SID

فیلم های آموزشی

سامانه ویراستاری STES

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترفند های جستجو

کارگاه آنلاین
پرپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

کارگاه آنلاین
بررسی مقابله ای متون (مقدماتی)

Archive of SID

بسمه تعالی

بررسی پارامترهای ترمودینامیکی آنزیم پلی فنل اکسیداز انجیر

ایلقار جعفری نویمی پور۱، حسین طایفی نصرآبادی*۲
دانشگاه تبریز، دانشکده دامپزشکی[۱] دانشگاه تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه[۲]
Ilghar_jafari@yahoo.com

چکیده

آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) یک آنزیم حاوی اتم مس است که در حیوانات مسئول متابولیسم و بیوسنتز ملانین و در گیاهان باعث تولید رنگیزه‌های زرد، قهوه‌ای یا سیاه می‌شود، که در نتیجه بر کیفیت تغذیه‌ای آنها تاثیر می‌گذارد. با این‌حال فعالیت این آنزیم برای ایجاد رنگ سیاه یا قهوه‌ای در بیشتر محصولات گیاهی مانند چای و قهوه که نقش تغذیه‌ای دارند ضروری است. علاوه بر ایجاد این پیگمان‌ها تصور می‌شود که آنزیم پلی فنل اکسیداز در واکنش‌های ایمنی، بیوسنتز اجزای گیاه و در حذف رادیکال‌های آزاد در بافت‌های فتوسنتز کننده اهمیت داشته باشد. در این تحقیق آنزیم PPO از میوه انجیر (Ficus Carica) به روش توزیع در دو فاز مختلف بوسیله تریتون X114– دما، جداسازی و تخلیص گردید و سپس پارامترهای ترمودینامیکی آن در محدوده دمایی ۷۰-۵۰ درجه سانتیگراد اندازه گیری و محاسبه گردید.

کلید واژه: انجیر، پارامترهای ترمودینامیکی، پلی فنل اکسیداز.

مقدمه

آنزیم پلی فنل اکسیداز (مونوفنل دی هیدروکسی فنیل آلانین اکسیدوردوکتاز) یا PPO یک آنزیم حاوی اتم مس است این آنزیم دو واکنش مشخص را کاتالیز می‌کند: الف) هیدروکسیلاسیون مونوفنل‌ها به o- دی فنل‌ها و ب) اکسیداسیون o- دی فنل‌ها به o-کوئینون‌ها (۱). آنزیم پلی فنل اکسیداز با کاتالیز واکنش قهوه‌ای شدن در مواد غذایی و تاثیر بر کیفیت تغذیه‌ای آنها، به عنوان یک آنزیم زیان آور در صنایع غذایی محسوب می‌شود (۲). امروزه از این آنزیم برای کنترل آلودگی آب، خارج سازی مواد سمی در فرایندهای صنعتی و همچنین در تهیه بیوسنسور جهت تشخیص مقادیر کم کاتکول و کاتکول آمین‌ها در محلول‌های بیولوژیکی استفاده می‌شود (۳). فعالیت آنزیم PPO در گیاهان متعددی، به عنوان مثال سیب (۴) ، گلابی(۵)، سیب‌زمینی(۶)، کنگر(۷)، لوبیای پهن (۸)، کاهو(۹)، موز (۱۰)، آلوچه (۱۱)، گیاه نعناع (۱۲) و قهوه (۲) گزارش شده است. هدف از این تحقیق جداسازی آنزیم PPO از میوه انجیر و بررسی پارامترهای ترمودینامیکی آن از جمله انرژی آزاد گیبس، آنتالپی و آنتروپی می‌باشد.

مواد و روشها

مقادیر مناسبی از میوه انجیر (Ficus Carica) پس از پوست گرفتن و جدا کردن دانه‌ها در حضور بافر فسفات M ۰/۱ و PH= ۷/۳ و در حضور ماده پلی وینیل پیرولیدون (۲٪) هموژن گردید. پس از فیلتر کردن هموژنه فوق، آنزیم PPO بوسیله متد توزیع در دو فاز مختلف (Two phase partitioning) بوسیله تریتون X114– دما جداسازی و تخلیص گردید (۱۳). فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز از طریق اندازه‌گیری میزان تشکیل کوئینون در طول موج ۴۲۰ nm اندازه‌گیری شد. یک واحد از فعالیت آنزیمی نیز برابر با مقدار آنزیمی که بتواند باعث تغییر جذب ۰/۰۰۱ در یک دقیقه و در دمای آزمایشگاه ($\sim$۲۲-۲۵^{oC}) شود در نظر گرفته شد. جهت بررسی پارامترهای ترمودینامیکی، الیکوت‌های حاوی محلول آنزیمی در دماهای مختلف (۶۰،۷۰،۵۰ درجه سانتیگراد) به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ترموستاتیک انکوبه گردید. سپس میزان فعالیت آنزیم در حضور سوبسترای متیل پیروکاتکول و طول موج ۴۲۰ nm مورد سنجش قرار گرفت. پارامترهای مختلف ترمودینامیکی از قبیل آنتالپی، انرژی آزاد گیبس و آنتروپی از طریق روابط زیر محاسبه گردید (۱۴):

www.SID.ir

Archive of SID

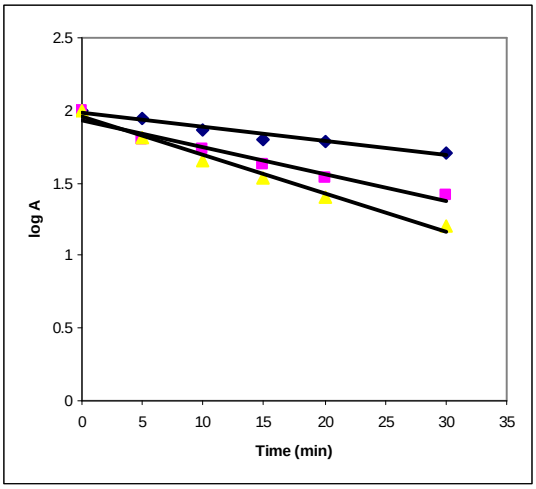
$\Delta H^0 = Ea - RT$ رابطه۴

$\Delta G^0 = RT \ln (kh/KT)$ رابطه۵

$\Delta S^0 = (\Delta H^0 - \Delta G^0)/T$ رابطه۶

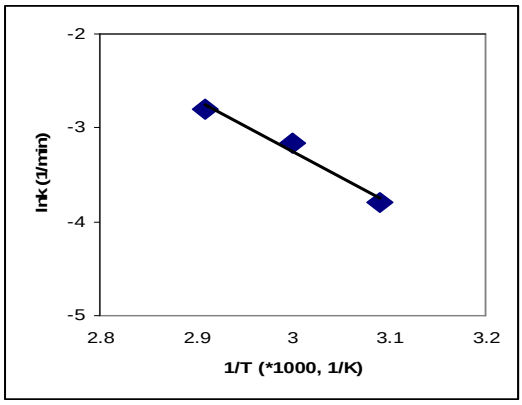
نتایج و بحث

نتایج حاصل از انکوباسیون آنزیم بر روی فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در حضور سوبسترای متیل پیروکاتکول در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطوری که در شکل ۱ دیده می‌شود میزان دناتوره شدن آنزیم پلی فنل اکسیداز با بالا رفتن حرارت و زمان افزایش می‌یابد. این نتیجه نشان می‌دهد که غیرفعالسازی دمایی آنزیم پلی فنل اکسیداز از یک مدل سینتیکی درجه اول پیروی می‌کند.



شکل ۱. تاثیر انکوباسیون دمایی بر روی فعالیت پلی فنل اکسیداز انجیر در دماهای مختلف. فعالیت درصدی از فعالیت اولیه می‌باشد.

ثابت میزان غیرفعالسازی برای رسم نمودار آرینوس به کار گرفته شد (شکل ۲) که از طریق این نمودار نیز انرژی فعالسازی ۴۶/۳۲ کیلوژول بر مول محاسبه شد. انرژی فعالسازی مغز میوه کنگر فرنگی ۴۲/۵۶ (۱۵)، انبه ۲۱/۴ (۱۶)، انگور قرمز دچاناک ۵۲/۳۹ (۱۷)، آناناس ۲۳/۷ (۱۸)، یک گونه هلو ۴۱/۵ و گونه دیگر ۳۷/۵ (۱۴) گونه‌ای از سیب زمینی ۶۷/۶۷ (۱۹) کیلوژول بر مول محاسبه شده است. هر چقدر میزان انرژی فعالسازی بالا باشد بدین معنی است که میزان انرژی بیشتری برای تخریب ساختار آنزیم مورد نیاز می‌باشد.



شکل ۲. نمودار آرینوس مربوط به فعالیت پلی فنل اکسیداز انجیر

یعنی آنزیم در دمای بالاتری غیرفعال می‌شود همانطور که مشاهده می‌شود انرژی غیرفعالسازی آنزیم پلی فنل اکسیداز انجیر نسبت به دیگر گونه‌ها به غیر از انگور قرمز، بالا بوده و مقاومت بالاتری را نشان می‌دهد.

جدول ۱ پارامترهای ترمودینامیکی از قبیل آنتالپی، آنتروپی و انرژی آزاد گیبس را نشان می‌دهد.

جدول ۱. پارامترهای ترمودینامیکی غیرفعالسازی پلی فنل اکسیداز انجیردر طی پروسه دمایی با فرض واکنش درجه اول.

دما (^0C)	$Ea=۴۶/۳۲ kJmol^{-1}$ ΔH^0 ($kJmol^{-1}$)	ΔS^0 ($kJmol^{-1}$)	$R^2=۰/۹۷۸$ ΔG^0($kJmol^{-1}$)
۵۰	۴۳/۶۳	-۰/۵۴	۲۲۰/۶۷
۶۰	۴۳/۵۵	-۰/۵۵	۲۲۷/۵۸
۷۰	۴۳/۴۶	-۰/۵۵	۲۳۴/۵۰

ΔH^0 معیاری از پیوندهای غیرکووالانسی می‌باشد که در تشکیل کمپلکس حالت گذار برای غیرفعالسازی آنزیم شکسته می‌شوند. ΔS^0 حاصل بی نظمی در محلول می‌باشد که منجر به تغییر در تشکیل کمپلکس حالت گذار می‌شود و ΔS کوچکتر از صفر نشاندهنده برگشت پذیر بودن واکنش می‌باشد (۱۹). ΔG بر حسب آنتالپی و آنتروپی تعریف می‌گردد.

ΔH^0، در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد در مورد گونه‌ای از هلو ۶۹/۹ کیلوژول بر مول می‌باشد (۱۴). همانطوری که مشاهده می‌شود ΔH^0 آنزیم پلی فنل اکسیداز هلو در مقایسه با انجیر بالاتر بوده که این نتیجه نشاندهنده مقاومت دمایی بالاتر آنزیم PPO هلو می‌باشد.

نتیجه گیری نهایی

www.SID.ir

Archive of SID

طبـق بررسـی‌هـای انجـام شـده بـر روی پارامترهـای ترمودینامیکی آنزیم پلی فنل اکسیداز انجیر، این گونـه از نظر مقاومت دمایی گونه مناسبی می‌باشد.

منابع

[1] **Nunez-Delicado E., Serrano-Megias M., Perez-lopez A.J., Lopez-Nicolas J.M., 2007**.Characterization of polyphenol oxidase from Napoleon grape.Food Chemistry.100 : 108-114.

[2] **Mazzafera P., Robinson S.P., 2000.**Characterization of polyphenol oxidase in coffee.Phytochemistry.55 :285-296.

[3]**Tomás-Barberán, A.F., Espin, J.C., 2001.**Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables.Journal of the Science of Food and Agriculture. 81: 853-876.

[4] **Espin J.C., Morales M., Varon R., Tudela J., Garcia-Carnovas F., 1995**.Monophenolase activity of polyphenol oxidase from verdedoncella apple. Agricultural and Food Chemistry, 43 :2807–2812.

[5] **Hwang I. G., Yoon K. R., Kim W. Y., 1996**.Rapid measurement of the enzymatic browning of pear juice by the addition of l-DOPA.Food Biotechnology.5 : 152–155.

[6] **Chen Y. K., Preston J. F., Cheng-I Wei., Hooshar P., Gleenson R. A., Marshall M. R.,1992**. Structural comparison of crustacean, potato, mushroom polyphenol oxidase. Agricultural and Food Chemistry, 40:1326–1330.

[7] **Leoni O., Palmeri S., 1990.** Polyphenol oxidase from architoke (Cynarascolymus L.). Food Chemistry, 38: 27–39.

[8**] Ganesa C., Fox M. T., Flurkey W. H., 1992**. Microheterogenity in purified broad bean polyphenol oxidase.Plant Physiology. 98: 472–479.

[9] **Heimdal H., Larsen M. L., Poll L., 1994**.Characterization of polyphenol oxidase from photosynthetic and vascular lettuce tissues (Lectuca sativa). Agricultural and Food Chemistry.42 : 1428–1433.

[10] **Galleazi M. A., Sgarbieri V. C., Constantinides S. M. Isolation, 1981**. purification and physicochemical characterization of ppo from a dwarf variety of banana (Musa cavensdishii, L.). Food Science. 46 : 150–155.

[11] **Siddiq M., Sinha N. K., Cash J. N.,1992**.Characterization of polyphenol oxidase from Stanley plums.Food Science. 57 :1177–1179.

[12]**Kavrayan D., Aydemir, T., 2001**.Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from peppermint (Menthapipetita).Food Chemistry. 74 : 147–154.

[13] **Fortea M.I., Lopez-Miranda S., Serrano-Martinez A., Carreno J., Nunez-Delicado E., 2009**. Kinetic characterization and thermal inactivation study of polyphenol oxidase and peroxidase from table grape (Crimson seedless). Food Chemistry. 113 : 1008-1014.

[14] **Garro A., Gasull A., 2010**. Characterization of polyphenol oxidase from 2 peach varieties grown in Argentina. food science.19:627-632.

[15] **Ziyan E., Pekyardimci S., 2003**. Characterization of polyphenol oxidase from Jerusalem Artichoke (Helianthus tuberosus). Turk journal of chemistry. 27:217-225.

[16] **Arogba S.S, Ajiboye O.L.,. Ugboko L.A, Essienette S.Y., Afolabi P.O.1998.** Properties of polyphenoloxidase in mango (Mangifera indica) kernel. Journal of the Science of Food and Agriculture. 77:459-462.

[17] **Lee C. Y., Smith N. L., Pennesi A. P. 2006**. Polyphenoloxidase from DeChaunac grapes Journal of the Science of Food and Agriculture. 34: 987-991.

[18] **Chutintrasri B., Noomhorm A., 2006.** Thermal inactivation of polyphenoloxidase in pineapple puree. Food Science and Technology. 39:492-495.

[19] **S. N. Gnangui, E. A. Dué, J.P. Eugène, N. Kouadio, L. P. Kouamé 2009**. Effect of heat treatment on edible yam (Dioscorea cayenensis-rotundata cv Longbô) polyphenol oxidase 3: 128 - 137.

www.SID.ir

SID

فیلم های آموزشی

سامانه ویراستاری STES

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترفند های جستجو

کارگاه آنلاین
پرپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

کارگاه آنلاین
بررسی مقابله ای متون (مقدماتی)