بررسی اثر امواج فراصوت بر فعالیت آنزیم پراکسیداز و میزان ویتامین ث لوبیای سبز

محمود یُلمه[a*]، فاطمه صالحی[b]، محمود نجف زاده[b]

[a] *دانشجوی دکترای صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران*
[b] *عضو گروه پژوهشی افزودنی‌های غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری غذایی، جهاد دانشگاهی، خراسان رضوی، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۹/۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۶/۱۹

چکیده

مقدمه: استفاده از امواج فراصوت در فرآوری مواد غذایی یک روش جدید به شمار می‌آید و می‌تواند در کنار روش‌های متداول مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه اثرات آنزیم‌بری لوبیای سبز به کمک امواج فراصوت بر فعالیت آنزیم پراکسیداز و ویتامین ث لوبیای سبز بررسی شد.

مواد و روش‌ها: از روش آماری سطح پاسخ جهت بررسی اثر متغیرها بر میزان فعالیت باقیمانده پراکسیداز و کاهش میزان ویتامین ث لوبیای سبز استفاده شد. جهت این کار سه متغیر شامل دمای فرایند (۵۰–۹۰ درجه سانتی‌گراد)، مدت زمان فرایند (۴۵–۲۲۵ ثانیه) و دوره کاری (۰/۲–۰/۸ ثانیه) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: مطابق نتایج بدست آمده مدل خطی- مربعی نسبت به سایر مدل‌های بکار رفته شده کارایی بیشتری را برای هر دو پاسخ داشت. با توجه به جدول آنالیز واریانس، کلیه عبارت‌های خطی و نیز عبارت‌های درجه دوم مدت زمان فرایند و درجه دوم دوره کاری اثری معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) ولی عبارت درجه دوم دمای فرایند اثری بی‌معنی بر باقیمانده فعالیت پراکسیداز ($P>۰/۰۵$) داشت. از سوی دیگر همه عبارت‌های خطی و عبارت درجه دوم دما و عبارت درجه دوم زمان فرایند اثری معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) ولی عبارت درجه دوم دوره کاری اثری بی‌معنی ($P>۰/۰۵$) بر درصد افت میزان ویتامین ث داشتند.

نتیجه‌گیری: مطابق آزمایشات انجام شده محدوده میزان باقیمانده فعالیت پراکسیداز و درصد افت میزان ویتامین ث به ترتیب ۳/۸۵–۳۴/۷۵ و ۲/۰۰–۲۲/۷۵ اندازه‌گیری شد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که آنزیم‌بری به کمک امواج فراصوت یک روش مناسب برای آنزیم‌بری لوبیای سبز در مقایسه با روش آنزیم‌بری متداول می‌باشد. مزایای این روش شامل مدت زمان کوتاه آنزیم بری، آسیب‌دیدن کم ویتامین ث و غیرفعال‌سازی بیشتر پراکسیداز در مدت زمان کوتاه نسبت به روش آنزیم‌بری متداول بود.

واژه‌های کلیدی: *آنزیم‌بری به کمک فراصوت، پراکسیداز، لوبیای سبز، ویتامین ث*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: mahmud.yolmeh@yahoo.com

مقدمه

آنزیم‌بری یک فرایند حرارتی می‌باشد که بطور گسترده در صنایع غذایی به‌ویژه در فرآوری سبزی‌ها به کار می‌رود. هدف اصلی این فرایند غیرفعال‌سازی آنزیم‌های درگیر در فساد سبزی‌های تازه می‌باشد (Garrote *et al*., 2004). علاوه بر این، کاهش بار میکروبی محصول جهت افزایش ماندگاری، کاهش هوای درون بافتی جهت کاهش اکسیداسیون، کاهش زمان پخت و نیز دستیابی به بافتی نرم جهت قوطی‌کردن راحت‌تر از اهداف دیگر این فرایند می‌باشد (Ramesh *et al*., 2002). بطور معمول آنزیم‌بری سبزی‌ها به کمک آب داغ و یا بخار آب با توجه به نوع سبزی در دمای ۷۵ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ تا ۱۰ دقیقه انجام می‌شود (Akyol *et al*., 2006). بلانچرهای مورد استفاده در صنعت جهت کنسرو سبزی‌ها دارای انرژی بری و مصرف آب بالایی هستند.

با توجه به اثرات منفی اعمال حرارت در فرآیندهای متداول آنزیم بری بر ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی، ارائه روش‌های جایگزین که کمترین اثر را بر خصوصیات تغذیه‌ای و حسی مواد غذایی داشته باشد، اهمیت دارد (Gachovska *et al*., 2009). امواج فراصوت یک تکنولوژی جایگزین، مطمئن و جدید برای استفاده در صنایع غذایی می‌باشد که به عنوان یک پیش‌تیمار حرارتی برای جایگزینی آنزیم‌بری متداول شناخته می‌شود (Zheng & Sun, 2006). امواج فراصوت به عنوان یک فرایند پیش‌تیمار برای میوه و سبزی‌های مختلفی مثل، قارچ، کلم بروکلی و گل کلم (Jambrak *et al*., 2007)، هویج (Rawson *et al*., 2011)، سیب (Opalic *et al*., 2009) و موز (Azoubel *et al*., 2010) بکار برده شده است.

ایجاد بدطعمی و تغییر رنگ در سبزی‌های منجمد خام به فعالیت آنزیم پراکسیداز در آنها مرتبط است بنابراین غیرفعال‌سازی این آنزیم ماندگاری سبزی‌ها طی دوره نگهداری را افزایش می‌دهد. این آنزیم عمدتا به عنوان یک شاخص برای کارایی فرایند آنزیم بری استفاده می‌شود (Polata *et al*., 2009). معمولا کاهش ۹۰ درصدی و یا بیشتر در فعالیت پراکسیداز سبزی‌ها جهت دستیابی به یک کیفیت مناسب طی نگهداری این محصولات به‌صورت منجمد مورد نیاز است (Akyol *et al*., 2006).

در سال های اخیر مصرف لوبیای سبز (*Phaseolus vulgaris* L.) به‌دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا و سلامتی‌بخش آن و نیز جهت تولید فراورده‌های غذایی اهمیت بالایی یافته است (Akyol *et al*., 2006).

روش سطح پاسخ مجموعه‌ای از روش‌های ریاضی و آماری می‌باشد که جهت بهینه‌یابی بسیاری از فرایندها مورد استفاده قرار می گیرد. مزیت اصلی این روش کاهش تعداد آزمایش‌های مورد نیاز جهت ارزیابی چندین پارامتر و برهم‌کنش‌های آنها می‌باشد (Bai *et al*., 2010).

هدف از این مطالعه بررسی اثرات آنزیم‌بری لوبیای سبز به کمک امواج فراصوت بر فعالیت پراکسیداز و میزان ویتامین ث محصول، مقایسه آن با روش متداول (آب داغ) و پیشنهاد این روش در صورت موفقیت‌آمیز بودن آن به صنعت جهت جایگزینی روش‌های متداول می‌باشد.

مواد و روش ها

- مواد

لوبیای سبز (*Phaseolus vulgaris* Var. *Vulgaris*) از بازار محلی تهیه شد. گایاکول و پراکسید هیدروژن از شرکت سیگما-آلدریچ و بقیه مواد شیمیایی نیز از شرکت مرک آلمان خریداری شد.

- فرایند آنزیم‌بری

به منظور آنزیم‌بری لوبیای سبز به کمک فراصوت، قطعات لوبیا سبز به طول ۵ تا ۸ سانتی متر در حمام حاوی آب مقطر قرار گرفته و فرایند حرارتی در دمای ۵۰ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ تا ۲۲۵ ثانیه توسط حمام آب اعمال شد. دمای فرایند حرارتی توسط ترموکوپل کنترل شد. دستگاه فراصوت میسونیکس آلمان (XL2020) با توان ۱/۵ کیلووات و فرکانس ۲۵ کیلوهرتز و با پروب به قطر ۱۹ میلی‌متر مورد استفاده قرار گرفت.

به منظور آنزیم‌بری لوبیای سبز با آب داغ از یک حمام آب با دماهای ثابت ۶۰، ۷۵ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت زمانی ۵ تا ۲۰ دقیقه، استفاده شد. متغیرهای وابسته این پژوهش که در جدول ۱ نشان داده شده بیشترین اثر را بر میزان فعالیت باقیمانده آنزیم پراکسیداز[1] (RPA) و درصد

[1] Residual Peroxidase Activity

افت ویتامین ث طی پیش‌تیمارها نشان دادند و از این‌رو این متغیرها به‌عنوان متغیر مستقل انتخاب شدند.

- تهیه عصاره آنزیمی

پس از برش نمونه‌ها به قطعات کوچکتر با بافر سدیم فسفات با pH = ۶/۵ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مخلوط و در ادامه این مخلوط در یک مخلوط‌کن دستی به مدت دو دقیقه هموژنیزه و سوسپانسیون‌های حاصله به منظور جداسازی ذرات جامد فیلتر شدند (Akyol *et al*., 2006).

- ارزیابی فعالیت پراکسیداز

برای این منظور از سوبسترای مخلوط ۰/۵ میلی‌لیتر گایاکول، ۰/۵ میلی‌لیتر هیدروژن پراکسید و ۹۹ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات با pH ۶/۵ استفاده گردید. برای این منظور ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی با ۳/۵ میلی‌لیتر محلول سوبسترا مخلوط و میزان فعالیت این آنزیم با توجه به افزایش جذب نوری در طول موج ۴۷۰ نانومتر و دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به کمک اسپکتروفتومتر شیمادزو مدل UV-160A اندازه‌گیری گردید. یک نمونه شاهد حاوی ۰/۱ میلی‌لیتر آب و ۳/۵ میلی‌لیتر محلول سوبسترا نیز در نظر گرفته شد (Akyol *et al*., 2006; Polata *et al*., 2006). باقیمانده فعالیت پراکسیداز به‌صورت درصدی از فعالیت اولیه پراکسیداز در نمونه تیمار نشده محاسبه گردید.

$$RPA = A/A_0 \times ۱۰۰$$

A = فعالیت پراکسیداز پس از تیمار

A_0 = فعالیت پراکسیداز در نمونه تیمارنشده

- اندازه‌گیری میزان ویتامین ث

میزان ویتامین ث عصاره‌های لوبیای سبز تیمار شده و نشده به روش تیتراسیون ایندوفنول اندازه‌گیری گردید (Ercan & Soysal, 2001). که طی آن مخلوط عصاره با متافسفریک اسید با محلول نمکی سدیم ۲، ۶- دی کلروفنل ایندوفنول تیتر و میزان ویتامین ث برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم لوبیای سبز بیان گردید.

- تجزیه و تحلیل آماری

یک طرح مرکب مرکزی با سه متغیر مستقل هر یک در پنج سطح برای بررسی اثر امواج فراصوت بر میزان ویتامین ث و فعالیت آنزیمی پرکسیداز لوبیای سبز طی آنزیم‌بری به کمک فراصوت مورد استفاده قرار گرفت. متغیرهای مستقل و سطوح آنها در جدول ۱ مشخص می‌باشد.

دوره کاری که شامل زمان روشن و خاموش شدن دستگاه می‌باشد. زمان خاموشی جهت ترکیدن حباب‌های هوای ایجاد شده طی دوره فعالیت (روشن) در نظر گرفته شد.

این طرح فاکتوریل از ۳ فاکتور، ۲۰ تیمار پایه، ۶۰ تیمار کل، ۷ نقطه مکعبی، ۱ نقطه مرکزی در مکعب، ۶ نقطه محوری و صفر نقطه در مرکز محورها تشکیل شده است.

مدل مورد استفاده در روش RSM معمولا معادله درجهدوم است. در روش RSM برای هر متغیر وابسته، مدلی تعریف شده که آثار اصلی و متقابل فاکتورها را بر روی هر متغیر جداگانه بیان می نماید، مدل چند متغیره به صورت زیر می باشد.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{44} X_4^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{34} X_3 X_4$$

در معادله ذکر شده Y پاسخ پیش بینی شده، β_0 ضریب ثابت و β_1، β_2، β_3، β_4 اثرات خطی و β_{11}، β_{22}، β_{33}، β_{44} اثر مربعات و β_{12}، β_{13}، β_{14}، β_{23}، β_{24}، β_{34} اثرات متقابل می‌باشند. از نرم افزار Minitab 16 جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات استفاده شد و رسم نمودارهای مربوط به روش سطح پاسخ صورت گرفت. چهار مدل مختلف، خطی،

جدول ۱- متغیرهای مستقل فرایند و مقادیر آنها

متغیر مستقل	نماد ریاضی	سطوح متغیر				
		+۲	+۱	۰	-۱	-۲
دمای فرایند (°C)	X_1	۹۰	۸۱	۷۰	۵۸	۵۰
زمان (s)	X_2	۲۲۵	۱۸۸	۱۳۵	۸۱	۴۵
دوره‌ی کاری (s)	X_3	۰/۸	۰/۶۵	۰/۵	۰/۳۵	۰/۲

خطی- مربعی، خطی- برهم‌کنش و درجه دوم کامل را بر نتایج بدست آمده، اعمال و مدل‌های مختلف بر اساس R^2، R^2 اصلاح شده، R^2 پیش‌بینی شونده مقایسه گردید به صورتی که مدلی که دارای بیشترین مقادیر این سه فاکتور باشد دارای قدرت پیش‌بینی بالا و دقت بیشتری خواهد بود (Badwaik *et al*., 2012). پس از انتخاب مدل مناسب به کمک جدول آنالیز واریانس، معنی دار بودن عبارات مختلف، در سطح ۹۵ درصد، بررسی گردید.

یافته‌ها

نتایج حاصل از آزمایش ها در جدول ۲ قابل مشاهده است. مطابق جدول ۲، تیمار با شرایط دمای ۸۱ درجه سانتی‌گراد، مدت زمان ۱۸۸ ثانیه و دوره کاری ۰/۶۵ ثانیه کمترین میزان RPA (۷/۲۵ درصد) را داشته و در حالی‌که تیمار با شرایط دارای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، مدت زمان ۴۵ ثانیه و دوره کاری ۰/۵ ثانیه دارای کمترین میزان افت ویتامین ث (۰/۶۶ درصد) بود.

پس از مقایسه R^2 های مدل‌های مختلف که در جدول ۳ مشخص شده، مدل خطی- مربعی برای هر دو پاسخ مناسب در نظر گرفته شد. مدل مناسب برای هر یک از پاسخ‌ها به صورت زیر است:

$$\text{افت ویتامین ث (٪)} = -۰/۴۵۷\ X_۱ + ۰/۱۸۰\ X_۲ + ۰/۰۰۵\ X_۱^۲ - ۰/۰۰۰۳\ X_۲^۲ .$$

$$\text{RPA (٪)} = ۱۰۳/۶۲۱ - ۰/۹۸۶\ X_۱ - ۰/۱۴۱\ X_۲ - ۳۷/۳۵۵\ X_۳ + ۰/۰۰۰\ X_۲^۲ - ۲۹/۶۴۳\ X_۳^۲$$

جدول آنالیز واریانس برای ارزیابی معنی‌داری استفاده شد. برای هر یک از عبارت‌های مدل یک مقدار F و یک مقدار P مشخص شده که هر چقدر میزان F بیشتر و میزان P کمتر باشد عبارت مورد نظر تاثیر بیشتری در میزان پاسخ و درواقع میزان معنی‌داری بیشتری خواهد داشت (Quanhong & Caili, 2005). با توجه به جدول آنالیز واریانس، کلیه عبارت‌های خطی و نیز عبارت‌های درجه دوم مدت زمان فرایند و دوره کاری دارای اثر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بر میزان RPA داشتند. ولی اثر عبارت درجه دوم دمای فرایند معنی‌دار نبودند ($P>۰/۰۵$) (جدول ۴). از سوی دیگر عبارت‌های خطی و درجه دوم دما و زمان فرایند اثری معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) ولی اثر درجه دوم دوره کاری بر میزان افت ویتامین ث معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$) (جدول ۵). علاوه بر این مقدار عدم برازش برای RPA و افت ویتامین ث به ترتیب ۰/۲۴ و ۰/۳۶ مشاهده شد که هر دو مقدار معنی‌دار نبودند ($P>۰/۰۵$) که نشان دهنده دقت مدل‌ها بود.

جدول ۲-نتایج تیمارهای مربوط به فرایند آنزیم‌بری لوبیای سبز به کمک فراصوت

تیمار	دما (°C)	مدت زمان (s)	دوره‌ی کاری (s)	RPA	افت ویتامین ث
۱	۵۸	۱۸۸	۰/۳۰	۲۸/۴۱	۱۱/۷۵
۲	۷۰	۱۳۵	۰/۵۰	۱۸/۱۱	۱۱/۰۷
۳	۸۲	۸۱	۰/۶۵	۱۱/۵۰	۸/۳۳
۴	۷۰	۱۳۵	۰/۲۰	۲۳/۵۰	۱۴/۱۶
۵	۷۰	۱۳۵	۰/۸۰	۱۹/۶۱	۹/۷۵
۶	۵۸	۱۸۸	۰/۶۵	۲۵/۰۵	۸/۵۰
۷	۸۱	۱۸۸	۰/۳۰	۱۰/۰۰	۱۷/۹۱
۸	۸۱	۱۸۸	۰/۶۵	۷/۲۵	۱۶/۰۰
۹	۷۰	۴۵	۰/۵۰	۲۷/۰۸	۰/۶۶
۱۰	۸۱	۸۱	۰/۳۰	۱۴/۷۵	۹/۵۰
۱۱	۵۰	۱۳۵	۰/۵۰	۳۴/۷۵	۶/۸۳
۱۲	۵۸	۸۱	۰/۶۵	۳۰/۰۸	۲/۰۰
۱۳	۵۸	۸۱	۰/۳۰	۳۲/۱۶	۳/۶۶
۱۴	۷۰	۲۲۵	۰/۵۰	۱۵/۶۶	۱۸/۶۶
۱۵	۹۰	۱۳۵	۰/۵۰	۳/۸۵	۲۲/۷۵

جدول۳- مقایسه ضریب تعیین مدل‌های مختلف برای هر یک از پاسخ‌ها

مدل		پاسخ‌ها	
		RPA	افت ویتامین ث
خطی			
	R^2 ٪	۹۷/۱۵	۸۸/۱۳
	R^2 ٪ تصحیح شده	۹۷/۰۲	۸۷/۴۹
	R^2 ٪ پیش‌بینی شده	۹۶/۷۵	۸۵/۸۰
خطی- مربعی			
	R^2 ٪	۹۹/۱۰	۹۳/۰۰
	R^2 ٪ تصحیح شده	۹۸/۹۴	۹۲/۲۰
	R^2 ٪ پیش‌بینی شده	۹۸/۶۵	۹۰/۰۹
خطی- برهمکنش			
	R^2 ٪	۹۷/۰۸	۸۸/۳۸
	R^2 ٪ تصحیح شده	۹۶/۸۰	۸۷/۰۶
	R^2 ٪ پیش‌بینی شده	۹۶/۶۰	۸۴/۷۶
درجه دوم کامل			
	R^2 ٪	۹۹/۰۱	۹۳/۲۴
	R^2 ٪ تصحیح شده	۹۸/۸۴	۹۲/۰۳
	R^2 ٪ پیش‌بینی شده	۹۸/۴۶	۸۹/۲۱

جدول ٤- نتایج آنالیز واریانس مدل RPA

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F احتمال	P احتمال
رگرسیون	۶	۳۸۳۴/۹۷	۶۳۹/۱۶۲	۸۷۸/۹۶	۰/۰۰۰
خطی	۳	۱۶۴/۳۹	۵۴/۷۹۵	۷۵/۳۵	۰/۰۰۰
(X_1) دما	۱	۴۲/۶۰	۴۲/۶۰۱	۵۸/۵۸	۰/۰۰۰
(X_2) زمان	۱	۹۲/۸۴	۹۲/۸۳۶	۱۲۷/۶۷	۰/۰۰۰
(X_3) دوره‌ی کاری	۱	۵۹/۱۰	۵۹/۰۹۸	۸۱/۲۷	۰/۰۰۰
نمای دوم	۳	۷۱/۲۰	۲۳/۷۳۵	۳۲/۶۴	۰/۰۰۰
X_1^2	۱	۲/۱۸	۲/۱۷۶	۲/۹۹	۰/۰۸۹
X_2^2	۱	۳۹/۶۸	۳۹/۶۷۵	۵۴/۵۶	۰/۰۰۰
X_3^2	۱	۳۸/۴۶	۳۸/۴۶۴	۵۲/۸۹	۰/۰۰۰
خطای باقیمانده	۵۳	۳۸/۵۴	۰/۷۲۷		
خطای خالص	۵۹	۱۴/۶۶			

جدول ۵- نتایج آنالیز واریانس مدل افت ویتامین ث

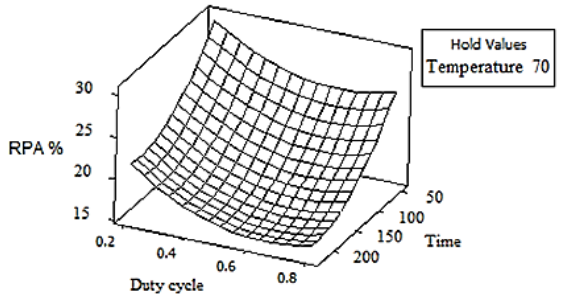
منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F احتمال	P احتمال
رگرسیون	۶	۱۵۵۷/۳۴	۲۵۹/۵۵۶	۱۷۲/۲۷	۰/۰۰۰
خطی	۳	۱۶۹/۴۷	۵۶/۴۹۰	۲۵/۵۲	۰/۰۰۰
(X_1) دما	۱	۹/۱۷	۹/۱۶۸	۴/۱۴	۰/۰۴۷
(X_2) زمان	۱	۱۵۰/۹۶	۱۵۰/۹۶۱	۶۸/۲۱	۰/۰۰۰
(X_3) دوره‌ی کاری	۱	۰/۰۰	۰/۰۰۵	۰/۰۰	۰/۹۶۳
نمای دوم	۳	۸۱/۴۸	۲۷/۱۵۹	۱۲/۲۷	۰/۰۰۰
X_1^2	۱	۲۶/۹۴	۲۶/۹۴۲	۱۲/۱۷	۰/۰۰۱
X_2^2	۱	۴۵/۲۱	۴۵/۲۰۶	۲۰/۴۳	۰/۰۰۰
X_3^2	۱	۱/۹۵	۱/۹۴۹	۰/۸۸	۰/۳۵۲
خطای باقیمانده	۵۳	۱۱۷/۳۰	۲/۲۱۳		
خطای خالص	۵۹	۶/۸۹	۰/۱۵۳		

بحث

- اثر متغیرهای مستقل بر RPA

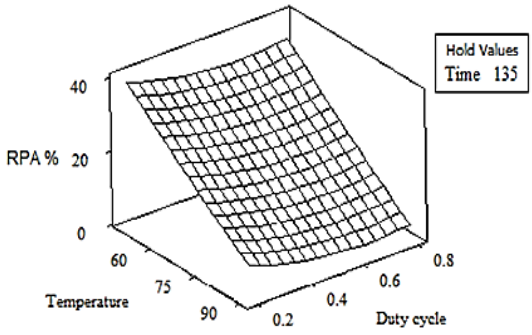
شکل ۱ اثر برهم‌کنش دوره‌ی کاری و زمان فرایند بر RPA را وقتی که دمای فرایند در دمای ثابت ۷۰ درجه سانتی‌گراد نشان می دهد. RPA بوسیله افزایش دوره‌کاری تا ۰/۷ ثانیه کاهش یافته اما در مقادیر بیشتر دوره‌کاری RPA کمی روند افزایشی دارد. این پدیده احتمالا به علت نبود فرصت کافی جهت ترکیدن حباب‌های هوای تولید

شده بوسیله امواج فراصوت در مقادیر بالای دوره‌ی کاری می‌باشد. RPA بوسیله افزایش زمان فرایند کاهش یافت.



شکل ۱- اثر متقابل زمان و دوره‌ی کاری بر میزان RPA

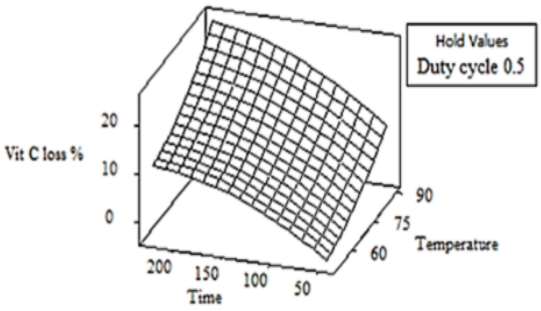
مطابق شکل ۲، RPA بوسیله افزایش دما کاهش می‌یابد که به علت دناتوره شدن آنزیم پراکسیداز در دمای بالا می‌باشد (Ercan & Soysal, 2011). بوسیله افزایش دوره‌کاری RPA در ابتدا کاهش یافته ولی در ادامه با افزایش بیشتر دوره کاری، افزایش یافت. این مورد احتمالا به علت کاهش هدایت حرارتی می‌باشد. دوره کاری بالا منجر به افزایش تجمع حباب‌ها و در ادامه کاهش هدایت حرارتی می‌شود.



شکل ۲- اثر متقابل دما و دوره‌ی کاری بر میزان RPA

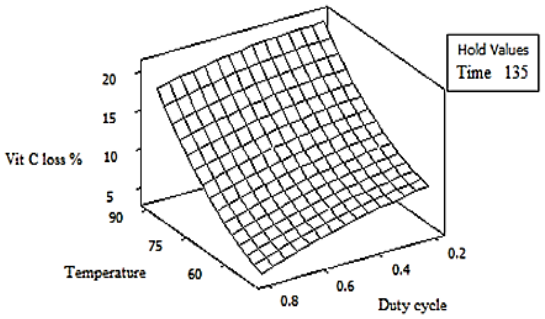
- اثر متغیرهای مستقل بر درصد افت میزان ویتامین ث

شکل ۳ اثر برهم‌کنش دما و زمان فرایند را بر میزان افت ویتامین ث، در مقدار ثابت دوره‌ی کاری با ۰/۵ ثانیه، را نشان می‌دهد. مطابق شکل با افزایش مدت زمان فرایند، بویژه در دمای بالا، افت ویتامین ث افزایش می‌یابد که به دلیل حساس بودن ویتامین ث به دمای بالا می‌باشد (Gamboa-Santos *et al*., 2013). ویتامین ث با افزایش دما بویژه در مدت زمان طولانی فرایند کاهش می‌یابد که احتمالا به علت تشکیل ترکیبات صوتی شیمیایی در فرایندهای با مدت زمان بالا که ممکن است بواسطه‌ی تولید رادیکال‌های آزاد، اثرات اکسیداتیو بر ویتامین ث داشته و باعث از بین رفتن ویتامین ث شوند (Zhang *et al*., 2010; Ghafoor & Choi, 2009).



شکل ۳- اثر متقابل دما و مدت زمان فرایند بر میزان افت ویتامین ث

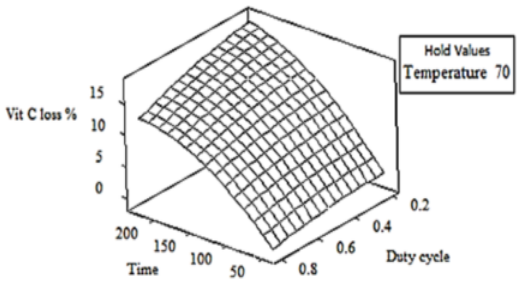
مطابق شکل۴، افت ویتامین ث بوسیله افزایش دوره کاری، کاهش می‌یابد و دلیل آن نداشتن شیمیایی زمان کافی جهت تخریب ویتامین ث برای ترکیبات صوتی برخلاف دوره‌کاری کوتاه مدت می‌باشد. میزان ویتامین ث بوسیله افزایش دما بویژه در دوره‌کاری پایین، به‌صورت قابل توجهی کاهش می‌یابد. همان‌طور که در شکل مشخص است ویتامین ث در شرایط دمایی و دوره‌کاری به ترتیب ۵۲ درجه سانتی‌گراد و ۰/۸ ثانیه، کمترین میزان آسیب را می‌بینند.



شکل ٤- اثر متقابل دما و دوره‌ی کاری بر میزان افت ویتامین ث

شکل ۵ اثر برهم‌کنشی دوره‌کاری و مدت زمان فرایند را بر میزان افت ویتامین ث، در مقدار ثابت دمای فرایند ۷۰ درجه سانتیگراد، نشان می‌دهد. افزایش دوره‌کاری افت ویتامین ث را بویژه در فرایندهای با مدت زمان طولانی، کاهش می‌دهد. پدیده لیچینگ ویتامین ث که در فرایندهای آنزیم‌بری با مدت زمان بالا افزایش می‌یابد منجر به افت بیشتر ویتامین ث شود (Cruz *et al*., 2008). مطابق شکل ۵ می‌توان مشاهده کرد که ویتامین ث در شرایط

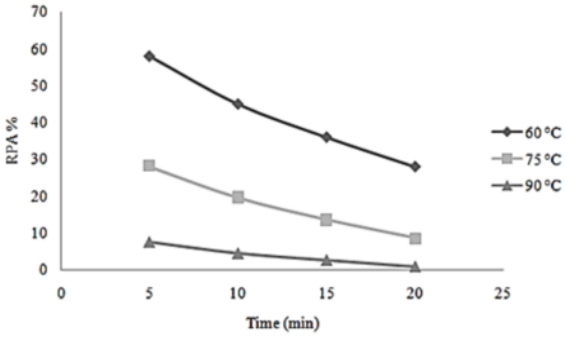
دوره‌کاری و مدت زمان به ترتیب ۰/۸ و ۵۰ ثانیه بیشترین میزان خود را دارد.



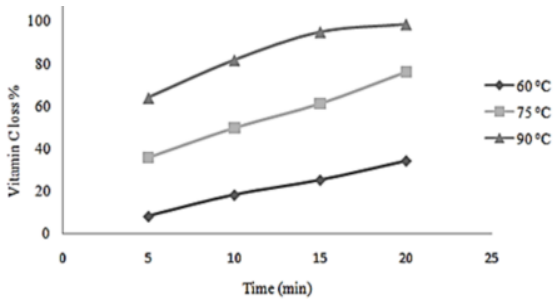
شکل ۵- اثر متقابل دوره‌ی کاری و مدت زمان فرایند بر میزان افت ویتامین ث

- مقایسه آنزیم‌بری به کمک فراصوت و آب داغ

برای آنزیم‌بری لوبیای سبز از حمام آب در دمای ۶۰ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد با مدت زمان‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ دقیقه استفاده شد. میزان RPA بعد از ۲۰ دقیقه آنزیم‌بری با آب داغ در دمای ۶۰، ۷۵ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب به ۲۸، ۸/۵ و ۰/۷ درصد کاهش یافت (شکل ۶). افت ویتامین ث پس از ۲۰ دقیقه آنزیم‌بری با آب داغ در دمای ۶۰، ۷۵ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب به ۳۴، ۷۶ و ۹۸/۵ درصد افزایش یافت (شکل ۷). با توجه به نتایج آزمایش، آنزیم‌بری لوبیای سبز با آب داغ به علت دمای بالا طی مدت زمان نسبتا طولانی کیفیت محصول را کاهش می‌دهد.



شکل ٦- RPA لوبیای سبز آنزیم‌بری شده با آب داغ



شکل ۷- افت ویتامین ث لوبیای سبز آنزیم‌بری شده با آب داغ

کاهش مدت زمان فرایند آنزیم‌بری برای کاهش مصرف انرژی و دستیابی به محصولی با کیفیت بهتر اهمیت دارد. گزارش شده که آنزیم پراکسیداز لوبیای سبز بوسیله آنزیم‌بری در دمای ۹۳/۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، بطور کامل غیر فعال می‌شود (Barrett & Theerakulkait, 1995). در مطالعه Bahceci و همکاران (۲۰۰۴)، مشاهده شد که فعالیت آنزیم پراکسیداز پس از آنزیم‌بری در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه به حدود ۸۰ درصد رسیده و جهت ۹۰ درصد غیرفعال‌سازی این آنزیم فرایند آنزیم بری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه انجام شود (Bahceci *et al.*, 2004). با این حال کیفیت محصول در این شرایط بطور معنی‌داری کاهش می‌یابد. مطابق آزمایشات انجام شده محدوده‌ی میزان باقیمانده فعالیت پراکسیداز و میزان افت ویتامین ث به ترتیب ۳/۸۵-۳۴/۷۵ و ۲/۰۰-۲۲/۷۵ اندازه‌گیری شد. در حالی‌که این محدوده‌ها برای لوبیای سبز آنزیم‌بری شده با آب داغ۱/۵-۵۹/۵ و ۵/۰-۹۵/۰ اندازه‌گیری گردید. مطابق نتایج آنزیم‌بری به کمک امواج فراصوت، این فرایند فعالیت آنزیم را در مدت زمان کوتاهی بطور قابل‌توجه‌ایی کاهش می‌دهد و در مقایسه با آنزیم‌بری با آب داغ خسارت بسیار کمی را به محصول وارد می‌کند. Jabbar و همکاران (۲۰۱۴) و Gamboa-Santos و همکاران (۲۰۱۳) به نتایج مشابه‌ای به ترتیب برای آب هویج و تکه‌های هویج دست یافتند و گزارش نمودند که آنزیم‌بری به کمک امواج فراصوت نسبت به آنزیم‌بری با روش‌های متداول مناسب‌تر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

مطابق آزمایشات انجام شده محدوده میزان باقیمانده فعالیت پراکسیداز و درصد افت میزان ویتامین ث به ترتیب ۳/۸۵-۳۴/۷۵ و ۲/۰۰-۲۲/۷۵ اندازه‌گیری شد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که آنزیم‌بری به کمک امواج فراصوت یک روش مناسبی برای آنزیم‌بری لوبیای سبز در مقایسه با روش متداول می‌باشد. مزایای این روش شامل مدت زمان کوتاه آنزیم‌بری، آسیب‌دیدن کم ویتامین ث و غیرفعال‌سازی بیشتر پراکسیداز در مدت زمان کوتاه نسبت روش متداول بود.

منابع

Akyol, C., Alpas, H. & Bayindirli, 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, 171-176.

Azoubel, P., Melo-Baima, M., Rocha Amorim, M. & Oliveira, S. S. B. (2010). Effect of ultrasound on banana cv Pacovan drying kinetics. *Journal of Food Engineering*, 97, 194-198.

Badwaik, L. S., Prasad, K. & Deka, S.C. (2012). Optimization of extraction conditions by response surface methodology for preparing partially defatted peanut. *International Food Research Journal*, 19 (1), 341-346.

Bahceci, K. S., Serpen, A., Gökmen, V. & Acar, J. (2004). Study of lipoxygenase and peroxidase as indicator enzymes in green beans: change of enzyme activity, ascorbic acid and chlorophylls during frozen storage. *Journal of Food Engineering*, 66, 187-192.

Bai, X. L., Yue, T. L., Yuan, Y. H. & Zhang, H. W. (2010). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from apple pomace using response surface methodology and HPLC analysis. *Journal of Separation Science*, 23 (23-24), 3751-3758.

Barrett, D. M. & Theerakulkait C. (1995). Quality indicators in blanched, frozen stored vegetables. *Food Technology*, 49 (1), 62-65.

Cruz, R. M. S., Vieira, M. C. & Silva, C. L. M. (2008). Effect of heat and thermosonication treatments on watercress (Nasturtium officinale) vitamin C degradation kinetics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies,* 9, 483-488.

Ercan, S. S. & Soysal, C. (2011). Effect of ultrasound and temperature on tomato peroxidase. *Ultrasonics sonochemistry,* 18 (2), 689-695.

Gachovska, T. K., Simpson, M. V., Ngadi, M. O. & Raghavan G. S. V. (2009). Pulsed electric field treatment of carrots before drying and rehydration. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 2372-2376.

Gamboa-Santos, J., Soria, A. C., Perez-Mateos, M., Carrasco, J. A., Montilla, A. & Villamiel, M. (2013). Vitamin C content and sensorial properties of dehydrated carrots blanched conventionally or by ultrasound. *Food chemistry,* 136, 782-788.

Garrote, R. L., Silva, E. R., Bertone, R. A. & Roa, R. D. (2004). Predicting the end point of blanching process. *Journal of Food Science and Technology*. 37 (3), 309-315.

Ghafoor, K. & Choi, Y. H. (2009). Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds and antioxidants from grape peel through response surface methodology. *Journal of* the *Korean Society* for *Applied* Biological *Chemistry*, 52 (3), 295-300.

Jabbar, S., Abid, M., Hu, B., Wu, T., Hashim, M.M., Lei, S., Zhu, X. & Zeng, X. (2014). Quality of carrot juice as influenced by blanching and sonication treatments. *Food Science and Technology*, 55, 16-21.

Jambrak, A. R., Mason, T. J., Paniwnyk, L. & Lelas, V. (2007). Accelerated drying of button mushrooms, Brussels sprouts and cauliflower by applying power ultrasound and its rehydration properties. *Journal of Food Engineering*, 81, 88-97.

Opalic, M., Domitran, Z., Komes, D., Belscak, A., Horzic, D. & Karlovic, D. (2009). The effect of ultrasound pre-treatment and air-drying on the quality of dried apples. *Czech Journal of Food Sciences*, 27, 297-300.

Polata, H., Wilinska, A., Bryjak, J. & Polakovic, M. (2009). Thermal inactivation kinetics of vegetable peroxidases. *Journal of Food Engineering*, 91, 387-391.

Quanhong, L. & Caili, F. (2005). Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein. *Food Chemistry*, 92, 701-706.

Ramesh, M.N., Wolf, W., Tevini, D. & Bognar, A. (2002). Microwave blanching of vegetables. *Journal of Food Science*, 67, 390-398.

Rawson, A., Tiwari, B. K., Tuohy, M. G., O'Donnell, C. P. & Brunton, N. (2011). Effect of ultrasound and blanching pretreatments on polyacetylene and carotenoid content of hot air and freeze dried carrot discs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18: 1172-1179.

Zhang, L. L., Xu, M., Wang, Y. M., Wu, D. M. & Chen, J. H. (2010). Optimizing ultrasonic Ellagic Acid extraction conditions from Infructescence of *Platycarya strobilacea* using response surface methodology, *Molecules*, 15, 7923-7932.

Zheng, L. & Sun, D. W. (2006). Innovative applications of power ultrasound during food freezing processes. *Trends* in *Food Science* & *Technology* j*ournal*, 17 (1), 16-23.