توسط مدل برای فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر هر سه اسانس مشاهده می‌شود که نشان دهنده دقت بالای روابط Y1، Y2 و Y3 و مدل‌های سطح پاسخ ایجاد شده در این تحقیق می‌باشد.

2. Adjusted R-Squared
3 . Lack of fit

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

Table 2 Central composite design, actual levels of independent variables and peroxidase activity of crude extracts of courgette under effect of different essential oils.

Independent variables			Actual dependent variable (Response)			Predicted dependent variable (Response)		
Treatment number	Essential oil Concentration (X1) (ppm)	The time of enzyme Activity (X2) (s)	Enzyme activity or Absorbance			Enzyme activity or Absorbance		
			Cumin essential oil	Fennel essential oil	Clove essential oil	Cumin essential oil	Fennel essential oil	Clove essential oil
1	100	200	0.049	0.049	0.049	0.046	0.051	0.087
2	0	400	0.03	0.040	0.020	0.025	0.041	0.048
3	0	0	0.623	0.623	0.623	0.626	0.626	0.611
4	100	0	0.655	0.642	0.378	0.657	0.644	0.355
5	200	0	0.432	0.432	0.432	0.432	0.428	0.406
6	100	200	0.433	0.435	0.264	0.437	0.432	0.259
7	100	200	0.06	0.050	0.070	0.069	0.048	0.004
8	200	200	0.68	0.641	0.384	0.675	0.637	0.419
9	100	200	0.471	0.435	0.262	0.468	0.432	0.269
10	100	400	0.469	0.430	0.265	0.468	0.432	0.269
11	200	400	0.469	0.432	0.263	0.468	0.432	0.269
12	100	200	0.468	0.429	0.264	0.468	0.432	0.269
13	0	200	0.467	0.428	0.261	0.468	0.432	0.269

Table 3 Analysis variance of regression coefficients of predicted quadratic polynomial models for predicting peroxidase enzyme activity in courgette under effect of different essential oils.

Essential oil	Source	DF	Sum of squares	Mean of squares	F-Value	p-Value	Coefficient
Cumin	Model	2	0.593599	0.11872	4611.511	< 0.0001	0.468034
	X1	1	3.27×10^{-5}	3.27×10^{-5}	1.268892	0.2971	0.002333
	X2	1	0.55146	0.55146	21420.71	< 0.0001	0.303167
	X1 × X1		0.003122	0.003122	121.2667	< 0.0001	-0.03362
	X2 × X2		0.025518	0.025518	991.202	< 0.0001	-0.09612
	X1 × X2		0.00065	0.00065	25.25806	0.0015	0.01275
	Residual	10	0.00018	2.57×10^{-5}	-	-	-
	Lack of fit	6	0.000171	5.71×10^{-5}	25.97118	0.0044	-
	Pure error	4	8.8×10^{-6}	2.2×10^{-6}	-	-	-
	Total	12	0.59378	-	-	-	-
Fennel	Model	5	0.547217	0.109443	7659.274	< 0.0001	0.432138
	X1	1	2.82×10^{-5}	2.82×10^{-5}	1.971214	0.2031	0.002167
	X2	1	0.520382	0.520382	36418.33	< 0.0001	0.2945
	X1 × X1	1	1.09×10^{-5}	1.09×10^{-5}	0.759883	0.4123	-0.00198
	X2 × X2	1	0.022363	0.022363	1565.04	< 0.0001	-0.08998
	X1 × X2	1	0.000196	0.000196	13.71685	0.0076	0.007
	Residual	7	0.0001	1.43×10^{-5}	-	-	-
	Lack of fit	3	6.92×10^{-5}	2.31×10^{-5}	2.996666	0.1583	-
	Pure error	4	3.08×10^{-5}	7.7×10^{-6}	-	-	-
	Total	12	0.547317	-	-	-	-
Clove	Model	5	0.3177	0.06354	47.33027	< 0.0001	0.269138
	X1	1	0.032561	0.032561	24.25413	0.0017	-0.07367
	X2	1	0.258753	0.258753	192.7424	< 0.0001	0.207667
	X1 × X1	1	0.011143	0.011143	8.300119	0.0236	0.063517
	X2 × X2	1	0.009126	0.009126	6.797923	0.0351	-0.05748
	X1 × X2	1	0.011664	0.011664	8.688401	0.0215	-0.054
	Residual	7	0.009397	0.001342	-	-	-
	Lack of fit	3	0.009387	0.003129	1251.648	< 0.0001	
	Pure error	4	0.00001	2.5×10^{-6}	-	-	-
	Total	12	0.327097	-	-	-	-

** significant at 1%, * significant at 5%, ns non significant

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

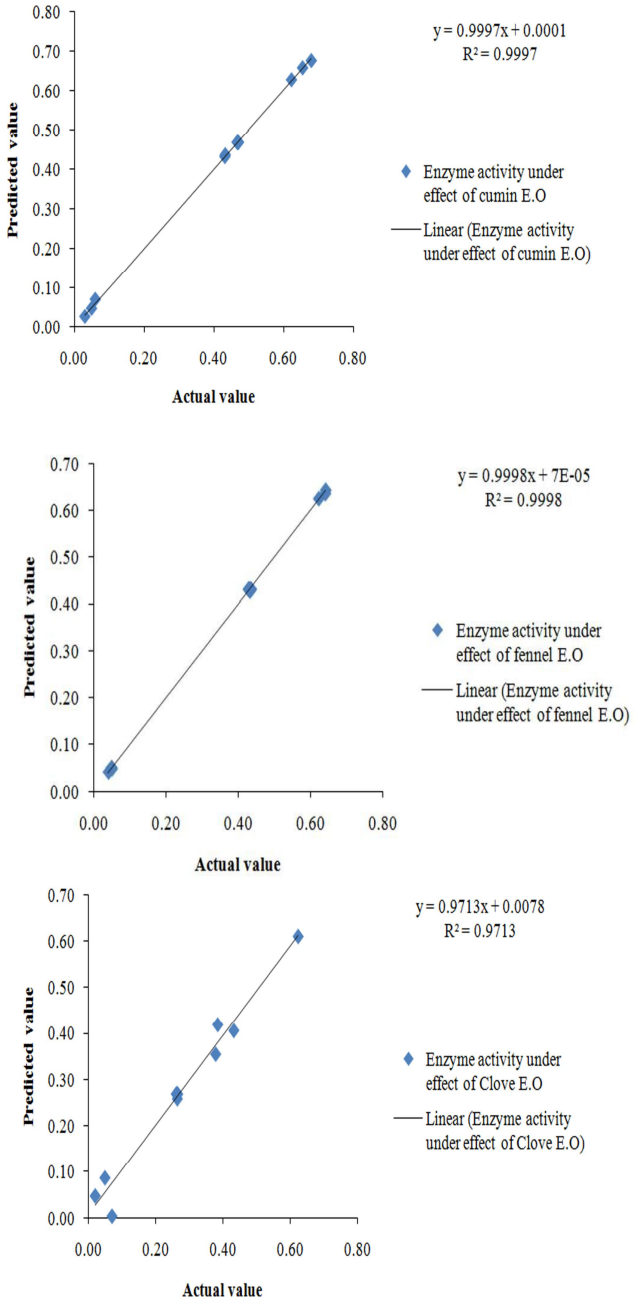

Fig 3 The actual versus predicted value for peroxidase enzyme activity under effect of a) cumin b) fennel and c) clove essential oil

شکل ٤ شرایط تعیین شده برای متغیرهای مستقل (جهت بهینه سازی تأثیر اسانس‌های مختلف بر فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز) و شرایط بهینه شده را نشان می‌دهد. در این شکل‌ها متغیرهای مستقل (غلظت اسانس و زمان فعالیت آنزیمی) در محدوده آزمایشات انجام شده در نظر گرفته شده است در حالیکه فعالیت آنزیم پراکسیداز به عنوان هدف فرآیند، حداقل در نظر گرفته شده است. در فرآیند بهینه‌سازی به تمامی پارامترهای مستقل وزن و اهمیت یکسان داده شد. با توجه به شرایط مورد نظر راه حل‌های پیش‌بینی شده که بر اساس بالاترین مطلوبیت برای هر اسانس در شکل ٤ ارائه شده است و هرچه مطلوبیت به ۱ نزدیک‌تر باشد مناسب‌ترین و بهترین شرایط خواهد بود که راه حل اول به عنوان بهترین شرایط جهت دست‌یابی به شرایط بهینه در نظر گرفته شد و با اعمال شرایط فرآیند بدست آمده در بهینه سازی کم‌ترین مقدار فعالیت آنزیمی تحت تأثیر هر کدام از اسانس‌های مورد مطالعه بدست خواهد آمد. همان‌طور که در شکل ٤ (A1 و A2) مشاهده می‌شود بهترین شرایط برای غیر فعال سازی آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر اسانس زیره شامل غلظت اسانس ppm۱۹٤/٥ و زمان فعالیت آنزیمی ۰/۰۲ ثانیه می‌باشد در حالیکه شرایط بهینه برای دست یابی به کم‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز شامل استفاده از غلظت اسانس رازیانه ppm ۲۰۰ و زمان فعالیت آنزیمی صفر ثانیه، و استفاده از غلظت اسانس میخک ppm ۲۰۰ و زمان فعالیت آنزیمی ۱/۷ ثانیه می‌باشد. با اعمال شرایط بهینه و استفاده از غلظت‌های بهینه اسانس‌های زیره، رازیانه و میخک فعالیت آنزیم پراکسیداز حداقل بوده و به ترتیب برابر ۰/۰۲۹، ۰/۰٤۱ و ۰/۰۱۳ می‌باشد.

۳-۳- نتیجه گیری کلی

قهوه‌ای شدن آنزیمی در میوه‌ها و سبزیجات اغلب در اثر فعالیت دو آنزیم پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز انجام شده که سبب تغییرات کیفی نامطلوب در رنگ، طعم و ارزش تغذیه‌ای در حین بسته بندی، جابجایی و انبارداری می‌شود. با توجه به اینکه اکسیژن نقش مهمی در ماهیت عمل این دو آنزیم داشته و عموماً نوعی واکنش اکسیداسیون- احیا محسوب می‌شوند، استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان می‌تواند به عنوان عاملی برای مهار فعالیت این آنزیم‌ها مطرح باشد؛ بنابراین در این تحقیق از اسانس‌های گیاهی (زیره، رازیانه و میخک) که دارای خواص ضد میکروبی اثبات شده هستند به عنوان آنتی اکسیدان های طبیعی برای غیر فعال سازی آنزیم پراکسیداز استفاده شد تا علاوه بر استفاده از خاصیت ضد میکروبی از این قابلیت آن‌ها نیز استفاده شود. نتایج این تحقیق نشان داد که تنها فرم خالص و غلظت ppm ۲۰۰ اسانس زیره سبز و همچنین فرم خالص و غلظت‌های بالای (۱۰۰ و ppm ۲۰۰) اسانس رازیانه، توانایی کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز کدو سبز را دارا بودند اما استفاده از غلظت‌های ٥۰ و ppm ۷٥ اسانس رازیانه باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز شده است. اسانس میخک در کلیه غلظت‌های مورد مطالعه موجب کاهش فعالیت آنزیم

www.SID.ir

Archive of SID

پراکسیداز شد که به علت کاهش سوبسترای مصرفی و یا کاهش اکسیژن مورد نیاز آنزیم برای ایجاد رنگ قهوه‌ای می‌باشد که این نتایج نشان دهنده توانایی اسانس میخک در واکنش با اکسیژن محیط و ممانعت از واکنش آنزیم پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز (قهوه‌ای شدن آنزیمی) می‌باشد. نتایج بهینه سازی نشان داد که بهترین شرایط برای غیر فعال سازی آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر اسانس زیره شامل غلظت اسانس ۱۹٤/٥ppm و زمان فعالیت آنزیمی ۰/۰۲ ثانیه می‌باشد در حالیکه شرایط بهینه برای دست یابی به کم‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز شامل استفاده از ۲۰۰ppm اسانس رازیانه و زمان فعالیت آنزیمی صفر ثانیه، و استفاده از ۲۰۰ ppm اسانس میخک و زمان فعالیت آنزیمی ۱/۷ ثانیه می‌باشد.

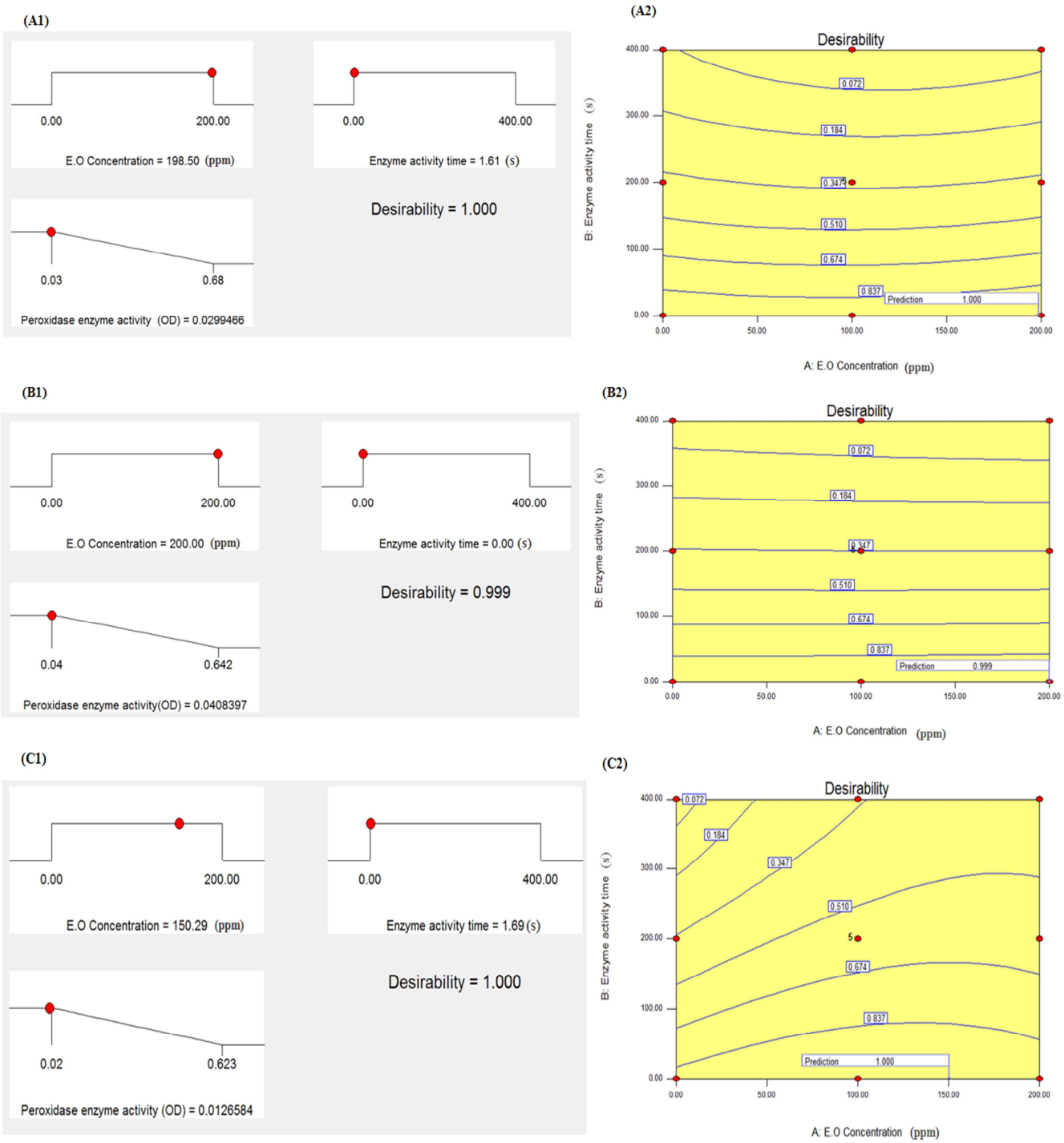

Fig 4 The optimum conditions for inactivation of peroxidase enzyme activity in courgette under simultaneous effect of different concentration of A) Cumin B) fennel and C) clove essential oils and enzyme activity time

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

٤- منابع

[1] Bugg, T.D.H., 2012. Enzymes Are Wonderful Catalysts. In Introduction to Enzyme and Coenzyme Chemistry. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 26–49.

[2] Martinez, M.V., and Whitaker, J.R. 1995. The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends in Food Science and Technology,* 6 (6): 195-200.

[3] Lambrecht, H.S. 1995. Sulfite substitutes for the prevention of enzymatic browning in foods. In: Lee, C.Y., Whitaker, J.R. (Eds.), Enzymatic Browning and its Prevention. American Chemical Society, Washington DC, pp. 166–177.

[4] Silva, F.M., Sims, C., Balaban, M.O., Silva, C.L.M., and O'Keefe, S. 2000. Kinetics of flavour and aroma changes in thermally processed cupuaçu (Theobroma grandiflorum) pulp. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 80 (6): 783-787.

[5] Castro, S.M., Saraiva, J.A., Lopes-da-Silva, J.A., Delgadillo, I., Van Loey, A., Smout, C., and Hendrickx, M. 2008. Effect of thermal blanching and of high pressure treatments on sweet green and red bell pepper fruits (Capsicum annuum L.). *Food Chemistry,* 107 (4): 1436-1449.

[6] Volden, J., Borge, G.I.A., Bengtsson, G.B., Hansen, M., Thygesen, I.E., and Wicklund, T. 2008. Effect of thermal treatment on glucosinolates and antioxidant-related parameters in red cabbage (Brassica oleracea L. ssp capitata f. rubra). *m* 109 (3): 595-605.

[7] Puupponen-Pimia, R., Hakkinen, S.T., Aarni, M., Suortti, T., Lampi, A.M., Eurola, M., Piironen, V., Nuutila, A.M., and Oksman-Caldentey, K.M. 2003. Blanching and long-term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 83 (14): 1389-1402.

[8] Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y., and Yoshimura, K. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany,* 53 (372): 1305-1319.

[9] Huang, R., Xia, R., Hu, L., Lu, Y., and Wang, M. 2007. Antioxidant activity and oxygen-scavenging system in orange pulp during fruit ripening and maturation. *Scientia Horticulturae,* 113 (2): 166-172.

[10] Lopez, P., Sala, F.J., Fuente, J.L., Condon, S., Raso, J., and Burgos, J. 1994. Inactivation of peroxidase, lipoxygenase, and polyphenol oxidase by manothermosonication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 42 (2): 252–256.

[11] Günes, B., and Bayındırlı, A. 1993. Peroxidase and Lipoxygenase Inactivation During Blanching of Green Beans, Green Peas and Carrots. *LWT,* 26 (5): 406-410.

[12] Tijskens, LMM., Rodis, PS, Hertog, MLATM., Waldron, KW., Ingham, L., Proxenia, N., and Dijk, C. 1997. Activity of peroxidase during blanching of peaches, carrots and potatoes. *Journal of Food Engineering,* 34 (4): 355-370.

[13] Busto, MD., Owusu Apenten, RK., Robinson, DS., Wu, Z., Casey, R., and Hughes, RK. 1999. Kinetics of thermal inactivation of pea seed lipoxygenases and the effect of additives on their thermostability. *Food Chemistry,* 65 (3): 323-329.

[14] Garrote, RL., Silva, ER., Bertone, RA., and Roa, RD. 2004. Predicting the end point of a blanching process. *LWT,* 37 (3): 309-315.

[15] Barret DM, Theerakulkait C. 1995. Quality indicators in blanched, frozen and stored vegetables. *Food Technology,* 49 (62): 64-65.

[16] Landl, A., Abadias, M., Sárraga, C., Viñas, I., and Picouet, P.A. 2010. Effect of high pressure processing on the quality of acidified Granny Smith apple purée product. *Innovative Food Science and Emerging Technologies,* 11 (4): 557–564.

[17] Akyol, Ç., Alpas, H., and Bayındırlı, A. 2006. Inactivation of peroxidase and lipoxygenase in carrots, green beans, and green peas by combination of high hydrostatic pressure and mild heat treatment. *European Food Research and Technology,* 224 (2): 171–176.

[18] Mohseni, M., Daraei Garmakhany, A., and Mohamadi Sani, A. 2018. Study of the effect of thyme essential oil on the reduction of peroxidase enzyme activity in black Spanish radish and green bean. *Food Science and Technology,* 15 (82): 63-71.

[19] Mohseni, M, Mohamadi Sani, and A, Daraei Garmakhani, A. 2015. An investigation on the effects of clove essence on deactivation of horseradish peroxidase.

www.SID.ir

Archive of SID

International journal of biology, pharmacy and allied science (IJBPAS), 4(7): 4891-4897.

[20] Shahabi Ghahfarrokhi, I., Daraei Garmakhany, A, Kashaninejad, M, and Dehghani, A. A. 2013. Estimation of Peroxidase Activity in red cabbage by Artificial Neural Network (ANN). *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods,* 5(2): 163-167.

[21] Daraei Garmakhany A, Aghajani N, Gohari Ardabili A. 2017. Optimization of Non-thermal Inactivation of Celery's Peroxidase Enzyme by the Use of Response Surface Methodology. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 12 (1): 99-108. (in Persian).

[22] Ponec, AG, Del Valle, CE, and Roura, SI. 2004. Natural essential oil as reducing agents of perroxidase activity in leafy vegetable. *LWT,* 37 (2): 199-204.

[23] Hemeda, HM, and Klein, BP. 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science,* 55 (1): 184-186.

[24] Kashaninejad, M, and Daraei Garmakhany, A. 2013. Application of essential oils as natural antioxidant in reduction of peroxidase enzyme activity. Reported research at Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, (in Persian).

[25] Nikos Gand Tzortzakis, A. 2007. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8: 11-116.

[26] Daraei Garmakhany, A, Mirzai, HO, Aghajani, N, and kashiri, M. 2010. Investigation of natural essential oil antioxidant activity on peroxidase enzyme in selected vegetable. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 4 (3): 78-84.

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 12:59 IRDT on Sunday June 20th 2021

Non-thermal inactivation of courgette peroxidase enzyme: Response surface modeling of the effect of cumin, fennel and clove essential oils

Aghajani, N. [1], Daraei Garmakhany, A. [2]*

1. Assistant Prof. Department of Food Science and Technology, Bahar Faculty of Food Science and Technology, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran.
2. Assistant Prof. Department of Food Science and Technology, Toyserkan Faculty of Engineering and natural resources, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran.

ARTICIE INFO

Article History:

Received 2020/ 11/ 04
Accepted 2021/ 02/ 27

Keywords:

Courgette,
Peroxidase enzyme inactivation,
Cumin essential oil,
Clove essential oil,
Fennel essential oil.

DOI: 10.29252/fsct.18.05.09

*Corresponding Author E-Mail: amirdaraey@basu.ac.ir.

ABSTRACT

Increasing consumer awareness of the dangers of chemicals and the effect of heat treatment on the foods nutritional value, lead to increase of the demand for the production and use of fresh or minimaly processed foods. In this study, the ability of cumin, fennel and clove essential oils (concentrations of 50, 75, 100, 200 ppm and pure form) in non-thermal inactivation of courgette peroxidase enzyme were investigated. The results showed that only pure form and concentration of 200 ppm of cumin essential oil and also pure form and high concentrations (100 and 200 ppm) of fennel essential oil were able to reduce the peroxidase enzyme activity in courgette but using concentrations of 50 and 75 ppm of fennel essential oil leads to increase peroxidase enzyme activity. Clove essential oil in all studied concentrations reduced the peroxidase enzyme activity, which indicates the ability of clove essential oil to react with oxygen and inhibit the reaction of enzyme peroxidase and polyphenol oxidase (enzymatic browning reaction). The best conditions for inactivation of peroxidase enzyme under the influence of cumin essential oil included a concentration of 194.5 ppm essential oil and an enzymatic activity time of 0.02 seconds, while the optimal conditions for achieving the lowest peroxidase activity included using 200 ppm fennel essential oil and enzyme activity time of 0 second, and 200 ppm of clove essential oil and enzymatic activity time of 1.7 second.

www.SID.ir