

تأثیر فرایند فراصوت با حرارت روی فعالیت آنزیم پراکسیداز و شاخص‌های رنگی آب هویج

علی ایاسه^۱، محمد علیزاده^{۲*}، محسن اسمعیلی^۲، عباس مهرداد^۳، یوسف جوادزاده^۴

۱. دانشجوی دکترای گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اورمیه
۲. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اورمیه
*نویسنده مسئول (m.alizadeh@mail.urmia.ac.ir)
۳. دانشیار گروه شیمی فیزیک، دانشکده شیمی، دانشگاه تبریز
۴. دانشیار گروه داروسازی صنعتی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

چکیده

در این مطالعه نمونه‌های آب هویج تحت تاثیر تیمارهای مختلف دما (۵۰، ۳۷/۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد)، زمان (۲۰، ۳۰ و ۱۰ دقیقه) و توان (۴۰۰ و ۳۵۰ وات)، مطابق طرح سطح پاسخ دی‌آپتیمال در فرکانس ثابت ۲۴ کیلوهرتز فراصوت شدند. نتایج حاصل نشان داد زمان ($P < 0/01$)، دما ($P < 0/01$) و اثر متقابل دما و زمان فراصوت تاثیر معنی‌دار ($P < 0/01$) روی کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز داشتند و یک مدل پیش‌بینی با ضریب تبیین بالا (۰/۸۹) حاصل شد. فعالیت آنزیمی تیمارهای پاستوریزه در دمای ۹۰-۸۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه غیرقابل ردیابی بودند. زمان فراصوت سبب کاهش معنی‌دار مقادیر شاخص‌های رنگی *a*، *b* و *L* و تفاوت رنگ کل نسبت به نمونه شاهد شد. در حالی که دمای فراصوت سبب افزایش معنی‌دار شاخص رنگی *a*-valve ($P < 0/01$) و تفاوت رنگ کل نسبت به نمونه شاهد ($P < 0/05$) گردید. نتایج حاصل نشان داد تیمار فراصوت به خاطر اثرات کاویتاسیونی موجب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز شد. همچنین تجزیه شاخص‌های رنگی آب هویج بویژه *a*-value را نسبت به نمونه پاستوریزه و شاهد کاهش داد. به منظور حفظ کیفیت آب هویج فرآیند شده با فراصوت، از روش‌های اضافی تکمیلی مانند حذف اکسیژن، نگهداری در دمای پایین و استفاده از بازدارنده‌های طبیعی آنزیم باید استفاده شود.

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۰۵

تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۷/۲۰

واژه‌های کلیدی

آب هویج
پراکسیداز
شاخص‌های رنگی
فراصوت

مقدمه

انواع سرطان‌ها می‌شود (Alothman *et al.*, 2009; Hsieh & Ko, 2008; Rakcejeva *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2009). رنگ آب میوه‌ها اولین فاکتوری است که بوسیله مصرف‌کننده جهت ارزیابی کیفی و پذیرش حسی آن در نظر گرفته می‌شود. آنزیم‌هایی مانند پراکسیدازها^۱، پلی‌فنل‌اکسیدازها^۲،

آب‌هویج یکی از آب‌میوه‌های پرمصرف و سلامتی‌زا است و یک منبع غنی از کاروتنوئیدها، مانند بتاکاروتن است که مسؤول رنگ نارنجی آن بوده و پیش‌ساز ویتامین A می‌باشد. مطالعات صورت‌گرفته نشان داده است مصرف هویج و محصولات آن مانند آب‌هویج باعث کاهش خطر ابتلاء به بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های قلبی عروقی و کاهش خطر توسعه

1 -Peroxidase

2 -Polyphenoloxidase

استرازاها^{۱۶} (PME) و پلی گالاکتورونازها^{۱۷} (PG) در دو فازه شدن آرمیوه‌های کدر با تجزیه ترکیبات پکتیکی نقش موثر بازی می‌کنند (مهماندوست و همکاران ۱۳۹۰). بنابراین غیرفعال کردن آنزیم‌ها برای پایداری رنگ، طعم، مزه و دو فازه شدن خیلی از آب-میوه‌ها بویژه آب‌هویج ضروری است. عموماً تیمار حرارتی بطور وسیعی بعنوان تکنولوژی پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون و آنزیم‌بری برای غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌ها در صنایع غذایی استفاده می‌شود. مقاومت حرارتی بالای بعضی آنزیم‌ها در مقابل تیمار حرارتی نه تنها موجب حل مشکل نمی‌شود، بلکه یک سری مشکلات دیگر را سبب شده و موجب تغییرات منفی در بعضی خواص غذایی مانند عطر، طعم، رنگ و یا ارزش تغذیه‌ای می‌شود (Ercan & Soysal, 2011). همچنین در آب‌هویج استفاده از حرارت بدلیل انعقاد پروتئین‌ها، ایجاد پدیده کوالسانس^{۱۸} یا دو فازه شدن را تسریع می‌کند (Goncalves et al., 2010; Zhou et al., 2009). بنابراین جستجوی روش‌های جایگزین که ضمن از بین بردن آنزیم‌ها حداقل تأثیر بر خواص تغذیه‌ای، رنگ و طعم آب‌میوه داشته باشد موضوعی است که توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است. مطالعات انجام شده نشان داده است، استفاده از امواج فراصوت^{۱۹} می‌تواند جهت غیرفعال کردن آنزیم‌ها بکار گرفته شود. گزارش شده که فراصوت کمترین تأثیر روی کیفیت آرمیوه‌هایی مانند آب‌پرتقال (Tiwari et al., 2008)، آب‌گاو^{۲۰} (Cheng et al., 2007)، آب‌شاتوت^{۲۱} (Tiwari et al., 2009) و آب‌انگور قرمز (Tiwari et al., 2010) دارد. مطالعه مشخصی در زمینه تأثیر تیمار فراصوت روی فعالیت آنزیمی آب‌هویج صورت نگرفته است، اما مطالعات انجام شده روی دیگر آب‌سبزی‌ها نشان داده است، که تلفیق

لیپواکسیژنازها^۱ و فنلازها^۲ می‌توانند واکنش‌های اولیه تجزیه نامطلوب رنگ، عطر، طعم و تغییرات تغذیه‌ای و حسی را سبب شوند. پراکسیداز^۳ (POD) آنزیمی است که عمدتاً در سبزی‌ها یافت می‌شود. یک آنزیم حاوی آهن^۴ است که تعداد زیادی از واکنش‌ها را کاتالیز می‌کند. بنابراین غیرفعال کردن این آنزیم عمر انباری^۵ آب‌سبزی‌ها را درحین نگهداری افزایش می‌دهد. آنزیم پراکسیداز به‌خاطر مقاومت حرارتی بالا و غلظت زیاد، از آن به‌عنوان شاخص کفایت آنزیم‌بری حرارتی در اغلب سبزی‌ها و میوه‌ها استفاده می‌شود (جهت غیرفعال شدن کامل آنزیم پراکسیداز در برش‌های هویج، در ۹۰ درجه سانتی‌گراد ۱/۴ دقیقه و برای غیرفعال شدن ۹۰ درصد آن در ۸۰ درجه سانتی‌گراد ۶ دقیقه زمان لازم است (Goncalves et al., 2010)). پراکسیداز به صورت ایزوآنزیم‌های (شامل گلوکاتینون پراکسیداز^۶، سیتوکروم‌سی پراکسیداز^۷، هورس‌ریش پراکسیداز^۸، لاکتوپراکسیداز، هیدروژن پراکسیداز^۹ و هالوپراکسیداز^{۱۰}) با حساسیت متفاوت به داتوراسیون حرارتی (فرم‌های مقاوم و ناپایدار در برابر حرارت^{۱۱}) در سبزی‌ها و میوه‌ها یافت شده است. سه فرآیند عمده قابل ملاحظه در غیرفعال‌سازی پراکسیداز شامل ۱- تفکیک گروه پروستاتیک^{۱۲} (Heme) از هالوآنزیم^{۱۳} (سیستم فعال آنزیم)، ۲- تغییر ترکیب آپوآنزیم^{۱۴} (قسمت پروتئینی آنزیم) و ۳- تغییرات تجزیه‌ای گروه پروستاتیک است (Ercan & Soysal, 2011; Cruz et al., 2006). از طرف دیگر، آنزیم‌های پکتیناز^{۱۵} مانند پکتین‌متیل

-
- 1 -Lipoxygenase
 - 2 -Phenolase
 - 5 -Peroxidase enzyme(POD)
 - 4 -Heme
 - 5 -Shelf life
 - 6 -Glutathione peroxidase
 - 7 -Cytochrome c peroxidase
 - 8 -Hhorseradish peroxidase
 - 9 -Hydrogen peroxide
 - 10 -Haloperoxidases
 - 11 - Heat-labile
 - 12 -Prostathetic
 - 13 -Haloenzyme
 - 14 -Apoenzyme
 - 15 -Pectinase

-
- 16 -Pectinmethylesterase
 - 17 -Polygalacturonase
 - 18 -Coalescence
 - 19 -Ultrasound
 - 20 -Guava یک نوع میوه کاشت شده در مناطق
 - گرمسیری حاره ای مانند مالزی است)
 - 21 -Blackberry

تمام مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش، شامل پراکسید هیدروژن، گایاکول، اتانول، منوپتاسیم فسفات، دی‌پتاسیم فسفات و بافرهای ۴ و ۷ جهت تنظیم پی اچ، ساخت شرکت مرک آلمان بودند.

روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌های آب‌هویج

هویج‌های کاشت شده در منطقه دزفول از بازار محلی شهر تبریز خریداری شدند. سپس هویج‌ها توسط آب شهری جهت جدا کردن مواد زائد شسته شدند. آب سطحی هویج‌ها با یک پارچه کتان تمیز خشک گردیده و توسط چاقو به چندین قسمت بصورت طولی برش داده شدند. آبیگری از هویج‌ها با استفاده از یک آب‌میوه‌گیر خانگی توشیبا ساخت ژاپن انجام شد. آب‌میوه حاصل ابتدا از یک الک آزمایشگاهی ۳۲۵ میش (۰/۰۴۵ میلی‌متر) فیلتر شد. آب‌هویج بدست آمده مجدداً توسط پارچه کتان چهار لایه فیلتر و در بطری پلاستیکی بسته بندی و تا زمان فرایند فراصوت در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (گروه اول). گروه دوم نمونه‌های تیمار پاستوریزه بودند که با حرارت دادن مقداری از آب‌هویج بدست آمده در بالا با هم زدن مداوم در حمام آبگرم در دمای ۹۰-۸۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه تهیه شد. پس از پاستوریزاسیون، نمونه‌ها به درون تیوب‌های پلاستیکی ۵۰ میلی‌لیتری با ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر و قطر ۳ سانتی‌متر که قبلاً در اتوکلاو استریل شده بودند منتقل گردیدند. تیوب‌های حاوی نمونه پاستوریزه داخل آب سرد ۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا سریعاً سرد شوند. گروه سوم نمونه‌های مربوط به تیمار شاهد بودند که به تیوب‌های مربوطه منتقل و درشان بسته شد. لازم به توضیح است نمونه‌های پاستوریزه و شاهد فراصوت نشدند بلکه جهت مقایسه با نمونه‌های فراصوت شده تهیه شدند.

فراصوت با حرارت^۱ در غیرفعال کردن پراکسیداز شاهی آبی^۲ (Cruz *et al.*, 2006) و افزایش رنگ آن (Cruz *et al.*, 2007) موثر بوده است. یکسری از محققین دیگر تاثیر فراصوت با حرارت را روی بهبود کیفیت آب‌گوجه مطالعه کرده‌اند (Wu *et al.*, 2008).

غیرفعال شدن آنزیم‌ها توسط فراصوت عمدتاً به اصول فیزیکی (ایجاد حفره^۳، اثرات مکانیکی^۴، شوک‌های مکانیکی ریز^۵) و یا شیمیایی (تشکیل رادیکال‌های آزاد بخاطر واکنش‌های سونوشیمیایی^۶) نسبت داده می‌شود، که با فروریختن حباب‌ها، نقاط داغ موضعی^۷ با حرارت حدود ۵۰۰۰ درجه کلونین و فشار بالای ۵۰۰ مگاپاسکال ایجاد می‌شود. در این شرایط مولکول‌های آب هیدرولیز صوتی^۸ شده و رادیکال‌های آزاد تولید می‌شوند، که خاصیت اکسیدکنندگی و واکنش‌دهندگی بسیار زیادی با ترکیبات مختلف از جمله پروتئین‌ها و آنزیم‌ها دارند. علاوه بر این ارتعاش دیواره حباب‌ها و انفجار آنها در میدان کاویتاسیون تنش برشی زیادی در محیط اطراف ایجاد می‌کند که می‌تواند حتی پیوندهای کووالانسی را شکسته و مولکول‌های پلیمری از جمله پروتئین‌ها و آنزیم‌ها را تخریب کند (Adekunte *et al.*, 2010; Ercan & Soysal, 2011; Vercet *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2002) و مهماندوست و همکاران، ۱۳۹۰).

هدف این پژوهش مطالعه تاثیر تیمار فراصوت در دما، زمان و توان متفاوت به عنوان یک تیمار غیرحرارتی روی فعالیت آنزیمی پراکسیداز و تغییرات مولفه‌های رنگی آب‌هویج و مقایسه آنها با تیمار مرسوم حرارتی و شاهد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

- 1 -Thermosonication
- 2 -Watercress "شاهی آبی یا آب تره" (دردیکشنری آریانپور
- "تره"، "ترتیزک" ترجمه شده است)
- 3 -Cavitation
- 4 -Mechanical effects
- 5 -Micro-mechanical shocks
- 6 -Sonochemical reaction
- 7 -Local hot spots
- 8 -Sonolysis

فراصوت نمونه‌های آب‌هویج

اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی) روی کامپیوتر نصب می‌شود که قادر به رسم منحنی، هم‌زمان با انجام آزمایش و محاسبه فعالیت آنزیمی در قسمت خطی منحنی بعد از اتمام آزمایش است. فعالیت آنزیمی در سه گروه از نمونه‌ها (فراصوت شده، پاستوریزه و شاهد) مطابق طرح آزمایشی اندازه‌گیری شدند. قبل از اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی تنظیمات مربوط به مشخصات نمونه (طول موج، زمان کل اندازه‌گیری جذب، فواصل زمانی جذب) به نرم‌افزار تعریف شد. تنظیم صفر اسپکتروفتومتر با سوبسترای فاقد نمونه انجام شد. مقادیر آب‌هویج اضافه شده به سوبسترا، غلظت سوبسترا و پی اچ سوبسترا، با آب‌هویج شاهد تا بدست آمدن منحنی خطی ادامه یافت و در بقیه نمونه‌ها مطابق غلظت‌های بدست آمده عمل شد که در تمام موارد منحنی آنها خطی بود.

اندازه‌گیری خواص رنگی

رنگ نمونه‌ها توسط رنگ سنج (ساخته شده در دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز) مورد ارزیابی قرار گرفت. در داخل رنگ‌سنج از دو لامپ LED کم فشار مخصوص با زاویه ۴۵ درجه نسبت به نمونه و فاصله ۲۵ سانتی‌متر تا سطح نمونه استفاده شد. حدود ۱۵ میلی‌لیتر از هر کدام از نمونه‌های فراصوت شده، پاستوریزه و شاهد به صورت جداگانه در پلیت‌های شفاف رنگ ریخته شده و با دوربین عکاسی ۸ مگاپیکسل کانون، ساخت ژاپن با بزرگ نمایی ۴/۸X با استفاده از این محفظه با نور ثابت از سطح نمونه‌ها عکس تهیه شد. سپس شاخص‌های رنگی (L, a, b) عکس‌های تهیه شده با استفاده از نرم‌افزار فتوشاپ Adobe Photoshop CS4 ME مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان رنگ با استفاده از پارامترهای هانتر بر حسب روشنایی (L-value)^۲، قرمزی- سبزی^۳ (a-value) و زردی- آبی^۴ (b-value) بیان گردید. تفاوت رنگ کل نسبت به نمونه شاهد^۵ و تفاوت رنگ کل

پس از آماده‌سازی آب‌هویج، نمونه‌ها بوسیله دستگاه فراصوت Hielscher از نوع پروب‌دار، مدل UP400s ساخت آلمان، قطر پروب ۲۲ میلی‌متر، عمق غوطه‌وری پروب در نمونه ۲۵ میلی‌متر و حجم نمونه ۵۰ سانتی‌مترمکعب، در یک راکتور شیشه‌ای دو جداره ۱۰۰ میلی‌لیتر متصل به ترموستات (Lab. Companion-RW 0525G) جهت تنظیم دمای مورد نظر نمونه با گردش آب در اطراف آن، مطابق طرح آزمایشی سطح پاسخ دی‌پتیمال^۱ در سه دمای (۲۵، ۳۷/۵ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد)، به مدت (۳۰، ۲۰، ۱۰ دقیقه) با دو توان (۴۰۰ و ۳۵۰ وات) در فرکانس ثابت ۲۴ کیلوهرتز فراصوت شدند. برای جلوگیری از افزایش دمای خود دستگاه فراصوت از جریان هوای سرد کمپرسور استفاده شد. هوای سرد کمپرسور با عبور از فیلتر جاسازی شده در داخل شلنک (جهت گرفتن آب‌های کندانس شده و ذرات معلق) به موتور دستگاه وصل شد تا از گرم شدن بیش از حد موتور در حین فراصوت جلوگیری شود.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش Cruz و همکاران (۲۰۰۶) با تغییراتی استفاده شد. سوبسترا با ۹۹/۸ سانتی‌متر مکعب (بافر فسفات ۰/۱ مولار با پی اچ ۶/۵)، ۱۰۰ میکرولیتر (معرف آب اکسیژنه ۳۰ درصد) و ۱۰۰ میکرولیتر (معرف گایاکول ۹۹/۵ درصد) تهیه شد. ۲۹۵۰ میکرولیتر از سوبسترای تهیه شده با ۵۰ میکرولیتر از هرکدام از نمونه‌های آب‌هویج تیمار شده و آماده‌سازی شده قبل از اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی در سل اسپکتروفتومتر اضافه و پس از دو بار هم زدن محلول داخل سل با گذاشتن پارافیلیم روی درب آن، جذب نمونه‌ها بلافاصله در اسپکتروفتومتر مرئی-فرابنفش شیمادزو، مدل UV-1800، ساخت ژاپن در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت ۹۰ ثانیه با فواصل زمانی هر ۰/۱ ثانیه یکبار خوانده شد. دستگاه اسپکتروفتومتر به کامپیوتر وصل و نرم افزار UV Probe Version ۲/۳ (مخصوص

2 -Lightness

3 -Redness

4 -Yellowness

5 -Total Color Difference, relative to blank sample (TCD_{Blank})

1- D-Optimal

در معادله بالا، Y متغیر وابسته یا پاسخ پیش‌بینی شده، β_0 ضریب ثابت (عرض از مبدا)، β_1 ضریب اثر خطی، β_{ii} ضریب اثر درجه دوم، β_{ij} ضریب اثر متقابل و X_i و X_j متغیرهای مستقل هستند. برای حصول مدل‌های ساده، اثرات غیرمعنی‌دار از معادله بالا حذف گردیدند و این روند تا زمانی که ضریب تبیین اصلاح شده ($Adj-R^2$) مدل افزایش می‌یافت ادامه پیدا کرد. احتمال خطای نوع اول در ارزیابی‌های آماری برابر $0/05$ در نظر گرفته شد. برای آنالیز داده‌های آزمایشی از نرم‌افزار SAS نسخه $9/1$ استفاده شد (Terefe et al., 2010; Rawson et al., 2011a).

نتایج و بحث

تأثیر تیمار فراصوت روی فعالیت آنزیم پراکسیداز نتایج حاصل از تجزیه واریانس نمونه‌های فراصوت شده نشان داد، زمان ($P < 0/01$)، دما ($P < 0/01$) و اثر متقابل دما و زمان فراصوت تأثیر معنی‌داری ($P < 0/01$) روی فعالیت آنزیم پراکسیداز داشتند و مقادیر P برای مدل $0/01$ و برای عدم برازش یا عدم تطابق داده‌ها با مدل $0/128$ بدست آمد که تأییدی بر تطابق خوب مدل با داده‌های آزمایشی است. مقدار عددی ضریب تبیین برای مدل رگرسیونی 89% بود، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مدل رگرسیونی توانسته است رابطه بین متغیرهای مستقل (دما و زمان) و برهم‌کنش آنها روی متغیر وابسته (فعالیت آنزیمی) را نشان داده و پیش‌بینی کند. در حالی که توان فراصوت اثر معنی‌داری روی فعالیت آنزیمی نمونه‌ها نداشت. اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی تیمارهای حرارتی نشان داد آنزیم پراکسیداز در دمای $88-90$ درجه سانتی‌گراد به مدت 4 دقیقه تقریباً غیرقابل ردیابی است. فعالیت آنزیمی نمونه فراصوت شده کاهش معنی‌دار ($P < 0/05$) نسبت به نمونه‌های شاهد داشتند و در نمونه فراصوت شده فعالیت آنزیم $50-78$ درصد کاهش یافت.

همان‌طور که در شکل‌های ۱ و ۲ ملاحظه می‌شود با افزایش دما و زمان فراصوت فعالیت آنزیمی نمونه‌های فراصوت شده کاهش یافت در حالی که تأثیر توان فراصوت در کاهش فعالیت آنزیمی پایین بود که ممکن است به استفاده از توان‌های فراصوت

نسبت به نمونه پاستوریزه^۱ بر اساس معادله‌های زیر محاسبه و گزارش شدند (Tiwari et al., 2010).

معادله (۱)

$$TCD_{Blank} = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2}$$

در معادله ۱، L روشنایی آب‌میوه فراصوت شده، L_0 میانگین روشنایی نمونه‌های تیمار نشده هر بلوک یا همان نمونه‌های شاهد هر بلوک، a قرمزی آب‌میوه فراصوت شده، a_0 میانگین قرمزی نمونه‌های شاهد هر بلوک، b زردی نمونه فراصوت شده، b_0 میانگین زردی نمونه‌های شاهد هر بلوک می‌باشد.

در معادله ۲، L روشنایی آب‌میوه فراصوت شده، L_0 میانگین روشنایی نمونه‌های پاستوریزه هر بلوک، a قرمزی آب‌میوه فراصوت شده، a_0 میانگین قرمزی نمونه‌های پاستوریزه هر بلوک، b زردی نمونه فراصوت شده، b_0 میانگین زردی نمونه‌های پاستوریزه هر بلوک می‌باشد.

معادله (۲)

$$TCD_{Pasteurized} = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2}$$

تجزیه و تحلیل آماری

جهت مطالعه‌ی اثرات سه فاکتور مستقل فرآوری، دمای فراصوت (A)، زمان فرآیند (B) و توان فراصوت (C) روی فعالیت آنزیمی پراکسیداز و تغییرات شاخص‌های رنگی (L , a , b) از طرح سطح پاسخ دی‌آپتیمال استفاده شد. جهت کاهش اثر غیریکنواختی ماده آزمایشی در روزهای مختلف از بلوک‌بندی و تصادفی کردن ترتیب آزمایشات استفاده شد (۶ بلوک ۴ تایی) و برای هر بلوک تیمارهای حرارتی و شاهد، بصورت جداگانه در نظر گرفته شد. پس از جمع‌آوری داده‌ها از آنالیز رگرسیون برای برازش مدل‌های چند جمله‌ای درجه دوم برای پاسخ‌های مورد مطالعه استفاده گردید. شکل عمومی مدل چند جمله‌ای درجه دوم در معادله ۳ نشان داده شده است.

معادله (۳)

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

حباب‌های ایجاد شده توسط فراصوت نسبت داده می‌شود (Cheng *et al.*, 2007). در حالی که تلفیق فراصوت با حرارت (TS) در ۶۰ و ۶۵ درجه سانتی‌گراد برای بدست آوردن آب‌گوجه با کمترین باقیمانده پکتین متیل استراز (PME) و گرانونی بالا مفید است. ولی در ۷۰ درجه سانتی‌گراد و بالاتر به دلیل تخریب حباب‌ها این اثر کاهش یافت (Wu *et al.*, 2008). نتایج مشابهی توسط Vercet و همکاران (۲۰۰۲) گزارش شده است که در مطالعات خود نشان دادند فرآیند حرارتی حدود ۳۸ درصد از فعالیت پکتین متیل استراز (PME) اولیه در آب‌گوجه را غیرفعال کرد در حالی که، در آب‌گوجه تیمار شده با تلفیق فشار، حرارت و فراصوت (MTS^۱) با وجود اثرات تخریبی ویسکوزیته بالای رب گوجه روی امواج فراصوت، فعالیت پکتین متیل استراز (PME) قابل ردیابی نبود. تیمار حرارتی روی آنزیم پلی‌گالاکتوروناز (PG) تأثیر نگذاشت در حالی که تیمار تلفیقی فشار، حرارت با فراصوت سبب غیرفعال شدن حدود ۶۲ درصد از فعالیت کل پلی‌گالاکتوروناز شد.

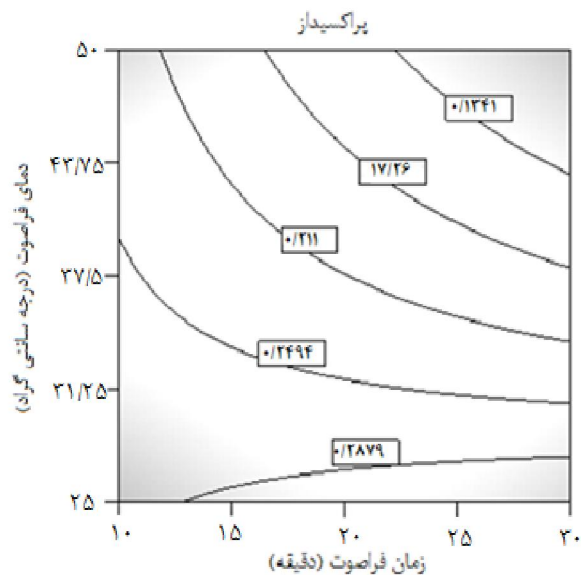
مدل بدست آمده برای پیش‌بینی تاثیر متغیرهای مستقل دما (A)، زمان (B)، توان (C) فراصوت و برهم‌کنش آنها با همدیگر روی فعالیت آنزیمی نمونه‌های فراصوت شده با حذف عوامل غیرمعنی‌دار در معادله کد بندی شده ۴ نشان داده شده است.

معادله (۴)

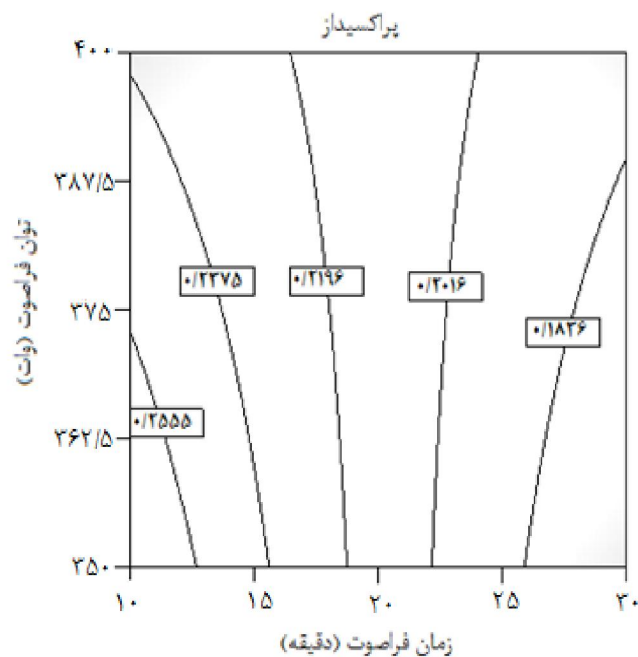
$$\ln(\text{Peroxides activity}) = -1/55149 - 0/35874A - 0/18168B - 0/00435C - 0/25455AB + 0/06885ABC$$

A دمای فراصوت، B زمان فراصوت، C توان فراصوت، AB برهم‌کنش دما و زمان و BC برهم‌کنش زمان و توان فراصوت می‌باشند.

نزدیک به هم (۴۰۰، ۳۵۰ وات) در این مطالعه مربوط باشد. این نتایج نشان داد که تیمار فراصوت می‌تواند تکنولوژی مفیدی جهت بدست آوردن آب‌هویج با فعالیت آنزیمی پائین بدون استفاده از تیمارهای حرارتی بالا باشد. همچنین به منظور حفظ کیفیت آب هویج فرآیند شده، فرآیند فراصوت باید با روش‌های اضافی تکمیلی مانند حذف اکسیژن، نگهداری در دمای پایین و استفاده از بازدارنده‌های طبیعی آنزیم همراه شود. نتایج بدست آمده از این پژوهش، مطابق با نتایج بدست آمده توسط Wu و همکاران (۲۰۰۸) روی آب‌گوجه و Vercet و همکاران (۲۰۰۲) بود ولی برخلاف نتایج بدست آمده توسط Cruz و همکاران (۲۰۰۶) در شاهی آبی بود. Cruz و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند تلفیق فراصوت با حرارت در شاهی آبی باعث افزایش فعالیت آنزیمی پراکسیداز در محدوده دمایی ۸۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد شد، در دماهای بالاتر از ۸۵ درجه سانتی‌گراد تیمار تلفیقی (فراصوت با حرارت) اثر سینرژیستی در کاهش فعالیت آنزیم در مقایسه با تیمار حرارتی مرسوم در زمان‌های آنزیم‌بری مشابه نشان داد. به عبارت دیگر، تیمار تلفیقی باعث غیرفعال شدن بیشتر آنزیم در زمان کمتر نسبت به آنزیم‌بری حرارتی شد که به کاهش فعالیت ویژه و تغییرات ساختاری در ساختمان سومین آنزیم مربوط می‌شود. این نتایج اجازه کاربرد زمان‌های آنزیم‌بری کمتر در این محدوده از درجه حرارت را می‌دهد، و منجر به تولید محصولات با کیفیت بیشتر با زمان فرآیند کمتر می‌شود و می‌تواند دلیلی بر جایگزینی تیمار فراصوت به جای فرآیند آنزیم‌بری حرارتی باشد (Cruz *et al.*, 2006). نتایج مشابه از افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در آب میوه گاوا فراصوت شده و کربناته توسط Cheng و همکاران (۲۰۰۷) گزارش شده است. به هر حال نمونه‌های تحت تیمار فراصوت و ترکیبی (کربناته و فراصوت شده)، بطور نسبی فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز بالاتری در مقایسه با نمونه‌های شاهد و کربناته به تنهایی نشان دادند که این امر به متلاشی شدن دیواره سلولی در اثر استفاده از نیروی فراصوت و رها شدن بعضی ترکیبات فنولی پیوند شده در دیواره سلولی، موقع فروریختن



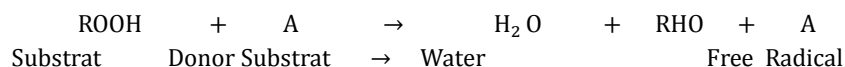
شکل ۱- کانتور پلات نشان دهنده اثر برهم کنش دما و زمان فراصوت روی فعالیت آنزیم پراکسیداز نمونه‌های فراصوت شده



شکل ۲- کانتور پلات نشان دهنده برهم کنش زمان و توان فراصوت روی فعالیت آنزیم پراکسیداز نمونه‌های فراصوت شده

می‌باشد. در شکل ۳، مکانیسم عمل آنزیم پراکسیداز نشان داده شده است (Harshul, 2001).

دو ایزومر از آنزیم پراکسیداز با حساسیت متفاوت به دنا تورا سیون حرارتی در سبزی‌ها یافت شده است (فرم مقاوم و ناپایدار در برابر حرارت). پراکسیداز به عنوان یک آنزیم اکسیدر دوکتاز^۱ شناخته شده و مکانیسم درگیر در فعل و انفعالات، تغییرات هیدروژن



شکل ۳- مکانیسم عمل آنزیم پراکسیداز

افزایش معنی‌دار مقادیر کاروتنوئید کل نمونه‌های فراصوت شده با دما در این پژوهش تاییدی بر این موضوع می‌باشد که داده‌های آنها در اینجا آورده نشده است. افزایش مقادیر کاروتنوئید کل با افزایش دمای فراصوت را می‌توان به پدیده کاویتاسیون و خروج اکسیژن از نمونه، کاهش فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز و کاهش ایزومریزاسیون (نسبت به فرایند پاستوریزاسیون) کاروتنوئیدها از فرم ترانس به فرم سیس رنگ پریده نسبت داد که باعث بهبود شاخص قرمزی آب هویج می‌شود (Rawson *et al.*, 2011b). کاهش در L-value آب‌میوه منعکس‌کننده تاریکی رنگ سطح آب‌میوه، کاهش در a-value نشان دهنده کاهش در قرمزی رنگ و کاهش در b-value نشان دهنده کاهش در زردی رنگ آب‌میوه می‌باشد. نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج Adkunte و همکاران (۲۰۱۰) روی آب‌گوجه، Tiwari و همکاران (۲۰۰۸) روی آب پرتقال، Zhou و همکاران (۲۰۰۹) روی آب‌هویج، Cheng و همکاران (۲۰۰۷) روی آب‌گاو، Gonçaves و همکاران (۲۰۱۰) روی برش‌های هویج آنزیم‌بری شده و Valero و همکاران (۲۰۰۷) روی آب‌پرتقال در اغلب موارد مطابقت داشت اگرچه در مواردی نتایج متضاد نیز مشاهده شد که می‌تواند مربوط به تغییر نوع آب‌میوه و تیمارهای متفاوت اعمال شده روی نمونه‌ها باشد.

رنگ آب‌هویج عمدتاً مخلوطی از رنگ زرد و قرمز است که به خاطر حضور رنگدانه‌های کاروتنوئیدی بویژه بتاکاروتن می‌باشد که بوسیله شرایط فرآیند تحت تاثیر قرار می‌گیرد. برخلاف لیکوپن آب‌گوجه بطور نسبی مقاوم به تجزیه حرارتی است در حالی که آنتی‌اکسیدان‌های دیگر مانند بتاکاروتن، اسید آسکوربیک و توکوفرول با سرعت بیشتر در فرآیند حرارتی تجزیه می‌شوند. تغییرات رنگی مشاهده شده در فراصوت ممکن است به دلیل کاویتاسیون باشد که واکنش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی متعددی را از جمله، تسریع واکنش‌های شیمیایی با افزایش

غیرفعال شدن معنی‌دار آنزیم‌ها ($P < 0.05$) از زمان و دمای آنزیم‌بری پیروی می‌کنند. در حالت تجاری مقادیر قابل قبول غیرفعال شدن آنزیم، کاهش ۹۰ درصد فعالیت اولیه آنزیم می‌باشد. غیرفعال شدن آنزیم پراکسیداز هویج به خاطر تیمار آنزیمی‌بری با آب از مدل سنتیک درجه اول پیروی می‌کند و در ۸۰ درجه سانتی‌گراد برای غیرفعال شدن ۹۰ درصد فعالیت آنزیم پراکسیداز ۶ دقیقه زمان صرف شد. غیرفعال شدن کامل آنزیم پراکسیداز در برش‌های هویج در ۹۰ درجه سانتی‌گراد ۱/۴ دقیقه طول کشید (Gonçaves *et al.*, 2010) در حالی که Terefe و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعات خود نشان دادند غیرفعال شدن کامل آنزیم پراکسیداز در پوره توت فرنگی در ۷۰ درجه سانتی‌گراد در مدت ۵ دقیقه عملی شد.

تاثیر تیمار فراصوت روی شاخص‌های رنگی

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نمونه‌ها فراصوت شده نشان داد دمای فراصوت سبب افزایش معنی‌دار مقادیر a-value ($P < 0.01$) و تفاوت رنگ کل نسبت به نمونه شاهد (TCD_{Blank}) ($P < 0.05$) شد، به عبارت دیگر دمای فراصوت، با افزایش مقادیر شاخص قرمزی در بین نمونه‌های فراصوت شده همراه بود در حالی که تاثیر آن روی شاخص‌های دیگر از جمله تفاوت رنگ کل، نسبت به نمونه پاستوریزه (TCD_{Pasteurized}) معنی‌دار نبود. از طرف دیگر، زمان فراصوت سبب کاهش معنی‌دار مقادیر L-value ($P < 0.01$)، a-value ($P < 0.01$) و b-value ($P < 0.01$) و TCD_{Blank} ($P < 0.05$) نمونه‌ها شد. همچنین برهم‌کنش دما و توان فراصوت روی مقادیر b-value ($P < 0.05$) نمونه‌ها اثر معنی‌دار نشان داد (شکل ۸). همان‌طور که در بالا ذکر شد، افزایش زمان فراصوت باعث تجزیه و کاهش مقادیر شاخص‌های رنگی L, a, b در بین نمونه‌های فراصوت شده و کاهش تفاوت رنگ کل، نسبت به نمونه شاهد شد. در حالی که افزایش دمای فراصوت باعث افزایش شاخص قرمزی (a-value) آب هویج شد.

شکل ۵ کاهش مقادیر a-value با زمان و شکل ۷ کاهش مقادیر b-value با زمان را نشان می‌دهد که مطابق نتایج Adkunte و همکاران (۲۰۱۰) در آب گوجه‌فرنگی، Tiwri و همکاران (۲۰۰۸) روی آب پرتقال و Goncalves و همکاران (۲۰۱۰) روی برش‌های هویج آنزیم‌بری شده بود. برعکس مقادیر a-value آب‌شاتوت فراصوت شده افزایش معنی‌داری ($P < 0.001$) با زمان تیمار نشان داد (Tiwari *et al.*, 2009). مقادیر b (زردی) نمونه‌ها به غلظت رنگدانه کاروتنوئید هویج‌ها بستگی دارد. هرچه کاروتنوئید بیشتر زردی یا مقادیر b بیشتر می‌شود (Rakcejeva *et al.*, 2012). شکل ۶ افزایش مقادیر a-value با دما را نشان می‌دهد که عکس نتایج Goncalves و همکاران (۲۰۱۰) روی برش‌های هویج آنزیم‌بری شده با حرارت و Adkunte و همکاران (۲۰۱۰) روی آب گوجه‌فرنگی فراصوت شده بود که ممکن است ناشی از کاهش فعالیت آنزیم‌ها، خروج اکسیژن، استخراج بیشتر کاروتنوئیدها و کاهش اندازه ذرات در اثر فراصوت باشد که سبب افزایش شاخص a-value نمونه‌های تیمار شده با فراصوت شد (اندازه‌گیری اندازه ذرات با پارتیکل سایز، کاهش معنی‌دار اندازه ذرات نمونه‌های فراصوت شده در مقایسه با نمونه‌های پاستوریزه و شاهد را در مطالعه حاضر نشان داد که داده‌های آنها در اینجا ذکر نشده است). در کانتور پلات^۵، برهم‌کنش دما و توان فراصوت روی مقادیر b-value (زردی) نمونه‌ها نشان داده شده است. بیشترین مقدار b-value در نقطه داغ کانتور پلات، حدود ۴۶/۱۳۱۷ بود که در دما و توان پایین فراصوت مشاهده شد.

سرعت انتشار، پخش‌شدن توده یا تجزیه ذرات حساس، همچون آنزیم‌ها و میکروارگانیسم‌ها را کنترل می‌کند. شرایط فیزیکی شدید، دمای ۵۰۰۰ درجه کلوین و فشار بالای ۵۰۰ مگاپاسکال در مقیاس میکرو موقع متلاشی شدن حباب‌ها در طول فراصوت، سبب تسریع ایزومریزاسیون کاروتنوئیدها و تجزیه رنگ می‌شود (Adekunte *et al.*, 2010; Tiwari *et al.*, 2008).

رنگ آب‌میوه یک فاکتور تاثیرگذار حسی در پذیرش توسط مصرف‌کنندگان است. تفاوت در قابلیت ادراک رنگ^۱ (تفاوت ما بین دو رنگ) می‌تواند به صورت تجزیه‌ای با استفاده از تفاوت رنگ کل (TCD) به صورت خیلی روشن^۲ ($TCD > 3$)، روشن^۳ ($1.5 < TCD < 3$) و تفاوت اندک^۴ ($TCD < 1.5$) دسته‌بندی شود. تفاوت قابل توجه ما بین دو رنگ وقتی $TCD > 2-3/5$ داشته باشند دیده می‌شود (Tiwari *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2009; Adekunte *et al.*, 2010).

شکل ۴ کاهش مقادیر L-value نمونه‌ها را با زمان فراصوت نشان می‌دهد که مطابق با نتایج گزارش شده توسط Adkunte و همکاران (۲۰۱۰) در آب گوجه‌فرنگی فراصوت شده، Goncalves و همکاران (۲۰۱۰) روی برش‌های هویج آنزیم‌بری شده با حرارت بود. ولی بر خلاف نتایج Tiwari و همکاران (۲۰۰۸) روی آب پرتقال بود که گزارش کردند افزایش سطوح دامنه و زمان فراصوت کاهش هر دو مقادیر a^* و افزایش مقادیر L^* را در آب پرتقال سبب شد. از طرف دیگر زمان فراصوت تاثیر معنی‌داری روی مقادیر L_{value} آب‌شاتوت فراصوت شده نداشت (Tiwari *et al.*, 2008). کاهش مقادیر روشنایی (L) با افزایش زمان فراصوت، ممکن است ناشی از افزایش مدت زمان در معرض قرارگیری رنگدانه‌های آب‌میوه، در مجاور حباب‌های در حال فروریختن در نیروی برشی بیشتر باشد (Rakcejeva *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2009).

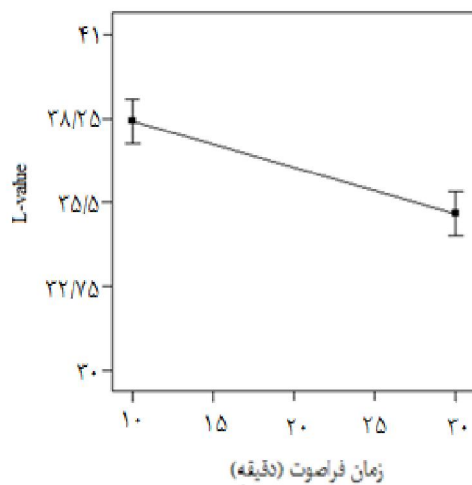
1 -Perceivable color

2 -Very distinct

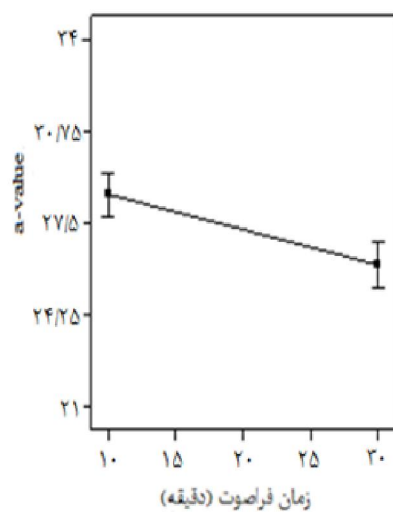
3 -Distinct

4 -Small difference

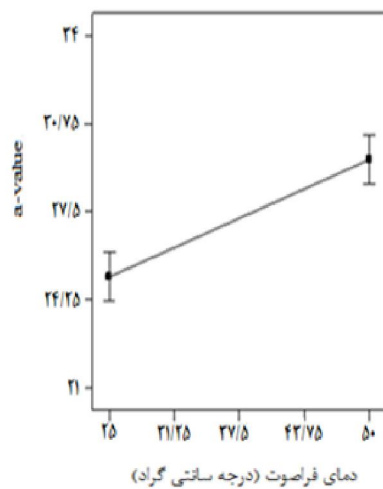
5 -Contour plot



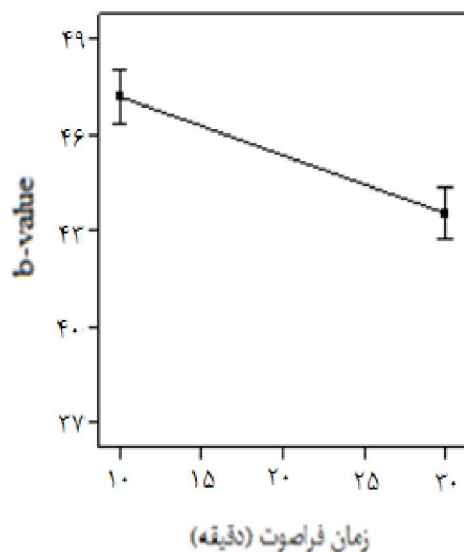
شکل ۴- تاثیر زمان فراصوت روی کاهش مقادیر L-value نمونه ها



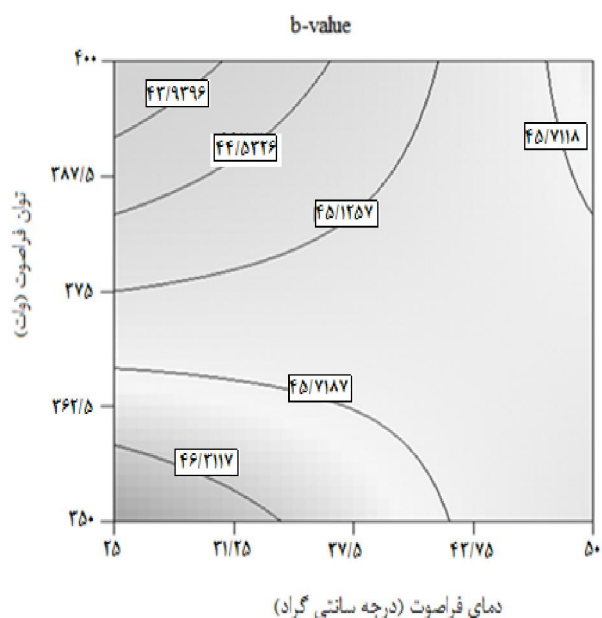
شکل ۵- تاثیر زمان فراصوت روی کاهش مقادیر a-value نمونه ها



شکل ۶- تاثیر دمای فراصوت روی افزایش مقادیر a-value نمونه ها



شکل ۷- تأثیر زمان فراصوت روی کاهش مقادیر b-value نمونه‌ها



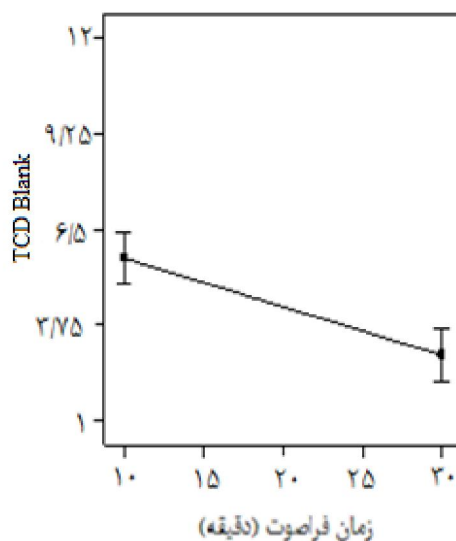
شکل ۸- کانتور پلات نشان دهنده برهم‌کنش دما و توان فراصوت روی مقادیر b-value نمونه‌ها

Adekunte و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت داشت که گزارش کرده بودند فرآیند فراصوت سبب کاهش شاخص‌های رنگی (L, a, b) آب گوجه و افزایش تفاوت رنگ کل (TCD) آن می‌شود. بطور مشابه تفاوت‌های معنی‌داری در قابلیت ادراک رنگ در طول فراصوت آب پرتقال توسط Tiwari و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده است. تفاوت رنگ کل آب

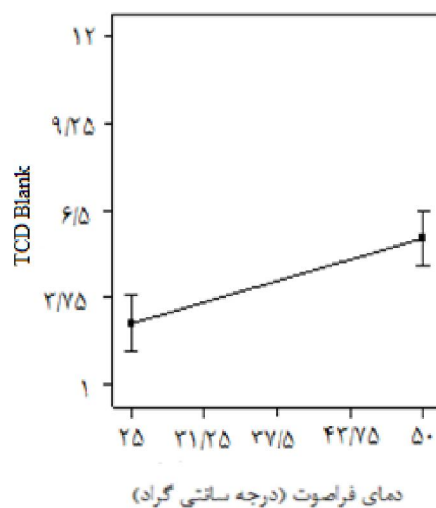
شکل ۹ کاهش مقادیر تفاوت رنگ کل، نسبت به شاهد (TCD_{Blank}) نمونه‌ها را با افزایش زمان فراصوت نشان می‌دهد در حالی که با افزایش دمای فراصوت مقادیر تفاوت رنگ کل نسبت به شاهد (TCD_{Blank}) افزایش پیدا کرد (شکل ۱۰). دلیل اصلی آن افزایش شاخص قرمزی نمونه‌ها با افزایش دما می‌باشد که در بالا دلایل آن ذکر شد. نتایج این پژوهش با نتایج

(ظاهری) در نتیجه حرارت دادن آب هویچ‌ها بوده است. حدس زده می‌شود که زمان تیمار بیشتر با دی‌اکسیدکربن با فشار بالا (HPCD) تفاوت رنگ مرئی (ظاهری) آب‌میوه را هدایت می‌کند.

شاتوت فراصوت شده بطور معنی‌داری تحت تاثیر زمان فراصوت قرارگرفت (Tiwari *et al.*, 2009). گزارش‌های Zhou و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد، مقادیر ΔE (TCD) همه آب هویچ‌های حرارت دیده بیشتر از ۲ بود که نشان دهنده تفاوت رنگ مرئی



شکل ۹- تاثیر زمان فراصوت روی کاهش مقادیر TCD Blank نمونه‌ها



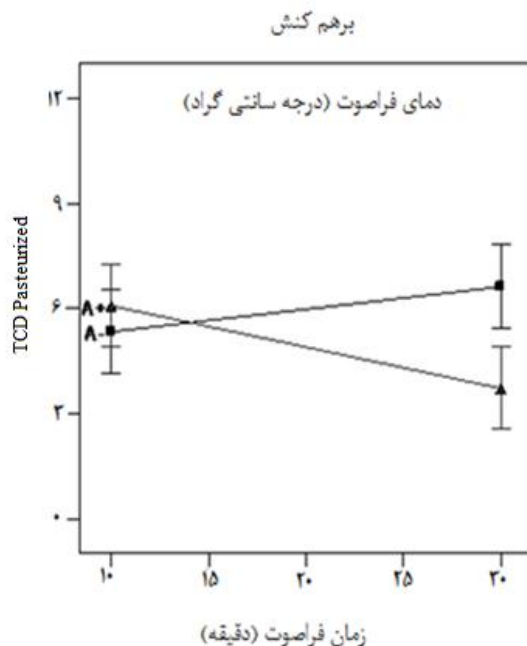
شکل ۱۰- تاثیر دمای فراصوت روی افزایش مقادیر TCD Blank نمونه‌ها

می‌شود در دماهای پایین با افزایش زمان فراصوت TCD نسبت به نمونه پاستوریزه افزایش یافت در حالی که در سطوح بالای دما با افزایش زمان فراصوت

در شکل ۱۱ برهم‌کنش دما و زمان روی تفاوت رنگ کل نسبت به نمونه‌ها پاستوریزه (TCD Pasteurized) نشان داده شده است. همان طور که در شکل مشاهده

بودند، TCD پایین‌تری نسبت به نمونه پاستوریزه نشان دادند که با نتایج Adkunte و همکاران (۲۰۱۰) روی آب گوجه فراصوت شده و Tiwari و همکاران (۲۰۰۸) روی آب پرتقال فراصوت شده مطابقت داشت.

TCD نسبت به نمونه پاستوریزه کاهش یافت. در زمان‌های پایین تیمار فراصوت، تاثیر دمای فراصوت بر روی TCD نسبت به نمونه پاستوریزه معنی‌دار نمی‌باشد. در حالی که در سطوح بالای زمان فراصوت، نمونه‌هایی که در دمای بالاتری فراصوت شده



شکل ۱۱- نمودار برهم‌کنش نشان‌دهنده اثر متقابل دما و زمان روی تفاوت رنگ کل نسبت به نمونه پاستوریزه، A⁺ نشان‌دهنده سطح بالای دما (۵۰ درجه سانتی‌گراد) و A⁻ نشان‌دهنده سطح پایین دما (۲۵ درجه سانتی‌گراد) می‌باشد.

بصری، ترکیبی از مقادیر L , a , b باید در نظر گرفته شود. بنابراین مقادیر هانتر a^* و b^* یا a با ترکیبی از a^* و b^* باید پارامترهای فیزیکی قابل ملاحظه در تجزیه رنگ ظاهری باشد. گزارش شده که هر تغییری در مقادیر هانتر a و b همراه با تغییر هم‌زمان در مقادیر L است. ترکیبات مختلفی همچون L^* , a^* , b^* , ΔE , CI , Lab , L^*b^*/a^* , L/a , b , La/b , شده از مقادیر L^* , a^* , b^* برای نشان دادن تغییر در رنگ ظاهری پوره سرد شده، پوره گوجه، آب توت‌فرنگی و آب توت‌فرنگی ازونه شده، آب گوجه با پوره فرآیند شده بصورت حرارتی استفاده شده است (Adekunte et al., 2010; Tiwari et al., 2008).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد، تیمار فراصوت می‌تواند تکنولوژی مفیدی جهت بدست آوردن آب

مقادیر روشنایی (L^*)، قرمزی (a^*)، زردی (b^*)، تفاوت رنگ کل ΔE ، هیو^۱ و کروما^۲ بوسیله سه فاکتور دما، زمان و توان فراصوت به تنهایی یا بصورت متقابل در آب هویج تحت تاثیر قرار گرفت. تغییرات رنگی مشاهده شده در فراصوت ممکن به دلیل کاویتاسیون باشد که واکنش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی متعدد را از جمله تسریع واکنش‌های شیمیایی با افزایش نرخ دیفوزیون، پخش شدن توده یا تجزیه ذرات حساس هم چون آنزیم‌ها و میکروارگانیسم‌ها را کنترل می‌کند (Adekunte et al., 2010).

گزارشاتی از تاثیر معنی‌داری فراصوت روی غلظت رنگدانه‌های کاروتنوئیدی منتشر شده است. عمده رنگ آب‌هویج مخلوطی از زرد و قرمز است که عمدتاً مربوط به بتاکاروتن است. جهت توصیف تجزیه رنگ

1 -Hue
2 -Chroma

نمونه‌های پاستوریزه و شاهد بهبود بخشید و تفاوت رنگ کل نمونه‌های فراصوت شده نسبت به شاهد با افزایش دما افزایش یافت. به منظور حفظ کیفیت آب‌هویج فرآیند شده با فراصوت از روش‌های تکمیلی مانند حذف اکسیژن، نگهداری در دمای پایین و از بازدارنده‌های طبیعی آنزیم باید استفاده شود.

هویجی با فعالیت آنزیمی پایین بدون استفاده از حرارت‌های بالا باشد به طوری که در نمونه‌های فراصوت شده در مقایسه با نمونه‌های تیمار نشده در بعضی موارد تا ۷۸-۵۰ درصد کاهش فعالیت آنزیم مشاهده شد. همچنین تیمار فراصوت شاخص‌های رنگی آب هویج، بویژه شاخص a-value را نسبت به

منابع

۱. مهماندوست، ن. کدخدایی، ر. و حامد موسویان، م. ۱۳۹۰. بررسی تاثیر هم‌زمان امواج فراصوت و حرارت بر غیرفعال سازی آنزیم پکتین متیل استراز آب پرتقال. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۸، شماره ۲۹: ۱۱۱-۱۰۱.
2. Adekunle, A., Tiwari, B.K., Cullen, P.J., Scannell, A.G.M. & O'Donnell, C.P. 2010. Effect of sonication on color ascorbic acid and yeast inactivation tomato juice. *Journal of Food Chemistry*, 122: 500-507.
3. Alothman, M., Bhat, R. & Karim, A.A. 2009. UV radiation-induced changes antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Journal of Innovation Food Science and Emerging Technology*, 10: 512-516.
4. Cheng, L.H., Soh, C.Y., Liew, S.C. & Teh, F.F. 2007. Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. *Journal of Food Chemistry*, 104: 1396-1401.
5. Cruz, R.M.S., Vieira, M. & Silva, C.L.M. 2006. Effect of heat and thermosonication treatment on peroxidase inactivation kinetics in watercress (*Nasturtium officinale*). *Journal of Food Engineering*, 72: 8-15.
6. Cruz, R.M.S., Vieira, M. & Silva, C.L.M. 2007. Modeling kinetics of watercress (*Nasturtium officinale*) color changes due to heat and thermosonication treatments. *Journal of Innovative Food Science Emerging Technologies*, 8: 244-252.
7. Ercan, S. & Soysal, G. 2011. Effect of ultrasound and temperature on tomato peroxides. *Journal of ultrasound sonochemistry*, 18: 689-695.
8. Gonçalves, E.M., Pinheiro, J., Abreu, M., Brandão, T.R.S., & Silva, C.L.M. 2010. Carrot (*Daucus carota* L.) peroxidase inactivation, phenolic content and physical changes kinetics due to blanching. *Journal of Food Engineering*, 97: 574-581.
9. Harshul, M.V. 2001. Quality optimization of carrot juice. PhD. thesis, Victoria University of Technology Melbourne. Victoria, Australia, 2: 25.
10. Hsieh, C.W. & Ko, W.C. 2008. Effect of high-voltage electrostatic field on quality of carrot juice during refrigeration. *LTW - Food Science and Technology*, 41: 1752-1757.
11. Rakcejeva, T., Augspole, I., Dukalska, L. & Dimins, F. 2012. Chemical composition of variety *Nante* hybrid carrot cultivated in Latvia. *Word Academy of Science, Engineering and Technology*, 64: 1120-1125.
12. Rawson, A., Tiwari, B.K., Patras, A., Brunton, N., Brennan, C., Cullen, P.J. & O'Donnell, C. 2011a. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. *Journal of Food Research International*, 44: 1168-1173.
13. Rawson, A., Tiwari, B.K., Tuohy, M.G., O'Donnell, C.P. & Brunton, N. 2011b. Effect of ultrasound and blanching pretreatments on polyacetylene and carotenoid content of hot air and freeze dried carrot discs. *Journal of Ultrasonic Sonochemistry*, 18: 1172-1179.
14. Terefe, N.S., Yang, Y.H., Knoerzer, K., Buckow, R. & Versteeg, C. 2010. High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. *Journal of Innovation Food Science and Emerging Technology*, 11: 52-60.

15. Tiwari, B.K., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C.P. & Cullen, P.J. 2008. Color degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology. *LWT- Food Science and Technology*, 41: 1876-1883.
16. Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P. & Cullen, P.J. 2009. Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. *Journal of Food Engineering*, 93: 166-171.
17. Tiwari, B.K., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P.J. & O'Donnell, C.P. 2010. Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Journal of Ultrasound Sonochemistry*, 17: 598-604.
18. Valero, M., Recrosiono, N., Saura, M.N, Martin, N. & Lizama, V. 2007. Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering*, 80: 509-516.
19. Vercet, A., Sanchez, V., Burgos, J., Montanes, L. & Buesa P.L. 2002. The effect of manothermosonication on tomato pecticenzymes and tomato paste rheological properties. *Journal of Food Engineering*, 53: 273-278.
20. Wu, J., Gamage, T.V., Vilku, K.S., Simons, L.K. & Mawson, E. 2008. Effect of thermosonocation on quality improvement of tomato juice. *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technology*, 9: 186-195.
21. Zhou, I., Wang, W., Hu, X., Wu, J., & Liao, X. 2009. Effect of high pressure carbon dioxide on the quality of carrot juice. *Journal of Innovation Food Science and Emerging Technology*, 10 (3): 321-327.

Effect of thermosonication on peroxides enzyme activity and color parameters of carrot juice

Ali Ayaseh¹, Mohammad Alizadeh^{2*}, Mohsen Esmaili², Abbas Mehrdad³, Yousef Javadzadeh⁴

1. PhD. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia Iran
2. Associated Proessor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran
3. Associated Professor, Department of Physical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Tabriz, Tabriz, Iran
4. Associated Professor, Department of Industrial Pharmacy, Faculty of Pharmacy, University of Medical science of Tabriz, Tabriz, Iran

*Corresponding author: (m.alizadeh@mail.urmia.ac.ir)

Abstract

In this study carrot juice samples were sonicated according to a D-optimal design response surface with different treatment of sonication temperature (25, 37.5 and 50°C), sonication time (10, 20 and 30 min) and sonication power (350, 400w) at a constant frequency of 24 kHz. The results showed that ultrasound temperature ($P<0.01$), time ($P<0.01$) and interaction between time and temperature ($P<0.01$) significantly decreased the peroxidase enzyme activity of carrot juice samples and a prediction model obtained with high coefficients determination ($R^2=98\%$). Enzyme activity thermal treated juice processed at 90-88°C for 4 min was undetectable. Ultrasound time significantly decreased the L-value, a-value, b-value, and TCD_{Blank} ($P<0.05$) of carrot juice samples. Whereas ultrasound temperature significantly increased the a-value ($P<0.01$) and TCD_{Blank} ($P<0.05$) samples. The obtained results showed that, ultrasound treatment significantly decreased peroxidase enzyme activity due to cavitation effects and reduced color parameters degradation specially a-value of carrot juice. Thus in order to maintain the quality of processed carrot juice; ultrasound processing could be accompanied by additional measures such as exclusion of oxygen, refrigerated storage and the use of natural enzyme inhibitors.

Keywords: Carrot juice, Color parameters, Peroxidase, Sonication