بررسی استفاده از آنزیم پلی‌گالاکتوروناز و نارنجیناز در صنعت آبمیوه

Investigating the use of polygalacturonase and naranjainase enzymes in the juice industry

مروا حسینی[۱]، مهناز هاشمی روان[۲]

دریافت: ۱۴۰۱/۳/۴ پذیرش:۱۴۰۱/۹/۵

چکیده:

امروزه استفاده از آنزیم‌ها جهت بهبود ویژگی‌های ارگانولپتیکی مواد غذایی، مورد توجه می‌باشد. یکی از صنایع غذایی که از آنزیم‌ها جهت بهبود خواص حسی ماده غذایی، استفاده می‌کند صنعت تولید آبمیوه است. از جمله آنزیم‌های مورد استفاده، آنزیم پلی‌گالاکتوروناز است که جهت شفاف‌سازی برخی آب میوه‌ها و بهبود ویژگی‌های رنگ و ظاهر از جمله آب سیب و آب انگور به کار برده می‌شود. پلی‌گالاکتوروناز‌ها(E.C.3.2.1.15) که به پکتیناز معروف می باشند به دو نوع پلی گالاکتوروناز‌های هیدرولیز کننده و پلی گالاکتورونات لیاز طبقه‌بندی می‌شوند و از جمله آنزیم‌های اولیه‌ای هستند که در صنعت آبمیوه مورد استفاده قرار می‌گرفته‌اند. این آنزیم پیوند گلیکوزیدی4→1-α بین واحدهای گالاکتورونیک اسید را در ساختار پکتین می‌شکند و بنابراین پکتین از ساختار سلول خارج شده رسوب می‌دهد و از طریق فیلتراسیون یا سانتریفوژ جداسازی می‌گردد و به این صورت آب میوه شفاف به دست می‌آید. تقریبا در صنعت برای شفاف سازی تمامی آب میوه‌ها به غیر از آب مرکبات از این آنزیم استفاده می‌شود. برخی از آب میوه ها نظیر آب پرتقال و آب گریپ فروت حاوی ترکیبات تلخی نظیر لیمونین و نارنجین می‌باشند که درصورت حضور در آب میوه روی طعم آن تاثیر منفی می‌گذارند و ایجاد طعم تلخ می نمایند. جهت رفع این مشکل می‌توان از آنزیم نارنجیناز استفاده کرد. نارنجیناز آنزیمی است که دارای دو فعالیت آنزیمی است شامل آلفا-ال-رامنوزیداز(E.C.3.2.1.40) و بتا-دی-گلوکوزیداز(E.C.3.2.1.21) که هیدرولیز نارنجین به رامنوز و پرونین و سپس گلوکز و نارنجینین را انجام می‌دهند، بدون آنکه طعم تلخی در آب میوه به جا بگذارد.

کلمات کلیدی: آب میوه، نارنجیناز، پلی گالاکتوروناز، پکتیناز

مقدمه:

امروزه با توجه به مشکلاتی که در زمینه سلامتی وجود دارد و با توجه به بیماری‌های گوناگون، داشتن یک تغذیه مناسب چه از نظر ارزش تغذیه‌ای و چه از نظر ایمن بودن آن بسیار حائز اهمیت است. میوه‌ها منبع غنی از ویتامین‌ها، مواد معدنی، فیبر رژیمی و فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها هستند (Alissa *et al*.,2017; Reiss *et al*., 2012). بنابراین مصرف میوه‌جات می‌تواند نقش مهمی را در سلامتی افراد داشته باشد. از آنجایی که استفاده از آب میوه‌ها نسبت به خود میوه توسط افراد بزرگسال و کودکان راحت‌تر می‌باشد لذا در صنعت تولید آب میوه جهت بهبود کیفیت و بالابردن ویژگی‌های ارگانولپتیک نظیر رنگ، ظاهر، طعم و مزه راهکارهای زیادی صورت می‌گیرد. در برخی از آب میوه‌ها نظیر آب انگور، آب انار و آب سیب، شفافیت محصول بسیار مهم است و همچنین برخی از آب

[۱] دانشجوی دکتری گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

[۲] استادیار گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

***نویسنده مسئول مکاتبه کننده:** morva1989@gmail.com

میوه‌ها نظیر آب مرکبات دارای ترکیباتی نظیر نارنجین و لیمونین می‌باشند که پس از آب‌گیری نمایان شده و باعث ایجاد مزه تلخی می‌شوند (Narnoliya *et al*., 2019). یکی از راهکارهای مقابله با این دو مشکل (رفع کدورت و تلخی زدایی) استفاده از آنزیم‌ها می‌باشد. آنزیم‌ها، پروتئین‌های عملگرایی هستند که واکنش‌های شیمیایی مختلفی را کاتالیز می‌کنند. برخی از ویژگی‌های آنزیم‌ها سبب می‌شود که از آن‌ها در صنعت و فراوری مواد غذایی استفاده شود. بازدهی بالا، قابلیت بازیافت و قابلیت تولید سریع آنها توسط میکروارگانیسم‌ها از جمله ویژگی‌های آنزیم‌ها می باشد (Yadav *et al*., 2000). یکی از آنزیم‌های مورد استفاده در صنعت نارنجیناز می‌باشد که جهت تلخی‌زدایی آب مرکبات استفاده می‌شود و سوبسترای اصلی آن نارنجین است (Kumar *et al*., 2010; Kumar *at al*., 2005). آنزیم دیگری که در صنعت آب میوه به کار می‌رود آنزیم‌های پکتینی هستند. پلی گالاکتوروناز که به پکتیناز معروف است جزو اولین آنزیم‌هایی است که در صنعت آب میوه استفاده شده‌است. این آنزیم سبب تجزیه پکتین‌ها می‌شود و در رفع کدورت ناشی از پکتین‌ها در آب میوه موثر است. در صنعت، آنزیم‌ها از راههای گوناگون تهیه می‌شوند؛ اما آنزیم‌هایی که به شکل آزاد به کار می‌روند پایداری ضعیفی در برابر pH ، حرارت و سایر عوامل محیطی دارند و بازیابی آن‌ها برای استفاده مجدد پایین است (Faraji *et al*., 2013) بنابراین روش‌های مختلفی برای تثبیت آنزیم‌ها به منظور استفاده مجدد آن‌ها وجود دارد ازجمله این روش‌ها، جذب سطحی، میکوانکپسولاسیون، اتصالات عرضی، پیوند کوالانسی و به دام اندازی می‌باشد (Ur Rehman H *et al*., 2013). موادی نظیر آگار، آلژینات و پلی اکریلامیدها برای به دام اندازی آنزیم‌ها استفاده می‌شوند (Karimi *et al*., 2015; Bogra *et al*., 2013).

۱- تلخی زدایی با آنزیم

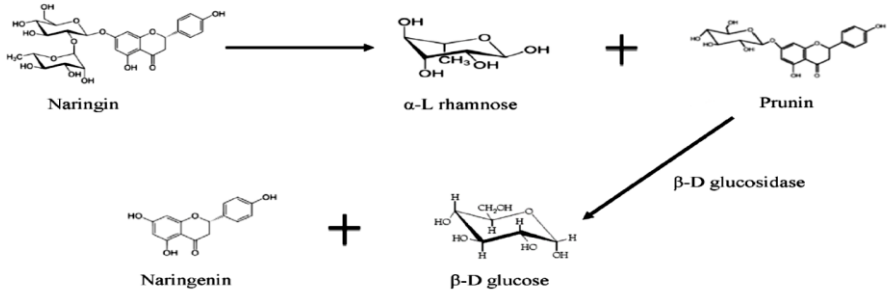
۱-۱ عوامل ایجادکننده تلخی در مرکبات

مرکبات از دسته خانواده روتاسه آ[1] می‌باشند و دارای میزان فراوانی ویتامین C، ویتامین B6، نیاسین، ریبوفلاوین، پتاسیم، فولات، کلسیم، فسفر، فلاونوئیدها، کومارین، لیمونوئید و.. هستند (Lv *et al*., 2015; Caristi *et al*., 2003). در تولید آب مرکبات، مشکل اصلی وجود طعم تلخ در فراورده می‌باشد که روی پذیرش نهایی محصول توسط مصرف کننده موثر است (Hui *et al*., 2012). وجود دو ترکیب به نام نارنجنین ($C27H32O14$ M.W.: 580.5 g mol^{-1}) و لیمونین عوامل اصلی ایجادکننده طعم‌تلخ در آب‌مرکبات می‌باشند (Pavithra *et al*.,2013). نخستین بار نارنجین در گریپ فروت شناسایی شد (Pichaiyongvongdu *et al*., 2009). نارنجین حاوی دو قند آلفا- ال-رامنوز و بتا-دی گلوکز و یک ترکیب غیرقندی نارنجینین می‌باشد (7,5,4 trihydroxy-flavone) (Bailey *et al*., 2000). نارنجین همراه با بخش غیرقندی نارنجینین تاثیرات مفیدی بر روی سلامتی انسان دارند هر دوی این فلاونوئیدها نقش مهمی در درمان چاقی، فشارخون و سندرم سوخت و ساز داشته و دارای فعالیت ضدتحرک و آنتی‌اکسیدانی هستند(Alam *et al*., 2014). مقدار این ماده در میوه، بستگی به درجه رسیدگی میوه دارد؛ در میوه‌های نارس مقدار آن بیشتر از میوه‌های رسیده است. این ترکیب محلول در آب می‌باشد و طی آبگیری از میوه به درون آن استخراج می‌گردد بنابراین میزان تخریب غشا، نیز تعیین کننده مقدار نارنجین نیز خواهد بود (silva *et al*., 2017).

[1] Rutaceae

۲-۱ نارنجیناز

نارنجیناز (آلفا رامنوپیرانوزیداز[۱]) یک آنزیم کمپلکس است که دارای دو فعالیت می باشد: یکی آلفا-ال-رامنوزیداز [۲] (E.C. 3.2.1.40) و دیگری بتا-دی-گلوکوزیداز[۳] (E.C.3.2.1.21) می‌باشد (Narnoliya *et al.*, 2019). سوبسترای اصلی این آنزیم، نارنجین-7,5,4) (Trihydroxy flavanone-7-rhamnoglucoside) می‌باشد که ابتدا توسط آلفا-ال-رامنوزیداز به رامنوز و پرونین[۴] تبدیل شده و سپس با فعالیت بتا-دی-گلوکوزیداز به گلوکز و نارنجینین تبدیل می‌شود (Kumar *et al.*, 2010; Vila *et al.*, 2006; Kumar *et al.*, 2005). در صنعت آبمیوه سازی جهت تلخی زدایی از این آنزیم استفاده می‌شود؛ زیرا این آنزیم ترکیب نارنجین تلخ مزه را به نارنجینین تبدیل می‌کند و که دارای طعم شیرین است. شکل۱ چگونگی عملکرد آنزیم نارنجیناز را نشان می دهد. بهترین pH برای فعالیت این آنزیم ۴/۵ است (Ono *et al.*, 1978) و این آنزیم در دمای ۹۰ درجه سلسیوس غیر فعال می‌شود (Silva *et al.*, 2017).



شکل۱ چگونگی فعالیت نارنجیناز

علاوه بر نارنجین، این آنزیم از ترکیبات دیگری نظیر آلفارامنوز و بتاگلوکز حاوی فلاونوئیدهای دیگر مثل ریوتین، کوئریسترین، هسپریدین، دیوسمین و ترفنیل گلیکوزیدها به عنوان سوبسترا استفاده کند. این آنزیم از منابع مختلفی نظیر باکتری‌ها، قارچها و گیاهان به دست می‌آید (Narnoliya *et al.*, 2019). منبع میکروبی زیادی توسط محققان جهت تولید نارنجیناز بیان شده است. بیشتر محققان از بین میکروارگانیسم‌ها به قارچها توجه بیشتری نموده‌اند. از بین قارچها، *آسپرژیلوس‌ها و پنی‌سیلیوم‌ها* منابع معتبرتری هستند و از بین آن‌ها *آسپرژیلوس نیجر* به عنوان منبع اصلی تولید آنزیم نارنجیناز، شناسایی شده است. پس از استخراج آنزیم، آن را تثبیت می‌کنند و جهت تلخی زدایی به آب میوه اضافه می‌گردد. در جدول ۱ منابع میکروبی نارنجیناز آمده است.

[1] α -rhamnopyranosidase
[2] α-L-rhamnosidase
[3] β-D-glucosidase
[4] Prunin

جدول۱ منابع میکروبی نارنجیناز

نام میکروارگانیسم	منبع
Psidium guajava L.	Phukan and Kardong, 2020
Terminalia chebula	Phukan and Kardong, 2020
Aspergillus foetidus	Mendoza-Cal *et al.*, 2010
Aspergillus nigerHPD-2	Mendoza-Cal *et al.*, 2010
Aspergillus niger	Bram and Solomons, 1965; Mendoza-Cal *et al.*, 2010; Awad *et al.*, 2016
Aspergillus oryzae SS	Mendoza-Cal *et al.*, 2010
Penicillium caseicolum	Mendoza-Cal *et al.*, 2010
Penicillium chrysogenum NRRL	Mendoza-Cal *et al.*, 2010
Penicillium glaucum	Mendoza-Cal *et al.*, 2010
Penicillium roqueforti I	Mendoza-Cal *et al.*, 2010
Penicillium roqueforti II	Mendoza-Cal *et al.*, 2010
Penicillium roqueforti CNRZ	Mendoza-Cal *et al.*, 2010
Rhyzopus delemar	Mendoza-Cal *et al.*, 2010
Aspergillus niger MTCC 1344	Puri *et al.*, 2005
Staphylococcus xylosus MAK2	Puri *et al.*, 2010a; Puri *et al.*, 2011
Candida tropicalis	Saranya *et al.*, 2009
Penicillium decumbens PTCC 5248	Nourouzian *et al.*, 2000
Aspergillus flavus	Radhakrishnan *et al.*, 2013
Penicillium purpurogenum	Patil and Dhake, 2014
Aspergillus aculeatus	Manzanares *et al.*, 2001; Anfeng *et al.*, 2015
Aspergillus niger ATCC1015	González-Vázquez *et al.*, 2011
Bacillus amyloliquefaciens 11568	Zhu *et al.*, 2017

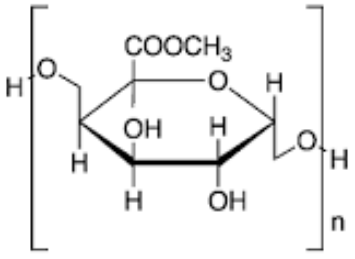
Silva و همکاران(۲۰۱۷) از مقادیرg/L ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ آنزیم نارنجیناز در دو زمان گرمخانه گذاری ۲ و ۴ ساعته در دمای ۵۰ درجه سلسیوس را جهت تلخی زدایی آب پرتقال بررسی کردند، بیشترین کاهش نارنجین با استفاده از g/L ۱ آنزیم با ۴ ساعت گرمخانه گذاری به دست آمد. Patil و همکاران (۲۰۱۴) از نارنجیناز جهت تلخی زدایی آب مرکبات استفاده کرده و با استفاده از مقدار g/L ۱/۵ نارنجیناز و گرمخانه گذاری در دمای ۴ درجه سلسیوس و مدت زمان ۴ ساعت، ۷۴درصد نارنجین نمونه های آب مرکبات را کاهش دادند.

۲ – شفاف سازی آب میوه

غیر از آب مرکبات انواع نوشیدنی‌هایی که بر پایه میوه به روش صنعتی تولید می‌شوند، نیاز به شفاف سازی دارند. شفاف سازی با هدف جلوگیری از تشکیل کدورت و رسوب مواد معلق انجام می شود. طی فرایند شفاف سازی علاوه بر شفاف شدن آب میوه و رفع کدورت، طعم و مزه آب میوه نیز بهبود می‌یابد

۲ -۱ عوامل ایجاد کننده کدورت در آب میوه

کدورت آنی موجود در آب میوه‌ها پس از فرایند استخراج، ناشی از ذرات پکتین حاصل از دیواره سلول‌های گیاهی است اما سایر مواد حاصل از تخریب دیواره سلولی و مواد سلولی نیز ممکن است در ایجاد کدورت سهیم باشند. گسترش کدورت طی نگهداری در دمای پایین معمولا مربوط به واکنش بین پروتئین‌های فعال و پلی فنل‌ها است که موجب تشکیل ساختارهای نامحلول چند ملکولی می‌شوند (Pinelo *et al*., 2010; Sighn *et al*., 2004). پکتین هتروپلی ساکاریدی است که در دیواره سلولی نخستین گیاهان و در بخش لاملای میانی یافت می‌شود و نقش مهمی را به‌عنوان ماده سیمانی ایفا می‌کند. پکتین عمدتا از واحدهای دی‌گالاکتورونیک اسید تشکیل شده است که با پیوندهای گلیکوزیدی α-1→4 به‌هم متصل شده و تشکیل یک زنجیره خطی می دهند، که به این زنجیره خطی زنجیره‌های جانبی قندهای خنثی دیگری مانند ال-رامنوز، ال-آرابینوز و دی-گالاکتوز متصل شده است (Liu *et al*., 2010). شکل۲ ساختار پکتین را نشان می دهد.



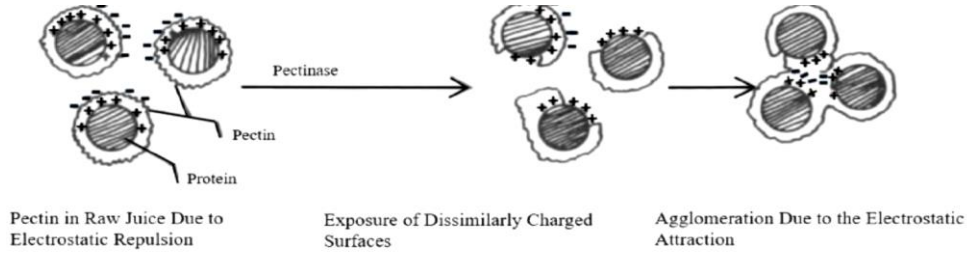
شکل۲ ساختار پکتین

۲ -۲ پکتیناز

آنزیم‌های پکتینی قادر هستند مواد پکتیکی را که در دیواره سلول‌های گیاهی قرار دارند را تجزیه کنند. این آنزیم‌ها دارای چند گروه آنزیم هستند، پکتین متیل استراز، نیاز به یک گروه کربوکسیل ازاد در مجاورت گروه استری شده دارد تا عمل نماید و متانول ازاد می‌شود. آنزیم پکتات لیاز عمل شکستن پیوند گلیکوزیدی را به شکلی انجام می‌دهد که با جداشدن اتم هیدروژن از کربنهای شماره ۴ و ۵ و به دنبال آن تشکیل یک پیوند دوگانه میان این دو کربن همراه می‌باشد. پلی‌گالاکتوروناز که به پکتیناز معروف است پیوند گلیکوزیدی α -1→4 را می‌شکند و واحدهای گالاکتورونیک را در ساختار پکتین از هم جدا می‌کند (Hiteshi *et al*., 2013). در واقع پلی گالاکتوروناز (E.C.3.2.1.15) خود به دو نوع پلی‌گالاکتوروناز‌های هیدرولیز کننده و پلی گالاکتورونات لیاز طبقه بندی می‌شوند (Alkorta *et al*., 1998) پکتینازها جزو اولین آنزیمهایی هستند که در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند و در حال حاضر این آنزیمها ۲۰درصد از کل آنزیم‌های مورد استفاده در صنعت را به خود اختصاص می‌دهند و اغلب دارای منشا گیاهی، باکتریایی، قارچی

و مخمری هستند (Riberio *et al*., 2010). سه قارچ رشته‌ای *آسپرژیلوس، ریزوپوس و پنی‌سلیوم* توانایی تولید این آنزیم را دارند(سنگل و بهبهانی، ۱۳۹۵) جهت تولید آنزیم پکتیناز محققان زیادی از گونه های مختلف این قارچ‌های رشته‌ای استفاده کرده‌اند به عنوان مثال سنگل و بهبهانی(۱۳۹۴) از قارچ *آسپرژیلوس فومیگاتوس* جداسازی شده از میوه‌های در حال پوسیدن، آقاخانی(۱۳۹۴) از *آسپرژیلوس اوریزه*، سنگل و بهبهانی(۱۳۹۵) از *آسپرژیلوس نایجر، ریزوپوس اوریزه و پنی سلیوم کریزوینوم* استفاده نمودند.

پکتینازها با آبکافت ترکیبات پکتیکی، موجب ناپایداری کمپلکس پروتئین-پکتین می‌شوند. این کمپلکس دارای یک هسته پروتئینی با بار مثبت هستند که با پکتین‌های دارای بار منفی احاطه شده‌اند. هیدرولیز پکتین توسط آنزیم پکتیناز باعث در معرض قرار گرفتن بارهای مثبت و ناپایداری کمپلکس می‌گردد و در ادامه دافعه الکتروستاتیکی بین ذرات کاهش یافته و کمپلکس‌ها به یکدیگر می‌پیوندند و تشکیل ذرات با وزن ملکولی بالاتر می‌دهند و رسوب می‌دهند (Birch *et al*.,2012). برای رسوب دهی بهتر پکتین از ژلاتین، سلیکاژل و یا بنتونیت استفاده می‌شود و در ادامه از فیلتراسیون و یا سانتریفوژ جهت حذف رسوبات کمک گرفته می‌شود (Pinelo *et al*., 2010; Sighn *et al*., 2004). شکل ۳ عملکرد آنزیم پلی‌گالاکتوروناز (پکتیناز) را نشان می‌دهد.



شکل۳ عملکرد آنزیم پلی گالاکتوروناز(پکتیناز)

محققان زیادی از پلی‌گالاکتوروناز برای شفاف سازی آب میوه‌های مختلف استفاده کرده‌اند. الهامی راد(۱۳۹۲) شرایط بهینه سازی فرایند شفاف سازی آب دو نوع توت، عبدالله زاده و همکاران(۱۳۹۹)، بهینه سازی فرایند شفاف سازی آب گوجه فرنگی، آرژه و همکاران(۱۳۹۷) استخراج و شفاف‌سازی شربت قند حاصل از چغندرقند، علی پور و همکاران(۱۳۹۱) شفاف سازی آب کیوی، شفقی و همکاران(۱۳۸۷) شفاف سازی آب سیب، عزیزطائمه و همکاران(۱۳۸۵) شفاف سازی آب انار را با استفاده از این آنزیم بررسی نمودند.

نتیجه گیری

استفاده از آنزیم ها در صنایع مختلف و همچنین صنایع غذایی روز به روز مورد توجه بیشتری قرار می‌گیرد. در تولید اکثر آبمیوه‌ها به غیر از آب مرکبات، فرایند شفاف سازی انجام می‌شود. استفاده از روش‌های قدیمی شفاف سازی، زمان‌بر بوده و کیفیت نهایی محصول نیز به خوبی حفظ نمی‌شود علاوه بر آن تاحدودی ارزش تغذیه‌ای آن‌ها نیز تحت تاثیر قرار می‌گیرد؛ بنابراین استفاده از روش‌های

سریع نظیر استفاده از آنزیم‌ها در صنعت مورد توجه زیادی قرار گرفته است. استفاده از آنزیم‌های پکتیکی نظیر آنزیم پلی‌گالاکتوروناز می‌تواند در شفاف سازی آبمیوه مورد استفاده قرار گیرد و کیفیت و ارزش تغذیه‌ای آبمیوه را نیز حفظ کند. یکی دیگر از آنزیم‌های مورد استفاده در صنعت آبمیوه سازی (آب مرکبات) استفاده از نارنجیناز جهت تلخی‌زدایی است. نارنجیناز می‌تواند نارنجین موجود در مرکبات را که طی فرایند آبگیری که به دلیل محلول بودن، وارد آبمیوه می‌شود را به گلوکز و نارنجینین تبدیل کند البته بدون آنکه کیفیت و ارزش تغذیه‌ای آبمیوه تغییرات محسوسی داشته باشد.

منابع

آرژه ادریس، پیروزی فرد میرخلیل، پارسا سجاد.۱۳۹۷.پیش تیمار آنزیمی شربت خا چغندرقند با استفاده از آنزیم پکتیناز به منظور بهبود فرایند تصفیه متداول. فصلنامه فناوریهای نوین غذایی،۶(۱):۵۴-۴۵.

الهامی راد امیرحسین.۱۳۹۲. بهینه سازی فرایند شفاف سازی آب میوه دو واریته بومی توت سفید. مجله نواوری در علوم و فناوری مواد غذایی، ۵(۱):۹۱-۱۰۳

آقاخانی مریم. ۱۳۹۴. تولید بهینه آنزیم آمیلاز از قارچ آسپرژیلوس اوریزه. همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی.

سنگل اکرم، بهبهانی ماندانا.۱۳۹۴. بهینه سازی تولید آنزیم پکتیناز در قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس جداسازی شده از میوه های در حال پوسیدن.نشریه زیست شناسی میکروارگانیسمها،۴(۱۵)

سنگل اکرم، بهبهانی ماندانا. ۱۳۹۵. جداسازی و بهینه سازی تولید آنزیم پکتیناز یک آنزیم مفید صنعتی از قارچهای آسپرژیلوس نایجر، ریزوپوس اوریزه و پنی سلیوم کریزوژنوم. نشریه زیست شناسی میکروارگانیسمها. ۵(۱۷):۱۴۰-۱۲۱

شفقی اصل سیدکریم، مالوفی نقی، پناهی علیرضا. ۱۳۸۷. بررسی آنزیم پکتیناز در بهبود خواص آب سیب. هیجدهمین کنگره ملی صنایع غذایی، مشهد،https://civilica.com/doc/140623

عبدالله زاده عاطفه، بیگ محمدی ز، قمری م. ۱۳۹۹.بهینه سازی شرایط شفاف سازی آب گوجه فرنگی به وسیله پکتیناز تجاری تثبیت شده با روش سطح پاسخ. علوم و صنایع غذایی،۱۰۳(۱۷):۶۶-۵۵

عزیزطائمه حسین، رضوی جلیل، کاظمی اخترالملوک. ۱۳۸۵. شفاف سازی پایدار آب انار و تعیین شرایط و مقادیر بهینه. مجله علوم و صنایع غذایی ایران. ۳(۱۰):۷۴-۶۷

علی پور الهام، مرتضوی سید علی، کوپکی آرش. ۱۳۹۱. بهینه یابی شرایط شفاف سازی آب کیوی با استفاده از آنزیم پکتیناز، بنتونیت، پلی وینیل پلی پرولیدون. نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران.۸(۴):۳۷۰-۳۶۱

Alam, M.A., Subhan, N., Rahman, M.M., Uddin, S.J., Reza, H.M. and Sarker, S.D., 2014. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *Advances in Nutrition*, *5*(4), pp.404-417.

Alissa, E.M., Ferns, G.A., 2017. Dietary fruits and vegetables and cardiovascular diseases risk. Crit Rev Food Sci Nutr 57(9):1950–1962.

Alkorta, I., Garbisu, C., Llama, M.J. and Serra, J.L., 1998. Industrial applications of pectic enzymes: a review. *Process Biochemistry*, *33*(1), pp.21-28.

Xiao, A., You, H., Wu, C., Ni, H., Yang, Q. and Cai, H., 2015. Immobilization and characterization of naringinase from Aspergillus aculeatus onto magnetic Fe3O4 nanoparticles. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, *7*(9), pp.770-778.

Awad, G.E., Abd El Aty, A.A., Shehata, A.N., Hassan, M.E. and Elnashar, M.M., 2016. Covalent immobilization of microbial naringinase using novel thermally stable biopolymer for hydrolysis of naringin. *3 Biotech*, *6*, pp.1-10.

Bailey, D.G., Dresser, G.K., Kreeft, J.H., Munoz, C., Freeman, D.J. and Bend, J.R., 2000. Grapefruit-felodipine interaction: effect of unprocessed fruit and probable active ingredients. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *68*(5), pp.468-477.

Birch, G.G., Blakebrough, N., Parker, K.J. 2012. Enzymes and food processing, Springer Science &Business Media, Berlin, Germany, pp 295.

Bogra, P., Kumar, A., Kuhar, K., Panwa,r S., Singh, R., 2013. Immobilization of tomato (Lycopersicon esculentum) pectinmethylesterase in calcium alginate beads and its application in fruit juice clarification, Biotechnol Lett. 1-6.

Bram, B., & Solomons, G. L., 1965. Production of the enzyme naringinase by Aspergillus niger. Applied Microbiology, 13, 842–845.

Caristi. C., Bellocco. E., Panzera. V., Toscano. G., Vadalà. R., Leuzzi. U., 2003. Flavonoids detection by HPLC-DAD-MS-MS in lemon juices from Sicilian cultivars. J Agric Food Chem 51(12):3528–3534.

Faraji M and Fadavi Gh. 2013. Applications of magnetic nanoparticles in the food science. Iranian Journal of Nutrition and Food Science, 2: 239-252.

González-Vázquez, R., Azaola-Espinosa, A., Osorio-Revilla, G., Gallardo-Velazquez, T., Cruz-Victoria, T., Arana-Errasquin, R., & Rivera-Espinoza, Y., 2011. The effect of different carbon sources and salts in the production of naringinase by *Aspegillus niger* ATCC1015. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 10, 1-8.

Hiteshi, K., Chauhan, S., Gupta, R., 2013. Immobilization of microbial pectinases: A Review, CIBTech Journal of Biotechnology, 2:2319-3859.

Ni, H., Chen, F., Cai, H., Xiao, A., You, Q. and Lu, Y., 2012. Characterization and preparation of Aspergillus niger naringinase for debittering citrus juice. *Journal of Food Science*, *77*(1), pp.C1-C7.

Karimi, K., 2015. Simultaneous immobilization of cellulase and pectinase in calcium alginate and its application in food industry, Master's dissertation, Tarbiat Modarres university. *Food Industry Group*.

Kumar, V.V., Periasamy, K.S.R.B., 2010. Optimization of Fermentation Parameters for Enhanced Production of Naringinase by Soil Isolate Aspergillus niger V07. *Food Sci Biotechnol* 19: 827–829.

Kumar, A., Singh, M.K. and Amena, S.Y.E.D.A., 2015. Optimization of naringinase production and its purification from Micrococcus sp. *Int J Pharm Pharm Sci*, *7*(2), pp.269-272.

Liu, L., Cao, J., Huang, J., Cai, Y., and Yao, J., 2010, Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark. Bioresource Technology, 101, 3268-3273.

Lv. X., Zhao. S., Ning. Z., Zeng. H., Shu. Y., Tao. O., Xiao. C., Lu. C., Liu. Y., 2015. Citrus fruits as a treasure trove of active natural metabolites that potentially provide benefits for human health. Chem Cent J 9(1):68.

Manzanares, P., van den Broeck, H.C., de Graaff, L.H. and Visser, J., 2001. Purification and characterization of two different α-L-rhamnosidases, RhaA and RhaB, from Aspergillus aculeatus. *Applied and Environmental Microbiology*, *67*(5), pp.2230-2234.

Mendoza-Cal, A., Cuevas-Glory, L., Lizama-Uc, G., & Ortiz-Vázquez, E., 2010. Naringinase production from filamentous fungi using grapefruit rind in solid state fermentation. African Journal of Microbiology Research, 4, 1964-1969.

Narnoliya, L., K., Jadaun, J., S., 2019. Biotechnological Avenues for Fruit Juices Debittering. DOI: 10.1007/978-981-13-3263-0_8.

Norouzian, D., Hosseinzadeh, A., Inanlou, D.N. and Moazami, N., 2000. Production and partial purification of naringinase by Penicillium decumbens PTCC 5248. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *16*, pp.471-473.

Ono, M., Tosa, T., Chibata, I., 1978. Preparation and properties of immobilized naringinase using Tannin-aminohexyl cellulose. Agricultural and Biological Chemistry, 42(10):1847-1853.

Patil, M. B., & Dhake, A. B. 2014. Debittering of citrus fruit juice by naringinase of Penicillium purpurogenum. International Journal of Engineering Science and Research Technology. 3, 266-270.

Pavithra, M., Prasanna, D.B., Saidutta, M.B., 2013. Production of naringinase by a new soil isolate of serratia sp: Effect of different carbon and nitrogen sources. *Res J Biotechnol* 7: 208–211.

Phukan, K. and Kardong, D., 2020. Isolation of naringinase producing soil bacteria from Psidium guajava L. and Terminalia chebula Retz and its enzymatic activity. AIMS Molecular Science, 7(3): 292–304.

Pichaiyongvongdu, S., Haruenkit, R., 2009. Comparative studies of limonin and naringin distribution in different parts of pummelo [citrus grandis (L) Osbeck] Cultivars grown in thialand. *Kasetsart J (Nat Sci)* 43: 28–36.

Pinelo, M. Zeuner, B. Meyer A. S. 2010. Juice clarification by protease and pectinase treatments indicates new roles of pectin and protein in cherry juice turbidity, Food and Bioproducts Processing 88: 259–265.

Puri, M., Kaur, A., Singh, R.S. and Singh, A., 2010. Response surface optimization of medium components for naringinase production from Staphylococcus xylosus MAK2. *Applied biochemistry and biotechnology*, *162*, pp.181-191.

Puri, M., Kaur, A., Barrow, C.J. and Singh, R.S., 2011. Citrus peel influences the production of an extracellular naringinase by Staphylococcus xylosus MAK2 in a stirred tank reactor. *Applied microbiology and biotechnology*, *89*, pp.715-722.

Radhakrishnan, I., Sampath, S., & Kumar, S. T., 2013. Isolation and characterization of enzyme naringinase from Aspergillus flavus. International Journal of Advanced Biotechnology and Research. 4, 208-212..

Reiss, R., Johnston, J., Tucker, K., DeSesso, J. M., Keen, C. L., 2012. Estimation of cancer risks and benefits associated with a potential increased consumption of fruits and vegetables. Food Chem Toxicol 50(12):4421–4427.

Ribeiro, D.S., Henrique, S., Oliveira, L.S., Macedo, G.A., Fleuri, L.F., 2010. Enzymes in juice processing: a review, Int. J. Food Sci. Tech., 45, 635-641

Saranya, D., Shanmugam, S., Kumar, S. T., Thayumanavan, B., & Rajasekaran, P., 2009. Purification and characterization of naringinase from Candida tropicalis. Advanced Biotechnology. 9, 11-13.

Silva,G. O. D., Marapana, R. A. U. J., and Manawaduge, R., 2017. Effect of naringinase enzymatic treatment on the bitter compound naringin in fresh juice of "Bibila sweet"oranges. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6(4): 174-178

Singh, S., Gupta, R., 2004.Apple juice clarification using fungal pectinolytic enzyme and gelatin, Indian Journal of Biotechnology, 3(4): 573-576.

Real, H.J.V., Alfaia, A.J., Calado, A.R. and Ribeiro, M.H., 2007. High pressure-temperature effects on enzymatic activity: Naringin bioconversion. *Food Chemistry*, *102*(3), pp.565-570.

Ur Rehman H, Aman A, Silipo A, Ul Qader SH. A, Molinaro A, Ansari A., 2013. Degradation of complex carbohydrate: Immobilization of pectinase from Bacillus licheniformis KIBGE-IB21 using calcium alginate as a support. Food Chemistry, 139:1081-1086.

Yadav, S., & Yadav, K. D. S., 2000. Secretion of α-L-rhamnosidase by *Aspergillus terreus* and its role in debittering of orange juice. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 59, 1032-1037.

Zhu, Y., Jia, H., Xi, M., Xu, L., Wu, S. and Li, X., 2017. Purification and characterization of a naringinase from a newly isolated strain of Bacillus amyloliquefaciens 11568 suitable for the transformation of flavonoids. *Food Chemistry*, *214*, pp.39-46.

Investigating the use of polygalacturonase and naranjainase enzymes in the juice industry

Morva Hosseiny[1], Mahnaz Hashemiravan[2]

Receive: 2022/06/24 **Accepted: 2022/11/26**

Abstract:

Nowadays, the use of enzymes to improve the organoleptic characteristics of food is of interest. One of the food industries that uses enzymes to improve the sensory properties of food is the juice production industry. Among the enzymes used is the polygalacturonase enzyme, which is used to clarify some fruit juices and improve the color and appearance characteristics, such as apple juice and grape juice. Polygalacturonases (E.C.3.2.1.15) known as pectinase are classified into two types of hydrolyzing polygalacturonases and polygalacturonate lyase and are among the primary enzymes used in the juice industry. This enzyme breaks the α-1→4 glycosidic bond between the units of galacturonic acid in the structure of pectin, and thus pectin precipitates out of the cell structure and is separated through filtration or centrifugation, and in this way clear fruit juice is obtained. Almost in the industry, this enzyme is used to clarify all fruit juices except citrus juice. Some fruit juices, such as orange juice and grapefruit juice, contain bitter compounds such as limonine and orange, which, if present in fruit juice, have a negative effect on its taste and create a bitter taste. Orange enzyme can be used to solve this problem. Naraninase is an enzyme that has two enzymatic activities, including alpha-L-rhamnosidase (E.C. 3.2.1.40) and beta-di-glucosidase (E.C. 3.2.1.21), which hydrolyze naraniin to rhamnose and pronin and then glucose and naraninin, without the one that leaves a bitter taste in the fruit juice.

Keywords: antioxidant properties, ginger, antimicrobial compounds, natural products.

[1] Ph.D. student, Department of Food Industry, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

2 Assistant Professor, Department of Food Industry, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

***Corresponding author:** morva1989@gmail.com