مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال دوازدهم، شماره 1، بهار 1396، صفحات 108-99

بهینه‌سازی غیرفعال‌سازی غیرحرارتی آنزیم پراکسیداز کرفس با استفاده از روش سطح پاسخ

امیر دارائی گرمه خانی[1]، نرجس آقاجانی[2]، اشرف گوهری اردبیلی[3]

1- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده فنی تویسرکان، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

2- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی بهار، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

3- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی بهار، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران. پست الکترونیکی: aagohari@yahoo.com

تاریخ دریافت: 94/12/12 تاریخ پذیرش: 95/5/4

چکیده

سابقه و هدف: آنزیم پراکسیداز یکی از آنزیم‌های مهم در بافت‌های گیاهی است که با پراکسید هیدروژن (آب اکسیژنه) ترکیب و تولید کمپلکس فعالی می‌نماید که قادر به انجام واکنش با بسیاری از مولکول‌های دهنده الکترون می‌باشد. بنابراین غیرفعال‌سازی آن می‌تواند زمان ماندگاری سبزیجات خام و بلانچ نشده (Non-blanched) منجمد را افزایش دهد. جهت غیرفعال‌سازی آنزیم پراکسیداز از روش‌های مختلفی نظیر حرارت‌دهی، کاهش pH یا فعالیت آبی (a_w) و یا افزودنی‌های شیمیایی (دی‌اکسید گوگرد) استفاده می‌شود که این روش‌ها دارای محدودیت‌های مخصوص به خود می‌باشند. با توجه به تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از محصولات غذایی با حداقل فرآوری، تولیدکننده‌ها به دنبال روش‌های جایگزین برای افزایش عمر نگهداری محصولات هستند.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق اثر غلظت‌های مختلف (50، 125، 200 ppm) اسانس‌های طبیعی (گلپر، آویشن و میخک) بر غیرفعال سازی آنزیم پراکسیداز موجود در کرفس بررسی و با روش سطح پاسخ بهینه‌سازی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اسانس‌های گیاهی فعالیت آنزیم پراکسیداز کرفس را کاهش داد. شرایط بهینه برای غیرفعال سازی غیرحرارتی آنزیم پراکسیداز کرفس تحت تأثیر اسانس‌های مورد استفاده در این مطالعه شامل: غلظت اسانس گلپر 50 ppm، زمان فعالیت آنزیم 60 ثانیه و فعالیت آنزیم پراکسیداز (جذب) 0/467599، غلظت اسانس آویشن 50 ppm، زمان فعالیت آنزیم 60 ثانیه و فعالیت آنزیم پراکسیداز (جذب) 0/0523847 و غلظت اسانس میخک 50 ppm، زمان فعالیت آنزیم 60 ثانیه و فعالیت آنزیم پراکسیداز (جذب) 0/120615 بود.

نتیجه‌گیری: این پژوهش نشان داد که اسانس‌های گیاهی قابلیت مهار و غیرفعال سازی آنزیم پراکسیداز را دارا می‌باشند و میزان فعالیت آنزیم در برابر اسانس آویشن کمتر بوده است.

واژگان کلیدی: اسانس، آنتی‌اکسیدان، فعالیت آنزیم پراکسیداز، بهینه‌سازی، روش‌شناسی سطح پاسخ

• مقدمه

رشد روزافزون جمعیت در دهه‌های اخیر و استفاده بی‌رویه از منابع طبیعی باعث افزایش سیر تخریبی این منابع محدود شده است. تغذیه سالم این جمعیت بدون تخریب بیشتر محیط، نیازمند افزایش تولید مواد غذایی، جلوگیری از ضایعات قبل و پس از برداشت، کاهش کاربرد مواد شیمیایی جهت حفظ و نگهداری و سرانجام مصرف بجا و به موقع فرآورده‌های کشاورزی است. به طور کلی بیشتر میوه‌ها و سبزیجات به علت داشتن آب زیاد فسادپذیر هستند و پس از برداشت باید بلافاصله مصرف و یا به روش‌های خاصی نگهداری شوند (1).

بروز ضایعات در محصولات باغی و زراعی یکی از مسائل مهم کشاورزی است که این امر ناشی از حمله قارچ‌ها و آفات بوده و همه‌ساله خسارت زیادی را متوجه کشور می‌نماید. این موضوع علاوه بر از دست رفتن بخشی از محصولات کشاورزی، به علت تولید سموم قارچی، مصرف قارچ کش‌ها و آفت‌کش‌های شیمیایی جهت از بین بردن این‌گونه آفات سبب به خطر افتادن سلامت جامعه نیز می‌گردد. امروزه آثار سوءمصرف قارچ کش‌ها و سموم شیمیایی نیز بر همه ثابت شده و اکثر قریب به اتفاق کشورهای دنیا به تولید محصولات ارگانیک یا محصولات عاری از باقیمانده‌های آلاینده مضر مانند

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

سموم، حشره‌کش‌ها، قارچ کش‌های مضر و شیمیایی و هر نوع آلودگی که برای مصرف‌کنندگان و محیط‌زیست زیان‌آور باشند روی آورده‌اند (2). ذکر این نکته نیز ضروری است که سالانه مقادیر زیادی ارز برای خرید سموم و قارچ کش‌های شیمیایی از کشور خارج می‌گردد. به علاوه به مرور زمان میکروارگانیسم‌ها و حشرات در مقابل این سموم مقاوم شده و هر روز نیازمند به فرمولاسیون جدید برای نابودی آن‌ها می‌باشد. هرچند عدم استفاده از این مواد نیز موجب بروز ضایعات بسیار زیاد محصولات کشاورزی و مواد غذایی بر اثر حمله آفات می‌گردد (3). پژوهش حاضر تلاشی است که با هدف استفاده از مواد طبیعی و غیر مضر (نظیر اسانس‌های طبیعی که مواد اولیه آن‌ها در داخل کشور به فراوانی تولید شده و به سادگی قابل استحصال می‌باشند)، جهت جایگزینی و حذف سموم و قارچ کش‌های شیمیایی وارداتی (مورد استفاده در کنترل رشد قارچ‌های تولیدکننده سموم خطرناک و کاهش ضایعات سردخانه‌ای محصولات کشاورزی) انجام می‌شود. لذا با عنایت به محدودیت‌های روزافزون استفاده از مواد شیمیایی ضد میکروبی ناشی از گسترش مقاومت دارویی به نظر می‌رسد اسانس‌های فرار منابع ضد میکروبی بهتری در حفظ مواد خوراکی و کنترل بیماری‌های انسانی باشند (4). به علاوه تمایل به استفاده از ترکیبات طبیعی برای جلوگیری از رشد میکروبی در اثر فشار مصرف‌کننده برای کاهش یا عدم استفاده از افزودنی‌های شیمیایی در میوه و سبزی‌ها در حال افزایش است (5).

اسانس‌ها ترکیبات طبیعی، بی‌رنگ و پیچیده‌ای از الکل، آلدئید، استر و ... هستند که دارای بوی مخصوص به خود بوده و در ترکیبات مصنوعی قابل‌دسترس نبوده و در سلامت انسان نقش حائز اهمیت دارند. این ترکیبات وزن مولکولی کمتر از آب داشته و در سطح آب می مانند، فرار بوده و از آن به عنوان بخور (اسانس اکالیپتوس)، طعم‌دهنده غذا، آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی استفاده‌های زیادی می‌گردد (6).

در بررسی Daferera و همکاران (2000) روی اثر بازدارندگی اسانس‌ها و ترکیبات مختلف از جمله اسانس مرزنجوش، آویشن و دیکتاموس و کارواکرول، تیمول و آلفاترپینول روی کپک پنی سیلیوم دیجیتاتوم مشخص شد که تمام این اسانس‌ها در غلظت 250 پی پی ام تولید اسپور را به طور کامل مهار نمودند (7). از دست رفتن انتقال الکترون و نفوذپذیری در سطح غشاء سیتوپلاسمی میکروارگانیسم‌ها دلیل خاصیت ضد میکروبی آویشن توسط برخی محققین عنوان گردید (9-8). اسانس آویشن هم با تغییر در نفوذپذیری غشاء میکروارگانیسم‌ها سبب کمبود پرتون، فسفات و پتاسیم داخلی سلول می‌گردد (10). کارواکرل یک ترکیب ترپنی بوده و در اسانس گیاهان آویشن و میخک و زنیان یافت می‌گردد که سبب حذف ATP داخل سلول باکتری به سبب کاهش سنتز یا هیدرولیز بدون تغییر در نفوذپذیری غشاء نسبت به ورود ATP می‌گردد (11). آنزیم پراکسیداز یک آنزیم آهن دار بوده و شمار زیادی از واکنش‌ها را کاتالیز می‌کند که در آن پراکسید هیدروژن با دادن الکترون نقش احیاء کننده را ایفا کرده و ارتباط تجربی آن با کاهش طعم و رنگ در مواد خام مورد فرض است (12). آنتی‌اکسیدان‌ها مدت نگهداری محصولات را افزایش داده و پایداری چربی و محصولات دارای چربی را بهبود می‌بخشند و باعث جلوگیری از افت کیفیت تغذیه‌ای و طعمی می‌شوند. فعالیت آنزیم پراکسیداز در عصاره تعداد زیادی از سبزیجات مورد مطالعه قرار گرفته است (13). به جرأت می‌توان گفت گیاهان دارویی که مقدار پلی‌فنل‌های آن‌ها بالاتر است دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری هستند. خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی مختلف با توجه به مواد مؤثر آن متفاوت بوده که این اختلاف در مواد مؤثر یک اسانس گیاهی خاص نیز به وضوح قابل مشاهده است. همدا و کلین (1990) عنوان نمودند اختلاف در رفتار آنزیم پراکسیداز بر ضد مواد آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به حضور ایزو آنزیم‌ها نسبت داده شود (14). هدف از انجام این پژوهش بررسی توانایی اسانس‌های گیاهی (میخک، گلپر و آویشن) در غیرفعال سازی آنزیم پراکسیداز کرفس است تا بدین وسیله بتوان از یک منبع طبیعی در جهت افزایش مدت ماندگاری میوه‌ها و سبزیجات استفاده نمود. با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی این پژوهش می‌تواند تلاشی در آزمایش تأثیر این مواد در کاهش فعالیت آنزیم‌های مؤثر در قهوه‌ای شدن آنزیمی (پراکسیداز) و در نتیجه امکان حفظ رنگ و طعم میوه‌ها و سبزیجات خوراکی از طریق غیرفعال سازی این آنزیم به عنوان پیش‌نیاز فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز باشد.

• مواد و روش‌ها

آماده‌سازی مواد اولیه: در این تحقیق کرفس Celery (Apium graveolens) که فعالیت آنزیم پراکسیداز بالایی دارد به عنوان منبع آنزیمی انتخاب و از بازار تره‌بار شهرستان همدان (ایران) خریداری شد. سپس از برگ کرفس جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز استفاده شد. همچنین اسانس‌های میخک Cloves (Syzygium aromaticum L.)، گلپر Heracleum persicum، آویشن باغی Thymus vulgaris L

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

به عنوان منابع آنتی‌اکسیدان طبیعی از شرکت باریج اسانس تهیه و با استفاده از توین 80 (مرک، آلمان) در غلظت‌های 50، 125، 200 ppm (براساس آزمون و خطا جهت دستیابی به محدوده غلظت مؤثر بر غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها) تهیه و تأثیر آن‌ها بر فعالیت آنزیم پراکسیداز موجود در کرفس آزمایش شدند.

به منظور بررسی اثر اسانس‌های مورد استفاده در غلظت‌های به کار رفته، فعالیت آنزیم پراکسیداز در 25 درجه سانتی‌گراد و با اسپکتروفتومتر در 470 نانومتر با استفاده از گایاکول (مرک) به عنوان سوبسترا و پراکسید هیدروژن (مرک) به عنوان دهنده هیدروژن اندازه‌گیری شد (14).

تهیه عصاره آنزیمی: برای این منظور 10 گرم از برگ‌های سبزی کرفس را توزین و ضمن افزودن 30 میلی‌لیتر آب مقطر (4 درجه سانتی‌گراد) خرد گردید و به مدت 15 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ (10000 دور در دقیقه) شد و مایع رویی که حاوی آنزیم پراکسیداز می‌باشد به عنوان عصاره آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت (13).

آماده‌سازی سوبسترا: مخلوط سوبسترا شامل مخلوط 10 میلی‌لیتر گایاکول 1%، 10 میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن 3% و 100 میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم بود که pH مخلوط واکنش روی 6/5 تنظیم شد (14).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز 2/87 میلی‌لیتر مخلوط سوبسترا، 0/1 میلی‌لیتر عصاره خام و 0/03 میلی‌لیتر آب مقطر که جمعاً 3 میلی‌لیتر بود به درون سل دستگاه اسپکتروفتومتر منتقل و جذب نمونه‌ها به صورت سینتیکی در طول موج 470 نانومتر قرائت شد.

غیرفعال سازی غیرحرارتی آنزیم پراکسیداز: جهت بررسی اثر اسانس‌های گیاهی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز، 10 گرم از سبزی مورد نظر را در محلول تهیه‌شده از غلظت‌های مختلف (50، 125 و 200 ppm) هر یک از اسانس‌های گیاهی مورد نظر به مدت 1 دقیقه غوطه‌ور و پس از یک ساعت فعالیت آنزیم پراکسیداز نمونه‌ها به صورت سینتیکی در طول موج 470 نانومتر قرائت شد.

آزمایشات بهینه‌سازی: به منظور بهینه‌سازی فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر اسانس‌های گیاهی، از روش سطح پاسخ استفاده گردید. به این منظور طرح مرکب مرکزی با 3 سطح و 5 تکرار در نقطه مرکزی برای غیرفعال سازی غیرحرارتی مورد استفاده قرار گرفت (1+، 0، 1-). در غیرفعال سازی غیرحرارتی محدوده‌ی متغیرهای مستقل زمان فعالیت آنزیمی (X_1)، غلظت اسانس‌های مورد استفاده (X_2) از آزمون‌های اولیه استنتاج گردید. تیمارهای آزمایشی به منظور به حداقل رساندن اثرات تغییرات پیش‌بینی‌نشده در پاسخ‌های مشاهده‌شده به صورت تصادفی درآمدند. مدل‌های رگرسیونی چندجمله‌ای درجه‌ی اول و درجه دوم به منظور پیش‌بینی پاسخ، در نظر گرفته شد. مدل پیشنهادی برای پاسخ به صورت معادله زیر است.

رابطه 1

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

که Y متغیر وابسته (فعالیت آنزیم پراکسیداز که به صورت جذب اسپکتروفتومتر) می‌باشد، β_0 ثابت بوده و β_i و β_{ii} و β_{ij} ثابت‌های برآورد شده توسط مدل هستند. x_i و x_j سطح متغیرهای مستقل هستند و آن‌ها به ترتیب نمایانگر اثرات خطی، درجه‌ی دوم و متقاطع متغیرهای X_1 و X_2 روی پاسخ می‌باشند. مدل، اثر هر متغیر را روی پاسخ ارزیابی می‌نماید (15). کلیه تیمارها در بهینه‌سازی در 2 تکرار صورت پذیرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری: این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی و با استفاده از نرم افزار آماری SAS (2001) انجام شد. جهت مقایسه میانگین ها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح 5% استفاده شد. بهینه‌سازی داده‌ها به روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی (CCD) با استفاده از نرم‌افزار Design Expert (2000) انجام گرفت و رسم نمودارهای سه‌بعدی و به دست آوردن معادلات ریاضی توسط نرم‌افزار Design Expert (6.0.2) صورت پذیرفت.

• یافته‌ها

تأثیر غوطه‌وری در اسانس‌های مختلف بر فعالیت آنزیم پراکسیداز سبزی کرفس: نتایج مربوط به تأثیر اسانس‌های مختلف و غلظت‌های مختلف آن‌ها بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در عصاره خام کرفس در جدول 1 ارائه شده است. همان طور که مشاهده می‌شود مقاومت آنزیم پراکسیداز به اسانس‌های (آنتی‌اکسیدانهای) مختلف متفاوت است. همان طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود هر سه اسانس آویشن، گلپر و میخک در تمامی غلظت‌های مورد استفاده در کرفس تأثیر مثبت داشته و باعث کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز کرفس گردید و بیش‌ترین اثر بازدارندگی آنزیم پراکسیداز در غلظت-های بالای اسانس گلپر مشاهده شد. در غلظت‌های پایین‌تر اسانس‌های مورد استفاده، اسانس آویشن تأثیر بالاتری در کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز کرفس داشت.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

جدول 1. تأثیر غوطه‌وری در اسانس‌های مختلف بر فعالیت آنزیم (واحد فعالیت/دقیقه/ وزن سبزی برحسب گرم) پراکسیداز و درصد کاهش نسبی فعالیت آنزیم پراکسیداز در کرفس

اسانس	غلظت	50 (ppm)			75 (ppm)			125 (ppm)			200 (ppm)		
		آویشن	میخک	گلپر	آویشن	میخک	گلپر	آویشن	میخک	گلپر	آویشن	میخک	گلپر
عصاره کرفس	900[a]	476/25 [cd]	573/75[b]	527/5[bc]	475[cd]	537/5[b]	477/5[cd]	377/5[e]	590[b]	343/75[e]	506/75[c]	465[d]	298/75[f]
عصاره کرفس	-	47/08[cd]	36/25[b]	41/38[bc]	47/22[cd]	40/27[b]	46/94[cd]	58/11[e]	34/44[b]	61/80[e]	43/47[c]	49/33[d]	66/80[f]

* در هر ردیف اعداد دارای حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p>0/05).

بهینه‌سازی اثر متغیرهای مستقل بر غیرفعال سازی آنزیم پراکسیداز در کرفس

مدل‌سازی غیرفعال سازی غیرحرارتی آنزیم پراکسیداز: تجزیه و تحلیل رگرسیونی و آنالیز واریانس (ANOVA) داده‌های آزمایشی مربوط به فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر اسانس‌های گیاهی به منظور انطباق مدل ریاضی و تعیین ضرایب رگرسیونی و معنی‌داری ضرایب به ترتیب در جداول 2 و 3 آورده شده است. ضرایب رگرسیون چندگانه از طریق روش حداقل مربعات به منظور پیش‌بینی مدل چندجمله‌ای درجه دوم برای متغیر پاسخ ایجاد شد و با توجه به معنی‌داری ضرایب (جدول 3)، معادلات پیشنهادی زیر برای فعالیت آنزیم پراکسیداز کرفس تحت تأثیر اسانس‌های گیاهی (Y) ارائه گردید:

Y=1/05 – 0/066 زمان فعالیت آنزیمی x غلظت اسانس گلپر + 0/54 زمان فعالیت آنزیمی - 0/15

Y= 0/42 + 0/25 زمان فعالیت آنزیمی x غلظت اسانس آویشن + 0/29 زمان فعالیت آنزیمی + 0/19

Y= 0/22 - 0/020 زمان فعالیت آنزیمی + 0/12 غلظت اسانس میخک

جدول 2. جدول تجزیه واریانس (ANOVA) مدل‌های (درجه اول و دوم) حاصل از طرح سطح پاسخ برای فعالیت آنزیم پراکسیداز کرفس تحت تأثیر اسانس‌های گیاهی

اسانس	منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مقدار F	P
گلپر	مدل	5	1/88	0/38	152/62	<0/0001
اویشن		3	1/04	0/35	297/77	<0/0001
میخک		2	0/088	0/044	149/02	<0/0001
گلپر	غلظت اسانس	1	0/026	0/026	10/54	0/0141
اویشن		1	0/39	0/39	330/75	<0/0001
میخک		1	0/00244	0/00244	8/30	0/0164
گلپر	زمان فعالیت آنزیمی	1	1/78	1/78	721/72	<0/0001
اویشن		1	0/52	0/52	445/29	<0/0001
میخک		1	0/085	0/085	289/74	<0/0001
گلپر	غلظت اسانس x غلظت اسانس	1	0/000733	0/000733	0/30	0/6025
اویشن		-	-	-	-	-
میخک		-	-	-	-	-
گلپر	زمان فعالیت آنزیمی x زمان فعالیت آنزیمی	1	0/065	0/065	26/29	0/0014
اویشن		-	-	-	-	-
میخک		-	-	-	-	-
گلپر	غلظت x زمان فعالیت آنزیمی	1	0/005476	0/005476	2/22	0/1798
اویشن		1	0/14	0/14	117/28	<0/0001
میخک		-	-	-	-	-
گلپر	باقیمانده	7	0/017	0/002466	-	-
اویشن		9	0/011	0/0012	-	-
میخک		10	0/00294	0/0003	-	-
گلپر	فقدان برازش	3	0/011	0/003555	2/15	0/2361
اویشن		5	0/010	0/0021	322/45	0/0001
میخک		6	0/00291	0/000485	56/99	0/0008
گلپر	خطای خالص	4	0/0066	0/00165	-	-
اویشن		4	0/000026	0/0000065	-	-
میخک		4	0/000034	0/0000085	-	-
گلپر	کل	12	1/90	-	-	-
اویشن		12	1/05	-	-	-
میخک		12	0/091	-	-	-

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

جدول 3. ضرایب رگرسیونی مدل برآورد شده از طریق تجزیه و تحلیل رگرسیون چندگانه جهت پیش‌بینی معادله مدل متغیرهای مستقل در ارزیابی فعالیت آنزیم پراکسیداز کرفس تحت تأثیر اسانس‌های گیاهی

اسانس	ضریب	متغیر مدل
گلپر	ثابت	1/05**
آویشن		0/42**
میخک		0/22**
گلپر	غلظت اسانس	-0/066*
آویشن		0/25**
میخک		-0/020*
گلپر	زمان فعالیت آنزیمی	0/54**
آویشن		0/29**
میخک		0/12**
گلپر	غلظت x غلظت	0/016ns
آویشن		-
میخک		-
گلپر	زمان فعالیت آنزیمی x زمان فعالیت آنزیمی	-0/15**
آویشن		-
میخک		-
گلپر	غلظت x زمان فعالیت آنزیمی	0/037ns
آویشن		0/19**
میخک		-

** معنی‌داری در سطح 1 درصد * معنی‌داری در سطح 5 درصد ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار

جهت تعیین شرایط بهینه‌ی هر متغیر در حصول پایین‌ترین فعالیت آنزیمی، نمودارهای سه‌بعدی سطحی و کانتور (Contour plot) برای متغیرها در شکل 1 ترسیم شده است.

همان طور که در شکل 1 الف مشخص است با افزایش زمان فعالیت آنزیمی، فعالیت آنزیم پراکسیداز در یک غلظت ثابت از اسانس گلپر، افزایش می‌یابد به گونه‌ای که در بالاترین زمان فعالیت آنزیمی انتخاب شده بیش‌ترین فعالیت آنزیمی (جذب) مشاهده می‌گردد. با افزایش زمان فعالیت آنزیمی از شدت و نرخ فعالیت آنزیمی (جذب) کاسته می‌شود.

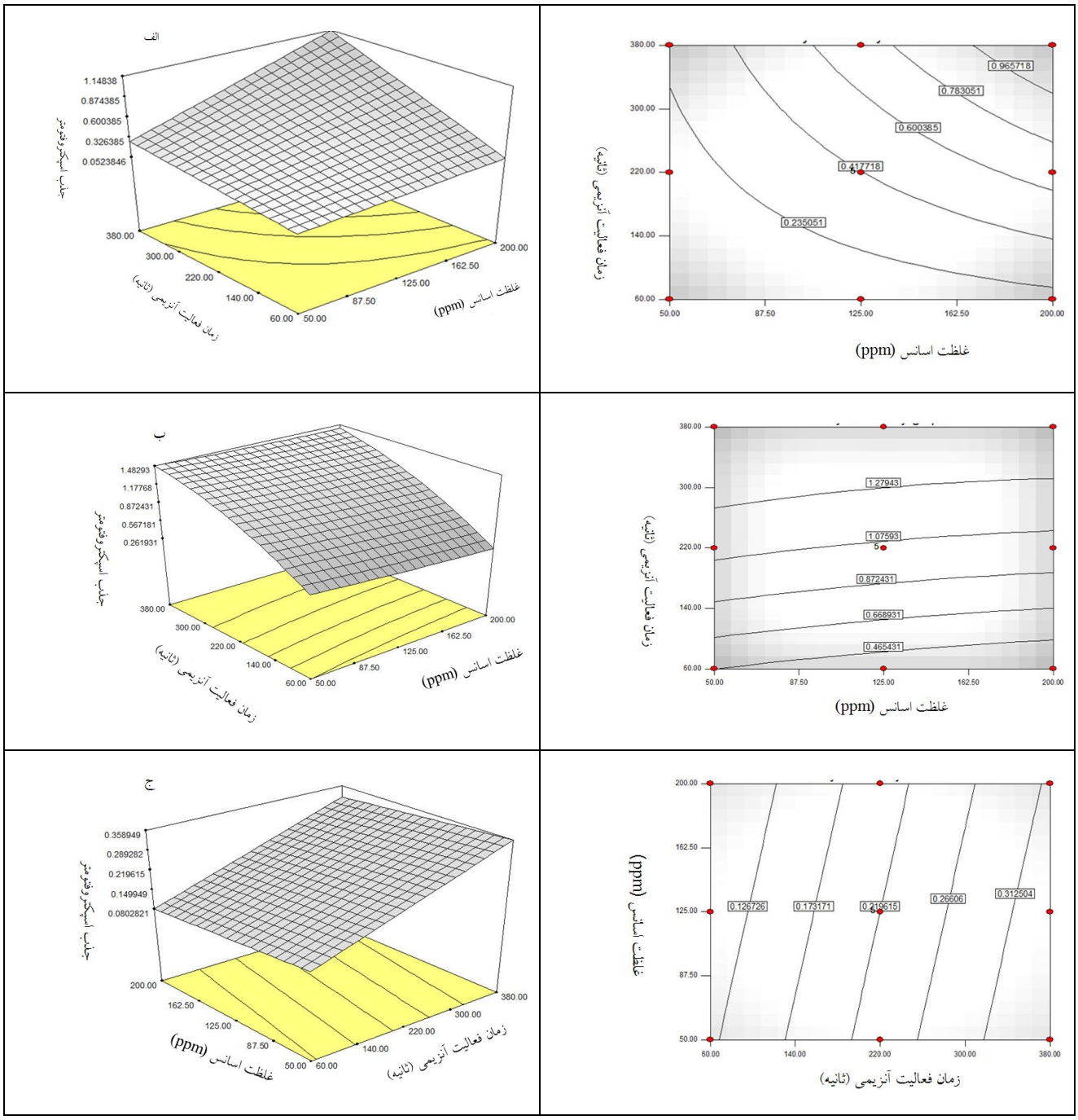
همان طور که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت اسانس گلپر در زمان‌های اولیه فعالیت آنزیم، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز مشاهده می‌شود اما با افزایش زمان فعالیت آنزیمی، افزایش غلظت اسانس منجر به کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز می‌شود (شکل 1 الف)

نمودارهای سه‌بعدی سطحی و کانتور تأثیر متغیرهای مستقل در غیرفعال سازی آنزیم پراکسیداز کرفس تحت تأثیر اسانس آویشن در شکل 1 ب ترسیم شده است. همان طور که ملاحظه می‌شود افزایش زمان فعالیت آنزیمی منجر به افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در یک غلظت ثابت از اسانس آویشن شده است. به گونه‌ای که در بالاترین زمان فعالیت آنزیمی انتخاب شده بیش‌ترین فعالیت آنزیمی (جذب) مشاهده می‌گردد. بالاترین مقدار فعالیت آنزیمی در بالاترین غلظت و بالاترین زمان فعالیت مشاهده شد درحالی‌که پایین‌ترین فعالیت آنزیم به ترتیب در غلظت 50 ppm اسانس آویشن و زمان 60 ثانیه مشاهده شد.

همان طور که از شکل 1 ب مشاهده می‌شود با افزایش غلظت اسانس آویشن در زمان‌های اولیه فعالیت آنزیم، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز به کندی صورت می‌گیرد اما با افزایش زمان فعالیت آنزیمی، افزایش غلظت اسانس منجر به تشدید فعالیت آنزیم پراکسیداز می‌شود. در غلظت‌های پایین اسانس آویشن با افزایش زمان فعالیت آنزیمی از شدت و نرخ فعالیت آنزیمی (جذب) کاسته شد درحالی‌که در غلظت‌های بالاتر اسانس آویشن با افزایش زمان فعالیت آنزیمی شدت و نرخ فعالیت آنزیمی (جذب) بیشتر است.

همان طور که در شکل 1 ج مشخص است افزایش زمان فعالیت آنزیمی منجر به افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در یک غلظت ثابت از اسانس میخک شده است که نتایج مربوط به ارتباط فعالیت آنزیمی با افزایش زمان واکنش آنزیمی، بیانگر افزایش دسترسی آنزیم به سوبسترا می‌باشد. به گونه‌ای که در زمان فعالیت آنزیمی اولیه و بالاترین غلظت اسانس میخک کمترین فعالیت آنزیمی (جذب) مشاهده می‌گردد و مقدار فعالیت آنزیمی در بالاترین غلظت اسانس میخک و بالاترین زمان فعالیت کاهش یافت.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]



شکل 1. نمودار سه بعدی و دو بعدی (کانتور) تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز (جذب) کرفس در زمان‌های فعالیت آنزیمی و غلظت‌های مورد آزمایش از الف- اسانس آویشن ب- اسانس گلپر ج- اسانس میخک

جدول 4 شرایط تعیین‌شده برای متغیرهای مستقل (جهت بهینه‌سازی غیرفعال سازی غیرحرارتی آنزیم پراکسیداز کرفس) و شرایط بهینه‌شده را نشان می‌دهد. متغیرهای مستقل (غلظت اسانس و زمان فعالیت آنزیمی) حداقل در نظر گرفته شده است. همچنین 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 راه‌حل‌های پیش‌بینی‌شده که بر اساس مطلوبیت در جدول 4 مرتب شده است و هرچه مطلوبیت به 1 نزدیک تر باشد مناسب‌ترین و بهترین شرایط خواهد بود که در مورد هر اسانس راه حل اول به عنوان بهترین شرایط جهت دست‌یابی به شرایط بهینه در نظر گرفته شد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

جدول 4. شرایط تعیین‌شده جهت بهینه‌سازی غیرفعال سازی غیرحرارتی آنزیم پراکسیداز در کرفس تحت تأثیر اسانس‌های گیاهی

اسانس	شرایط	هدف	حد پایین	حد بالا	وزن بالا	وزن پایین	اهمیت	شرایط بهینه
گلپر	غلظت اسانس (ppm)	حداقل	50	200	1	1	3	50
آویشن		حداقل	50	200	1	1	3	50
میخک		حداقل	50	200	1	1	3	50
گلپر	زمان فعالیت آنزیم (ثانیه)	حداقل	60	380	1	1	3	60
آویشن		حداقل	60	380	1	1	3	60
میخک		حداقل	60	380	1	1	3	60
گلپر	فعالیت آنزیم پراکسیداز (جذب)	حداقل	0/276	1/503	1	1	3	0/467599
آویشن		حداقل	0/039	1/153	1	1	3	0/0523847
میخک		حداقل	0/076	0/368	1	1	3	0/120615
گلپر	مطلوبیت	-	-	-	-	-	-	0/945
آویشن		-	-	-	-	-	-	0/945
میخک		-	-	-	-	-	-	0/946

• بحث

تأثیر غوطه‌وری در اسانس‌های مختلف بر فعالیت آنزیم پراکسیداز سبزی کرفس: افزایش فعالیت آنزیمی با افزایش زمان واکنش آنزیمی، بیانگر افزایش دسترسی آنزیم به سوبسترا بوده که در تحقیق دارائی گرمه‌خانی و همکاران (2010) و نیز شهابی قهفرخی و همکاران (2013) نیز ثابت شده است (17، 16). همچنین کاهش فعالیت آنزیم در زمان های پایانی واکنش 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 (17، 16).

کاشانی نژاد و دارائی (1391) نیز در تحقیقی بیان داشتند که اسانس‌ها با ترکیب شدن با اکسیژن محیط مانع واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی شده و در نتیجه فعالیت آنزیم پراکسیداز را کنترل می‌کنند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت (18).

نتایج تحقیقات سایر محققین نیز ارتباط فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس های گیاهی و ممانعت کنندگی فعالیت آنزیم پراکسیداز در سبزیجات مختلف تحت تأثیر اسانس‌های گیاهی را نشان می‌دهد که موید نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. دارائی گرمه‌خانی و همکاران (2010)، شهابی قهفرخی و همکاران (2013) کارایی اسانس‌های میخک، رازیانه و زیره در غیرفعال‌سازی آنزیم پراکسیداز سبزیجات مختلف (کاهو، کلم سفید، کلم قرمز، کدو خورشتی و سیب‌زمینی) را گزارش نمودند (17-16).

مدل‌سازی غیرفعال سازی غیرحرارتی آنزیم پراکسیداز: در بررسی تأثیر اسانس گلپر بر فعالیت آنزیم پراکسیداز کرفس آزمون ANOVA مشخص نمود که مدل چندجمله‌ای درجه‌ی دوم به اندازه کافی بیانگر پاسخ، با ضرایب مشخص می‌باشد. R^2 =0/9909 موید این است که مدل رگرسیون، واکنش را به خوبی توضیح داده و مدل برازش شده توانسته 99/09 درصد از کل تغییرات در دامنه‌ی مقادیر مورد مطالعه را توضیح دهد. R^2 معیاری است برای اینکه مشخص گردد چه میزان از تغییرات توسط مدل شرح داده شده است (19) و در موارد R^2 واقعی و R^2 تعدیل‌شده (Adjusted R-Squared) که به ترتیب 0/9909 و 0/9844 به دست آمدند، بیانگر توصیف مناسبی از پراکندگی داده‌ها بوده‌اند.

در مورد اسانس آویشن آزمون تجزیه واریانس مشخص نمود که مدل درجه‌ی اول به اندازه کافی بیانگر پاسخ، با ضرایب مشخص می‌باشد و مدل رگرسیون برازش شده توانسته 99/00 درصد از کل تغییرات در دامنه‌ی مقادیر مورد مطالعه را توضیح دهد (R^2 =0/99). R^2 واقعی و R^2 تعدیل‌شده که به ترتیب 0/9909 و 0/9867 به دست آمدند، بیانگر توصیف مناسبی از پراکندگی داده‌ها بوده‌اند. مدل بر اساس فعالیت آنزیم پراکسیداز کرفس (تحت تأثیر اسانس آویشن) برازش خوبی داشته و مدل ایجادشده توانسته است که تغییرات داده‌ها را به اندازه کافی توضیح دهد (20)، لذا این مدل جهت پیش‌بینی در دامنه متغیرهای مورد استفاده مناسب بود.

نتایج تجزیه واریانس تأثیر اسانس میخک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز کرفس مشخص نمود که مدل چندجمله‌ای درجه‌ی اول به اندازه کافی بیانگر پاسخ، با ضرایب مشخص می‌باشد و مدل برازش شده توانسته 96/75 درصد از کل تغییرات در دامنه‌ی مقادیر مورد مطالعه را توضیح دهد (R^2 =0/9675). مناسب بودن مدل با استفاده از آزمون فقدان برازش مورد بررسی قرار گرفت که برای P>0/05 معنی‌دار نبود. از آنجا که

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

فرض آزمون عدم برازش در معادله مدل معنی‌دار نبود (P>0/05) مدل بر اساس فعالیت آنزیم پراکسیداز کرفس (تحت تأثیر اسانس گلپر) برازش گردید. برازش خوب به این معنی است که مدل ایجادشده توانسته است که تغییرات در داده‌ها را به اندازه کافی توضیح دهد (20)، لذا این مدل جهت پیش‌بینی در دامنه متغیرهای مورد استفاده مناسب بود؛ اما در مورد سایر اسانس‌ها فقدان برازش مدل معنی‌دار بود و از این لحاظ این دو مدل ضعیف هستند.

اسانس‌ها با ترکیب شدن با اکسیژن محیط مانع واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی شده و در نتیجه فعالیت آنزیم پراکسیداز را کنترل می‌کنند. دارائی گرمه‌خانی و همکاران (2010) بیان داشتند که در اسانس رازیانه، افزایش زمان فعالیت و افزایش غلظت اسانس منجر به افزایش شدید فعالیت آنزیم پراکسیداز در کلم سفید و کلم قرمز شد درحالی‌که در اسانس میخک عکس این حالت مشاهده شد و افزایش غلظت اسانس اثر ممانعت کنندگی بالاتری داشت. آن‌ها نتیجه‌گیری کردند که قدرت آنتی‌اکسیدانی و مهارکنندگی اکسیژن اسانس میخک بالاتر از اسانس رازیانه است (16).

پایین‌ترین فعالیت آنزیم به ترتیب در غلظت 200 ppm اسانس میخک و زمان 60 ثانیه مشاهده شد که بیانگر کاهش سوبسترای مصرفی و یا کاهش اکسیژن مورد نیاز آنزیم برای ایجاد رنگ قهوه‌ای می‌باشد که نشان‌دهنده توانایی اسانس میخک در واکنش با اکسیژن محیط و ممانعت از واکنش آنزیم پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز (قهوه‌ای شدن آنزیمی) می‌باشد. در غلظت‌های پایین اسانس میخک با افزایش زمان فعالیت آنزیمی شدت و نرخ فعالیت آنزیمی (جذب) افزایش می‌یابد؛ این افزایش می‌تواند به علت افزایش سوبسترای در دسترس آنزیم و کم شدن اثر ممانعت کنندگی آنزیم در غلظت‌های پایین اسانس میخک باشد (17، 16). درحالی‌که در غلظت‌های بالاتر اسانس میخک با افزایش زمان فعالیت آنزیمی، شدت و نرخ فعالیت آنزیمی (جذب) روند کندتری دارد. اسانس‌ها با ترکیب شدن با اکسیژن محیط مانع واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی شده و در نتیجه فعالیت آنزیم پراکسیداز را کنترل می‌کنند. نتایج دارائی گرمه‌خانی و همکاران (2010) بیانگر تأثیر مثبت اسانس میخک در ممانعت از فعالیت آنزیم پراکسیداز در سبزیجات مورد مطالعه (کلم سفید و کلم قرمز) بود و اثر ممانعت کنندگی اسانس با افزایش غلظت اسانس تشدید می‌شد (16).

امروزه در عرصه جهانی جایگزین‌های مختلفی برای سموم و آفت‌کش‌های شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است (10). از طرف دیگر تولید محصولات ارگانیک به دلیل نقش آن‌ها در سلامتی انسان رو به افزایش است که این خود نیازمند عدم استفاده از مواد شیمیایی در شرایط پس از برداشت می‌باشد. روش‌های مختلفی جهت حفظ این محصولات به کار می‌رود و اسانس‌های طبیعی با توجه به خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی، می‌توانند جایگزین روش‌های معمول گردند (13). بنابراین به تکنیک‌های ممانعت کننده جدید جهت حفظ محیط‌زیست و سلامتی انسان نیاز است. در واقع غیرفعال کردن آنزیم پراکسیداز توسط حرارت منجر به افت رنگ و خواص مغذی مواد غذایی می‌گردد که استفاده از اسانس این مشکلات را نداشته و درعین‌حال باعث کاهش فعالیت آنزیمی نیز می‌گردد. در پاسخ به تقاضای مصرف‌کننده به منظور کاهش یا توقف استفاده از مواد شیمیایی سنتزی در انبارداری پس از برداشت محصولات کشاورزی و حفظ محیط‌زیست و از همه مهم‌تر حفظ سلامتی بشر، نیل به سمت استفاده از ترکیبات طبیعی ضروری به نظر می‌رسد. تأثیر ضد میکروبی و افزایش خواص کیفی محصولات توسط برخی از ترکیبات طبیعی ثابت گردیده ولی به منظور استفاده تجاری، باید این نتایج به صورت پوشش دار کردن میوه یا تغییر اتمسفر انبار (MA) در غلظت‌های مختلفی روی محصولات تازه در سطح تجاری آزمایش گردد. از طرف دیگر بسیاری از نتایج اثرات ترکیبات طبیعی در کارهای آزمایشگاهی به دست آمده که برای استفاده در سیستم‌های غذایی نیاز به کاربرد در غلظت‌های بالاتر می‌باشد که البته این سطح غلظت هم با مورد قبول بودن ذائقه مصرف‌کننده از لحاظ طعم مغایرت پیدا می‌کند. این پژوهش در واقع مطالعه اولیه استفاده از برخی از ترکیبات طبیعی در جهت کاهش آنزیم‌های دخیل در شروع فساد میوه‌ها و سبزیجات بود و در آینده نیاز به برآورد میزان غلظت مورد استفاده برای هر محصول و روش‌های تسهیل‌کننده در کاربرد این ترکیبات می‌باشد، به طور مثال مقدار چربی، کربوهیدرات، پروتئین، نمک و pH محصولات روی نتایج حاصل از کاربرد این ترکیبات می‌تواند تأثیرگذار باشد بطوری که هر چه میزان آب فعال محصول کاهش یابد پتانسیل ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی هم کاهش می‌یابد. به منظور استفاده از این ترکیبات پیشنهاد می‌گردد فیلم‌های غنی‌شده از این ترکیبات در قالب پوشش خوراکی و یا گاز استریل محتوای آن، به منظور استفاده فاز گازی ترکیبات فرار در انبارهای با اتمسفر کنترل شده (MAS) در سطح تجاری بکار رود. البته تحقیقات اخیر در مورد تکنیک ریز پوشانی کردن جهت جلوگیری از فرار بودن اسانس و عدم تأثیر گرما بر

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

آن در حال اجرا بوده و نتایج بعضی از تحقیقات نشان می‌دهد که افزایش دوره قابلیت تماس اسانس‌های گیاهی، باعث افزایش مدت نگه‌داری محصول پس از برداشت می‌گردد. در واقع این تحقیق تلاشی برای بررسی امکان کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز به عنوان آنزیم مسئول سنتز اتیلن و فعال‌کننده آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز با استفاده از اسانس‌های طبیعی بود که در شرایط برون زیست (invitro) انجام شد. نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس‌های طبیعی به خوبی قادر به کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز هستند و جهت تکمیل و کاربردی شدن این نتایج توجه به پیشنهادهای زیر ضروری به نظر می‌رسد:

1- استفاده از اسانس‌ها به طور مستقیم روی میوه‌ها و سبزیجات مختلف و بررسی تغییرات فیزیولوژیک و کیفی میوه‌ها و سبزیجات.

2- ریز پوشانی اسانس‌ها جهت تثبیت و نگهداری بهتر آن‌ها و امکان آزادسازی تدریجی اسانس‌ها در حین نگهداری.

3- استفاده از اسانس‌ها به عنوان جایگزین آفت‌کش‌ها و سموم شیمیایی در فرمولاسیون واکس میوه‌هایی مثل مرکبات و ...

• References

1. Rahemi M. Post harvest physiology, an introduction to fruits and vegetables physiology and handling. Shiraz University press [in Persian]. 2004.
2. Holley. R. A., Patel, D. 2005. Improvement in shelf- life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiol 22, 273-292.
3. Maskoki A M. The technology of essential oils and medicinal products production from medical herbs. Reported research at Iranian Research Organization for Science and Technology, Mashhad Unit [in Persian]. 1998.
4. Boyraz N, Ozcan M. Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory (Satureja hortensis L.) growing wild in Turkey. Int J Food Microbiol 2005; 1: 1-5.
5. Lanciotti R, Gianotti A, Patrignani F, Belletti N, Gverzoni M E, Gardini F. Use of natural aroma compound to improve shelf life and safety of minimally processed fruit. Trends Food Sci Tech 2004; 15: 201-208.
6. Omidbigi R. Medicinal plant production and processing. Astan Ghodse Razavi publisher, 5th ed, pp: 653 [in Persian]. 2009.
7. Daferera D J, Ziogas B N, Polissiou M G. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on Penicillium digitatum. J Agr Food Chem 2000; 48: 2576-2581.
8. Singh A, Singh R H, Bhunia A K, singh N. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against Listeria monocytogenes in hotdogs. LWT 2003; 36: 787-794.
9. Tassou C C, Koutsou manis K, Nychas G J E. Inhibition of salmonella entertidis & staphylococcus aureus in nutrient broth by mint essential oil. Food Res Int 2000; 33: 273-280.
10. Lambert R J W. Skandamis P N, Coote P J, Nychas G J E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J Appl Meteorol 2001; 91: 453-462.
11. Ultee A, Kets P E, Smid E J. Mechanism of action of carvacol on the foodborne pathogen bacillus cereus. Appl Environ Microbiol 1999; 65: 4606-4610.
12. Nikos g, Tzortzakis A. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. Innov Food Sci Emerg Technol 2007; 8: 11-116.
13. Ponec A G, Del Valle C E, Roura S I. Natural essensial oil as reducing agents of peroxides activity in leafy vegetable. LWT 2004; 37: 199-204.
14. Hemeda H M, Klein B P. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts, J Food Sci 1990; 55: 184-186.
15. Bezerra M A, Santelli R E, Oliveira E P, Villar L S, Escaleira L A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. Talanta 2008; 76: 965–977.
16. Daraei Garmakhany A, Mirzai H O, Aghajani N, kashiri M. Investigation of natural essential oil antioxidant activity on peroxidase enzyme in selected vegetable. J Agr Sci Tech 2010; 4: 78-84.
17. Shahabi Ghahfarrokhi I, Daraei Garmakhany A, Kashaninejad M, Dehghani A A. Estimation of Peroxidase Activity in red cabbage by Artificial Neural Network (ANN). Qual Assur Saf Crop 2013; 5: 163-167.
19. Taheri A, Abedian Kenari A, Motamedzadegan A, Habibi-Rezaei M. Poultry By-Products and Enzymatic Hydrolysis: Optimization by Response Surface Methodology Using Alcalase® 2.4L. Int J Food Eng 2011; 7: 1556-3758.
20. Taheri A. Antioxidative properties of rainbow sardine (Dussumieria acuta) protein hydrolysate: optimization using response surface methodology. International Food Congress-Novel Approaches in Food Industry 2011; MAY 26-29; Pp: 39-43.
18. Kashaninejad M, Daraei Garmakhany A. Application of essential oils as natural antioxidant in reduction of peroxidase enzyme activity. Reported research at Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, 2013 [in Persian].

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

Optimization of Non-thermal Inactivation of Celery's Peroxidase Enzyme by the Use of Response Surface Methodology

Daraei Garmakhany A[1], Aghajani N[2], Gohari Ardabili A[2]*

1- Assistant Prof of Food Science and Technology, Toyserkan Faculty of Industrial Engineering, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran. Email: amirdaraey@yahoo.com

2- Assistant Prof of Food Science and Technology, Bahar Faculty of Food Science and Technology, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran.

3- Corresponding author: Assistant Prof of Food Science and Technology, Bahar Faculty of Food Science and Technology, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran.

Received 2 Mar, 2016 **Accepted 25 Jul, 2016**

Background and Objectives: Proxidase enzyme is one of the most important enzymes in plant tissues, which can bind to hydrogen peroxide and produce an activated complex that can react with a wide range of donor molecules. Therefore, inactivation of the enzyme may increase the shelf life of raw and un-blanched frozen vegetables. In order to inactivate the enzyme methods such as heating, lowering pH or *aw* or adding chemical additives (SO_2) can be used; however, each of the above mentioned methods has a kind of shortcoming. Nowadays consumer's trend has been oriented to use fresh products or foods prepared by little process, therefore producers are interested in using alternative methods in order that increase the product's shelf life.

Materials and Methods: In this study the effect of natural essential oils (Golpar, Thyme and Clove oils) on peroxidase enzyme activity was investigated. Optimization of peroxidase enzyme inactivation under different variables (essential oils concentration, the time of enzyme activity, blanching time and temperature) was performed using response surface methodology.

Results: The results showed that peroxidase activity of celery extracts was affected by all the studied oils and its activity was reduced. Optimum conditions for non-thermal inactivation of peroxidase enzyme of celery for different used oils were as: Golpar concentration 50 ppm, the time of enzyme activity 60 seconds, and enzyme activity (absorption) 0.467599; Thyme concentration 50 ppm, the time of enzyme activity 60 seconds and enzyme activity (absorption) 0.0523847; and clove oil concentration 50 ppm, the time of enzyme activity 60 seconds and enzyme activity (absorption) 0.120615.

Conclusion: This study showed that essential oils have the ability to inhibit and inactivate peroxidase enzyme activity.

Keywords: Essential oils, Anti oxidant, Peroxidase enzyme activity, Optimization, Response surface methodology

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]