مقاله پژوهشی
یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۱۱، شماره ۱، صفحات ۱ الی ۱۴ (۱۴۰۳)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

Research Article
Nova Biologica Reperta 11 (1): 1-14 (2024)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI:

تاثیر برخی ترکیبات شیمیایی و طبیعی بر فعالیت پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب

نادر چاپارزاده*[۱]، مینا علی پاشائی دهخوارقانی[۱]، لیلا زرندی میاندوآب[۱]
[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران
*مسئول مکاتبات: نادر چاپارزاده، nchapar@azaruniv.ac.ir

چکیده. کیفیت بافت عامل مهمی در ارزیابی میوه‌ها می‌باشد. سطوح برش خورده میوه سیب، در اثر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز قهوه‌ای رنگ می‌شود که دلیل آن اکسیداسیون مواد فنولی می‌باشد. جلوگیری از اکسیداسیون مواد فنولی و تغییر رنگ بافت میوه‌ها در صنایع غذایی اهمیت فراوان دارد. به دلیل اثرات نامطلوب افزودنی‌های شیمیایی بر سلامت انسان و افزایش ترجیح مصرف‌کنندگان برای جایگزینی آنها با مواد طبیعی، بازار جالبی برای استفاده از افزودنی‌های طبیعی گیاهی در حال شکل‌گیری است. این تحقیق با هدف بررسی تاثیر برخی ترکیبات شیمیایی و طبیعی شامل متابی‌سولفیت‌سدیم، اسید سیتریک، عرق کاسنی، عرق شیرین‌بیان و عرق بادرنجبویه بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز صورت گرفت. فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز با استفاده از پیروگالل به‌عنوان سوبسترا به روش طیف سنجی نوری ارزیابی شد. مقادیر دما و pH بهینه فعالیت آنزیم به ترتیب ۳۲ درجه سانتی‌گراد و ۷ تعیین شدند. نتایج حاکی از تاثیر معنی‌دار ترکیبات طبیعی مورد استفاده، متابی‌سولفیت‌سدیم و اسید سیتریک در کاهش فعالیت این آنزیم بود. بر این اساس، می‌توان فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز را برای جلوگیری از قهوه‌ای شدن میوه‌ها با استفاده از ترکیبات طبیعی مناسب به جای مواد شیمیایی کاهش داد.

واژه‌های کلیدی. اکسیداسیون، بادرنجبویه، شیرین‌بیان، کاسنی، مواد شیمیایی

Effect of some chemical and natural compounds on polyphenol oxidase activity from apple fruits

Nader Chaparzadeh[1*], Mina Ali-Pashaei-Dehkhargani[1] and Leila Zarandi-Miandoab[1]
[1]Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
[*]Correspondent author: nchapar@azaruniv.ac.ir

Abstract. Texture quality is an important factor in evaluating of fruits. The cut surfaces of the apple fruit turn brown because of the oxidation of phenolic compounds, triggered by polyphenol oxidase enzyme. Preventing the oxidation of phenolic substances and changing color of fruit are very important in the food industry. Due to the adverse effects of chemical additives on human health and increasing consumer preference for natural alternative compounds makes an interesting market for natural plant ingredients. This study was conducted to investigate the effect of some chemical and natural compounds including sodium metabisulfite, and citric acid, aromatic waters (sweats) of chicory, licorice and lemongrass on polyphenol oxidase enzyme activity of apple fruits. The activity of polyphenol oxidase was evaluated spectrophotometrically using pyrogallol as substrate. The optimum temperature and pH values were 32 °C and 7, respectively. It was found that the enzyme activity decreased due to use of natural compounds, sodium metabisulfite and citric acid. In conclusion, polyphenol oxidase activity can be reduced to prevent of fruits browning by using suitable natural compounds instead of chemicals.

Key words: Chemical materials, Chicory, Lemongrass, Licorice, Oxidation

Received 28.03.2023/ Accepted 16.06.2024/ Published 19.06.2024
دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۰۸/ اصلاح: ۱۴۰۲/۰۳/۱۳/ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۷/ انتشار: ۱۴۰۳/۰۳/۳۰

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]
[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]

مقدمه

سیب یک میوه محبوب در سراسر جهان محسوب می‌شود. میوه سیب بسته به ژنتیک، شرایط محیطی و روش‌های کشت و داشت دارای انواع مواد معدنی، قندها، الکل‌های قندی، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها و ترکیبات فنولی است. به دلیل محتوای بالای ترکیبات فنولی میوه سیب دارای ارزش تغذیه‌ای و آنتی‌اکسیدانی زیاد برای جلوگیری از ابتلا به سرطان و انواع بیماری‌هاست. ترکیبات فنولی و آنزیم‌های مرتبط در تعیین کیفیت میوه‌ها و سبزیجات نقش اساسی دارند. در بخش گوشتی و پوست سیب، مواد فنولی از قبیل اسیدکلروژنیک و اسیدکافئیک توسط عمل آنزیم‌ها با قهوه‌ای شدن منجر به بی‌کیفیت شدن میوه‌ها و ضررهای فراوان اقتصادی به کشاورزان و صنایع تبدیلی می‌گردند (Can et al., ۲۰۱۴). عامل اصلی قهوه‌ای شدن سیب آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز است که موجب افت کیفیت میوه و آب‌میوه سیب می‌شود (Walker & Ferrar, ۱۹۹۸). پلی‌فنول‌اکسیدازها توسط خانواده‌های چندژنی در گیاهان رمز می‌شوند و تعداد ژن‌ها در گیاهان مختلف متفاوت است. با این حال، در چند گونه‌گیاهی، از جمله خیار، تنها یک ژن پلی‌فنول‌اکسیداز دارند و آرابیدوپسیس به طور کلی فاقد آن است (Sullivan, ۲۰۱۵). بسیاری از ژن‌های پلی‌فنول‌اکسیداز توسط زخم، پاتوژن‌ها و یا هورمون‌های مرتبط با تنش مانند متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک تنظیم می‌شوند. آنزیم حاوی دو اتم مس در جایگاه فعال خود است محل اتصال برای سوبستراهای فنولی و اکسیژن می‌باشند. معمولا سوبستراها در پلاست‌ها و آنزیم در سیتوپلاسم قرار دارند که به هنگام زخم در کنار هم قرار می‌گیرند (Hamdan et al., ۲۰۲۲). آنزیم‌های پلی‌فنول‌اکسیداز دارای وظایف متعدد متابولیسمی در گیاهان هستند ولی شهرت اصلی این آنزیم‌ها در قهوه‌ای شدن محصولات کشاورزی پس از برداشت می‌باشد. با این همه، در برخی موارد مانند فرایند تخمیر در صنعت چای‌سازی و یا کمک به حفظ محتوای پروتئین علوفه‌ها به‌هنگام انبارداری آنزیم‌های فوق مفید هستند (Sullivan, ۲۰۱۵).

فرآیند قهوه‌ای شدن در میوه‌ها و سبزیجات به دو نوع آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم‌بندی می‌شود. در فرآیند قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی، طی واکنش میلارد گروه آمین ترکیبات از جمله اسیدهای آمینه با ترکیبات کربونیلی از جمله قندهای احیاکننده ضمن تولید رنگدانه‌های قهوه‌ای رنگ (ملانوئی) طعم و بو هم ایجاد می‌کنند (Hemmler et al., ۲۰۱۸). برخلاف فرآیند قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی، مسئول واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز می‌باشد. واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی در دو مرحله و با دو نوع فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز انجام می‌شود. نخست، فعالیت مونوفنولازی (E.C.1.14.18.1) در حضور اکسیژن مولکولی موجب هیدروکسیلاسیون مونوفنول‌ها به ارتودی‌فنول‌ها می‌شود. در مرحله بعد، فعالیت دی‌فنولازی (E.C.1.10.3.2) موجب اکسایش دی‌فنول‌ها به ارتودی‌کینون‌های مربوطه می‌گردد. ارتودی‌کوئینون‌ها به شدت واکنشگر و ناپایدار می‌باشند و با پلیمریزاسیون و تراکم با اسیدهای‌آمینه و پروتئین‌ها سبب ایجاد ترکیبات قهوه‌ای رنگ می‌شوند (Zhang, ۲۰۲۳). در صنعت آبمیوه‌سازی، تغییر رنگ آنزیمی از مشکلات عمده محسوب می‌گردد. به دلیل اهمیت میزان فعالیت پلی‌فنول‌اکسیداز در قهوه‌ای شدن آنزیمی، عوامل موثر بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز از جمله نوع و مقدار ترکیبات فنولی، مقدار اکسیژن و میزان pH برای جلوگیری از قهوه‌ای شدن آنزیمی از اهداف مهم در صنعت آبمیوه‌سازی هستند (Devece et al.,۱۹۹۹). مهار قهوه‌ای شدن آنزیمی به روش‌های فیزیکی، شیمیایی و طبیعی تقسیم‌بندی می‌شوند. روش‌های فیزیکی تنظیم‌کننده قهوه‌ای شدن آنزیمی شامل تیمار حرارتی با دماهای بالا و پایین، پرتودهی و استفاده از امواج فراصوت است (Tsikrika, ۲۰۲۲). در روش‌های شیمیایی مهار فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز با استفاده از مواد شیمیایی مانند اسیدها و متابی‌سولفیت‌سدیم و آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی صورت می‌گیرد. به دلیل اثرات نامطلوب بر سلامتی انسان، استفاده از مواد شیمیایی به منظور ممانعت از قهوه‌ای شدن فرآورده‌های میوه‌ای محدود شده است. مصرف‌کنندگان علاقه‌ای برای مصرف محصولات با افزودنی‌های مصنوعی را ندارند و ترجیح می‌دهند مواد شیمیایی با ترکیبات طبیعی جایگزین شوند. امروزه برای مهار فعالیت پلی‌فنول‌اکسیداز، استفاده از مواد طبیعی از منابع مختلف مانند ترکیبات ثانویه گیاهی مورد توجه صاحبان صنایع و محققین است (Coseteng & Lee, ۱۹۸۷). بنابراین، بررسی تاثیر ترکیبات طبیعی بر فعالیت آنزیم پلی فنول‌اکسیداز سیب و استفاده از آنها به‌عنوان بازدارنده فعالیت آنزیمی دارای اهمیت زیادی است. تحقیقات زیادی برای مهار آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز توسط مواد طبیعی استخراج شده از منابع مختلف سبزیجات و میوه‌ها صورت گرفته است (Moon ۲۰۲۰ et al.,). برای مثال، میوه انگور به دلیل داشتن مقدار قابل توجهی ترکیبات پلی‌فنلی به‌ویژه در حالت نارس اثرات بازدارندگی پلی‌فنول‌اکسیدازی خوبی را نشان می‌دهد (۲۰۲۰ Honisch et al.,). پوست و بافت داخلی میوه گوجه‌فرنگی به دلیل داشتن محتوای بسیار بالای لیکوپن (به‌عنوان عامل آنتی

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]

اکسیدان)، پتانسیل قابل توجهی در جلوگیری از قهوه‌ای شدن میوه‌ها دارند. هنگامی که سیب‌های تازه بریده شده با لیکوپن تیمار شوند، از قهوه‌ای شدن آنزیمی بدون تغییر کیفیت فیزیکوشیمیایی جلوگیری می‌شود (Martinez-Hernandez et al., ۲۰۱۹). مطالعات انجام شده با چای سبز نیز نشان داده است که فلاونوئیدهای چای سبز با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی دارای اثر مهاری روی پلی‌فنول‌اکسیداز سیب می‌باشند (Soysal, ۲۰۱۹). از عسل نیز برای ممانعت از قهوه‌ای شدن آب‌میوه‌ها استفاده شده است. ترکیبات عسل به‌عنوان عامل کلاته کننده مس موجود در جایگاه فعال آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز برای مهار فعالیت عمل می‌کنند. علاوه بر این مقدار زیادی از اجزا سازنده مانند اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها و ویتامین‌های موجود در عسل دلالت بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن دارد (De la Rosa et al., ۲۰۱۱).

با توجه به اهمیت سیب به‌عنوان یک میوه ارزشمند در صنعت آبمیوه‌سازی و حساسیت آن نسبت به قهوه‌ای شدن آنزیمی و همچنین به دلیل اثرات زیان‌بار مواد شیمیایی مهارکننده قهوه‌ای شدن بر سلامتی انسان، این تحقیق جهت بررسی تاثیر برخی ترکیبات طبیعی در مقایسه با مواد شیمیایی رایج و تاثیر امواج فراصوت بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز سیب طراحی و اجرا شده است.

مواد و روش‌ها

استخراج عصاره آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز از میوه سیب

سیب زرد از بازار محلی خریداری و برای تخلیص آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز استفاده شد. ۱۰۰گرم بخش خوراکی سیب پس از حذف پوست و دانه‌ها با ۱۰۰میلی لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار (pH ۶/۸) به مدت ۳ دقیقه در مخلوط کن همگن شد. همگن حاصل با استفاده از پارچه تنظیف و سپس سانتریفیوژ (۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه) صاف شد (Strelec et al., ۲۰۱۷). مایع رویی دارای عصاره آنزیمی با سولفات آمونیوم ۲۰٪ رسوب دهی و دوباره سانتریفیوژ شد (Duong-Ly & Gabelli, ۱۹۹۸). رسوب حاصل با بافر فسفات ۱۰میلی مولار (pH ۶/۸) همگن شده و محلول بدست آمده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در بافر فسفات ۱۰میلی مولار (pH ۶/۸) دیالیز و میزان پروتئین نمونه ها اندازه‌گیری شد (Bradford, ۱۹۷۶).

سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز

فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد و در طول موج ۴۲۰ نانومتر در مخلوط واکنش شامل ۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰ میلی مولار (pH ۷)، ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم و ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالل ۰/۲ مولار سنجیده شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم براساس نرخ اولیه تشکیل کینون از روی افزایش جذب در طول موج یاد شده انجام گرفت. شروع واکنش با افزودن پیروگالل انجام می‌شد و برای ۱۵۰ ثانیه افزایش جذب رابطه خطی با زمان داشت. ۰/۰۰۱ افزایش جذب در یک دقیقه به‌عنوان یک واحد آنزیمی تعریف و نتایج به صورت فعالیت ویژه، واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین، محاسبه و به صورت درصد از نمونه شاهد بیان شد (Cho & Ahn ,۱۹۹۹). دما و pH بهینه فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز به روش‌های معمول آزمایشگاهی تعیین گردید.

تعیین تاثیر غلظت‌های مختلف متابی‌سولفیت‌سدیم بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز

عصاره آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز با غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۳، ۰/۵ و ۱ میلی مولار) متابی‌سولفیت‌سدیم مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس، میزان فعالیت آنزیم به روش ذکر شده در قبل اندازه‌گیری شد.

تعیین تاثیر غلظت‌های مختلف اسید سیتریک بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز

عصاره آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز با غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۳، ۰/۵ و ۱ میلی مولار) اسید سیتریک مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس، میزان فعالیت آنزیم به روش ذکر شده در قبل اندازه‌گیری شد.

تعیین تاثیر غلظت‌های مختلف عرق‌های گیاهی بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز

عصاره آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز با غلظت‌های مختلف عرق کاسنی، عرق شیرین‌بیان و عرق بادرنجبویه (۰ تا ۵۰٪)، استخراج شده به روش تقطیر با آب، مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس، میزان فعالیت آنزیم به روش ذکر شده در قبل اندازه‌گیری شد.

آنالیز و بررسی آماری استفاده شده

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای محاسبه میانگین و انحراف استاندارد از

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]

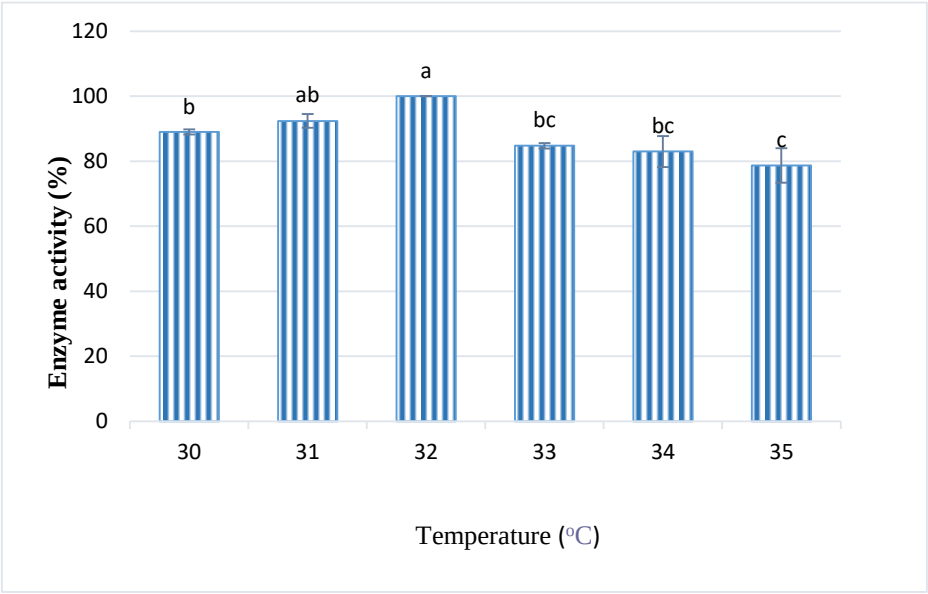
[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]

نرم‌افزار SPSS 17.1 و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

نتایج

تاثیر دما بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب

فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب در دماهای ۱۵، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. آنزیم در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به شکل معنی‌داری بیشترین فعالیت را نشان داد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). طبق داده‌های این پژوهش، دما یکی از عوامل تاثیرگذار بر روی فعالیت آنزیم‌ها می‌باشد و دمای بهینه آنزیم دمایی است که در آن آنزیم بیش‌ترین فعالیت را از خود نشان می‌دهد. در آزمایش دیگر برای نیل به دقت بیشتر فعالیت آنزیم در بازه دمایی ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد بررسی شد (شکل ۱). آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب بیش‌ترین فعالیت را در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد (۱۰۰ درصد) و کمترین فعالیت را به میزان ۷۸/۷ درصد در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد نشان داد. نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که تاثیر دما بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب در بازه دمایی ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار است.



شکل ۱- تاثیر دما بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب حروف مختلف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است. مقادیر میانگین ۴ تکرار SE± هستند.

Figure 1. Effect of temperature on apple fruit polyphenol oxidase activity
Means followed by different letters are significantly different at P≤ 0.05.
Values indicate means with four replications ± SE.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]

جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های تاثیر عوامل مختلف بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب

Table 1. Analysis of variance for the data of different effectors on apple fruit polyphenol oxidase activity

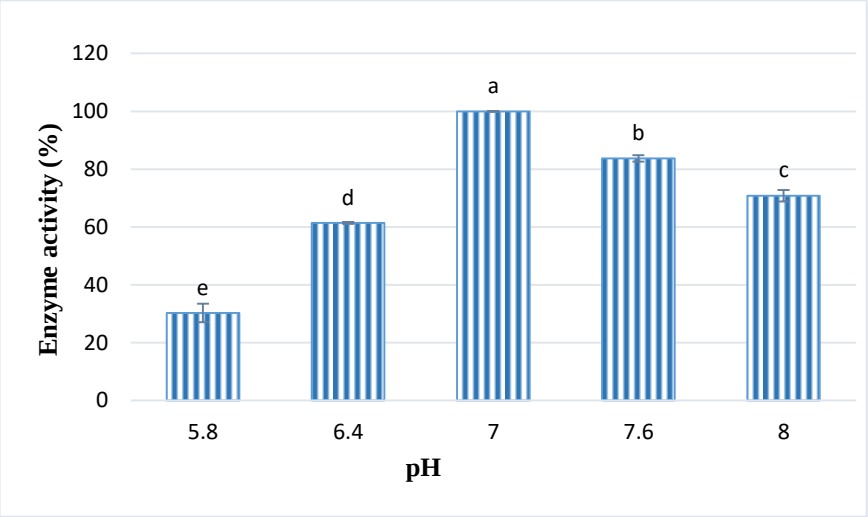
منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F
دما	۵	۰/۱۱۴	۰/۰۲۳	۶/۰۲۹ **
pH	۴	۰/۸۲۲	۰/۲۰۵	۲۲۰/۱۹۴***
متابی‌سولفیت‌سدیم	۳	۱/۶۲۸	۰/۵۴۳	۱۷۳۳/۳۷۲***
اسید سیتریک	۳	۰/۱۱۹	۰/۰۴	۵۶/۶۴۵***
کاسنی	۵	۰/۳۲	۰/۰۴۶	۲۵/۲۸۷***
شیرین بیان	۵	۰/۳۰۱	۰/۰۶	۱۱۳/۴۰۸***
بادرنجبویه	۵	۰/۰۹۴	۰/۰۱۹	۶/۲۳۲**

*** و ** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطوح ۰/۰۰۱ و ۰/۰۱ هستند.

*** and ** are significant at the 0.001 and 0.01 levels, respectively.

تاثیر pH بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب

فعالیت آنزیم در pHهای متفاوت در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. نتایج حاصل (شکل ۲) نشان داد که آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز دارای بیشترین فعالیت در pH ۷ (۱۰۰ درصد) و کمترین فعالیت در pH ۵/۸ (۳۰/۲ درصد نسبت به pH ۷) می‌باشد. بنابراین می‌توان pH ۷ را به عنوان pH بهینه عملکرد این آنزیم در محدوده مورد مطالعه در نظر گرفت. بالاتر و پایین‌تر از این pH فعالیت آنزیم کاهش یافت. نتایج آنالیز واریانس در جدول ۱ نشانگر تاثیر معنی‌دار pH بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در سطح ۰/۰۰۱ است.



شکل۲- تاثیر pH بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب

حروف مختلف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است. مقادیر میانگین ۴ تکرار ±SE هستند.

Figure 2. Effect of pH on apple fruit polyphenol oxidase activity

Means followed by different letters are significantly different at P≤ 0.05

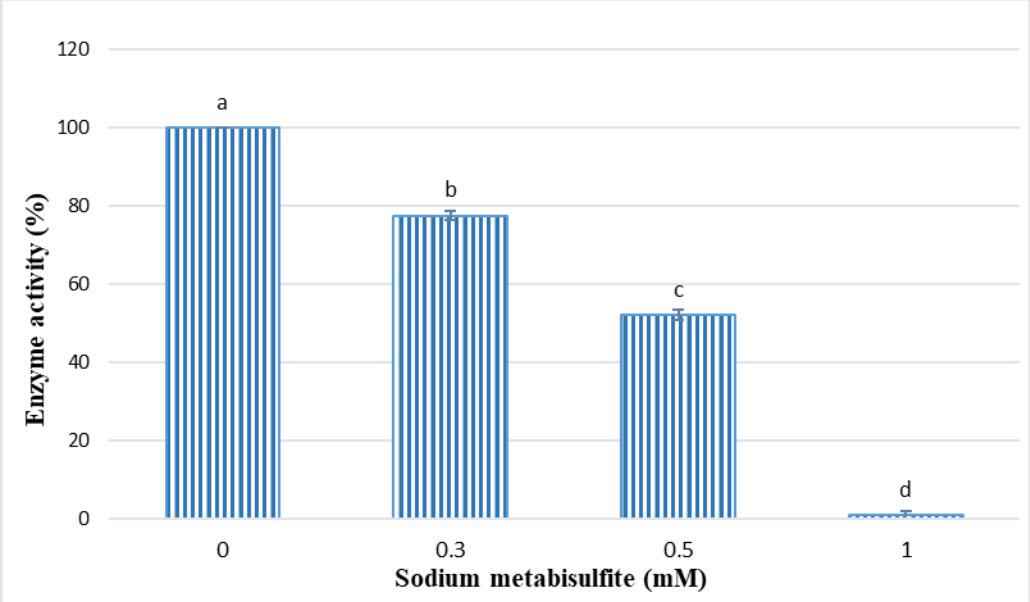
Values indicate means with four replications ± SE

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]

تاثیر متابی‌سولفیت‌سدیم بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب

نتایج حاصل از داده‌های شکل ۳ نشان می‌دهد که متابی‌سولفیت‌سدیم به‌عنوان یک ماده شیمیایی بر روی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز سیب زرد اثر مهاری دارد. با افزایش غلظت مهارکننده در دما و pH ثابت (دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد و pH ۷) فعالیت آنزیم کاهش می‌یابد. بیشترین اثر مهاری (۹۸/۹ درصد) روی فعالیت آنزیم در غلظت ۱ میلی مولار و کمترین تاثیر مهاری به میزان (۷۷/۵ درصد) در غلظت ۰/۳ میلی‌مولار نسبت به شاهد دیده می‌شود. نتایج جدول ۱ بیانگر تاثیر معنی‌دار متابی‌سولفیت‌سدیم بر روی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در سطح ۰/۰۰۱ است.



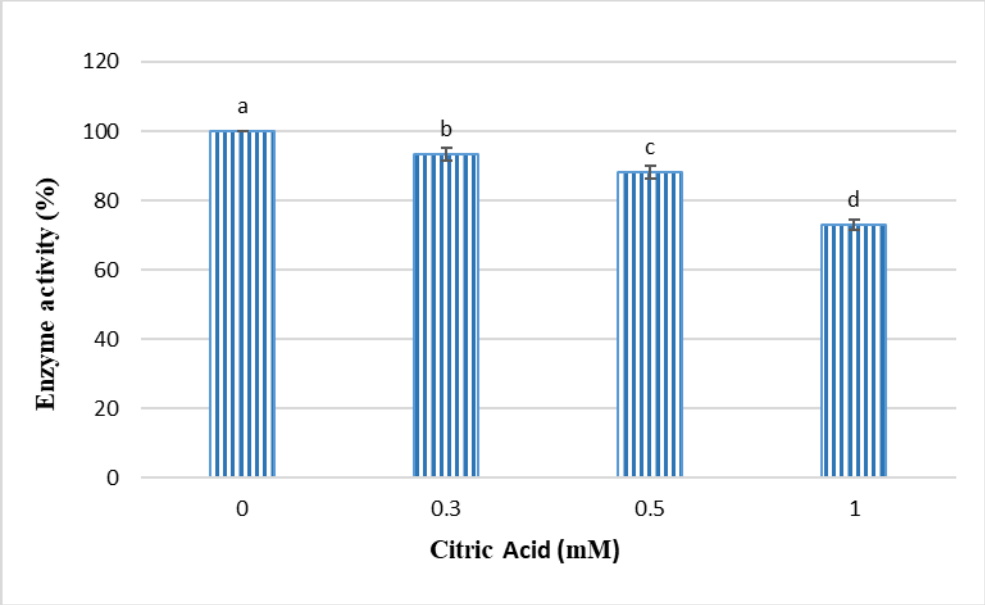
شکل ۳- تاثیر متابی‌سولفیت‌سدیم بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب
حروف مختلف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است. مقادیر میانگین ۴ تکرار ±SE هستند.

Figure 3. Effect of sodium metabisulfite on apple fruit polyphenol oxidase activity
Means followed by different letters are significantly different at P≤ 0.05
Values indicate means with four replications ± SE

تاثیر اسید سیتریک بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب

با توجه به داده‌های شکل ۴، اسید سیتریک بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز سیب زرد اثر مهاری دارد. با افزایش غلظت اسید سیتریک در دما و pH ثابت (دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد و pH ۷) فعالیت آنزیم کاهش می‌یابد. بیش‌ترین اثر مهاری توسط اسید سیتریک به میزان ۲۷/۱۱ درصد (کم‌ترین فعالیت آنزیم به میزان ۷۲/۸۹ درصد) در غلظت ۱ میلی‌مولار در مقایسه با شرایط شاهد دیده می‌شود. غلظت ۰/۳ میلی مولار اسید سیتریک کم‌ترین اثر مهاری را به میزان ۶/۸۴ درصد بر روی فعالیت این آنزیم دارد. نتایج جدول ۱ نشانگر تاثیر اسیدسیتریک بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار است.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]
[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]

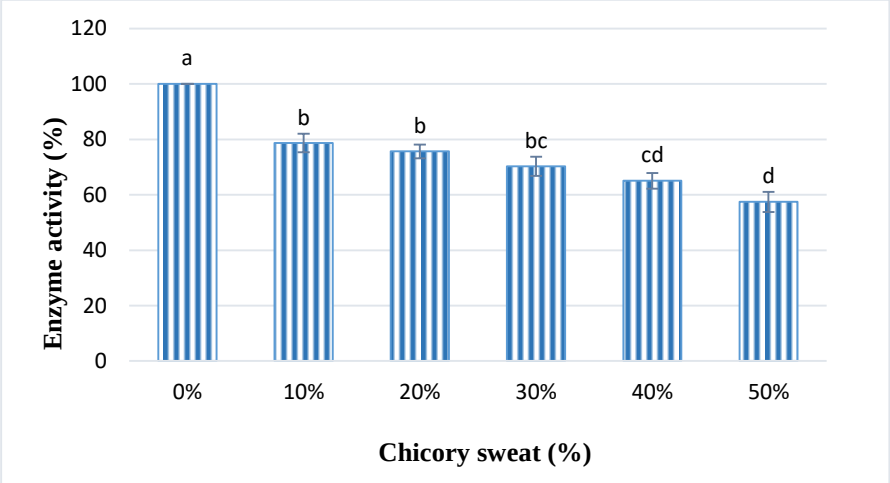


شکل ۴- تاثیر اسید سیتریک بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب
حروف مختلف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است. مقادیر میانگین ۴ تکرار ±SE هستند.

Figure 4. Effect of citric acid on apple fruit polyphenol oxidase activity Means followed by different letters are significantly different at P≤ 0.05 Values indicate means with four replications ± SE

تاثیر عرق کاسنی بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب

نتایج حاصل از داده‌های شکل ۵ نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف عرق کاسنی به‌عنوان یک ترکیب طبیعی بر روی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز اثر مهاری داشته و با افزایش غلظت عرق کاسنی فعالیت آنزیم کاهش بیشتر پیدا می‌کند. بیش‌ترین کاهش فعالیت به میزان۴۲/۵۳ در غلظت ۵۰ درصد عرق در دما و pH ثابت (دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد و pH ۷) مشاهده می‌شود. همچنین غلظت ۱۰ درصدی کم‌ترین کاهش فعالیت نسبت به شاهد را به میزان ۲۱/۲۹ درصد را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از جدول ۱ حاکی از تاثیر معنی‌دار غلظت‌های مختلف کاسنی بر روی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در سطح ۰/۰۰۱ است.



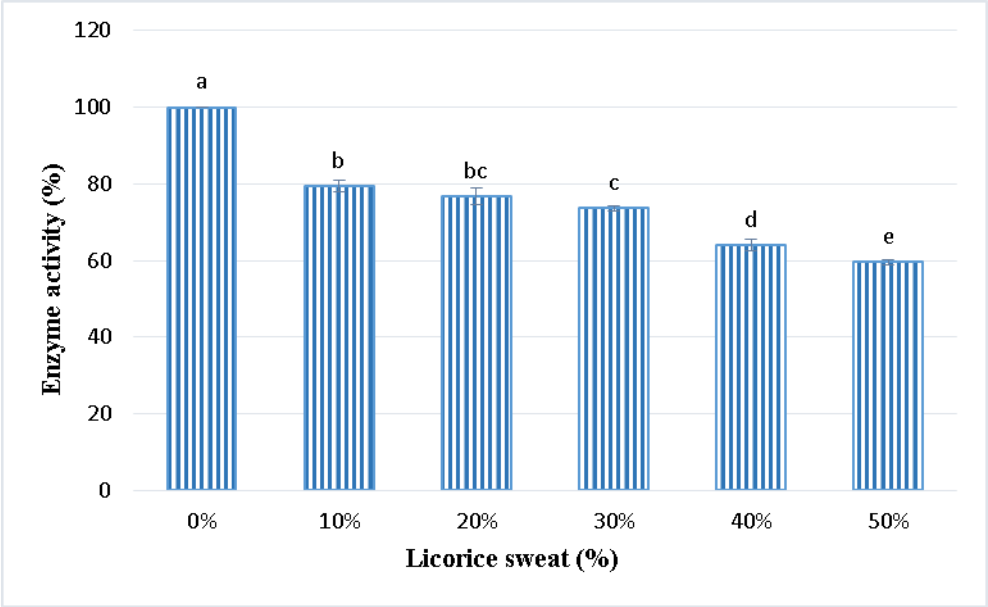
شکل ۵- تاثیر عرق کاسنی بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب
هستند. ±SE است. مقادیر میانگین ۴ تکرارP≤حروف مختلف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵

Figure 5. Effect of chicory sweat on apple fruit polyphenol oxidase activity Means followed by different letters are significantly different at P≤ 0.05

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]
[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]

تاثیر عرق شیرین بیان بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب

نتایج نشان می‌دهند که غلظت‌های مختلف شیرین بیان روی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز اثر مهاری داشته است (شکل ۶). تاثیر عرق شیرین بیان روی فعالیت آنزیم به شکل وابسته به غلظت اتفاق افتاده است. در مقایسه با شرایط شاهد، بیش‌ترین تاثیر مهاری به میزان۴۰/۳۷ (کم‌ترین درصد فعالیت به میزان ۵۹/۶۲) در غلظت ۵۰ درصد عرق شیرین بیان در دما و pH ثابت (دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد و pH ۷) مشاهده می‌شود. کم‌ترین تاثیر مهاری به میزان ۲۰/۵۵ درصد نسبت به شاهد در غلظت ۱۰ درصد عرق مشاهده می‌شود. تاثیر مقادیر مختلف عرق شیرین بیان بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار است (جدول ۱).

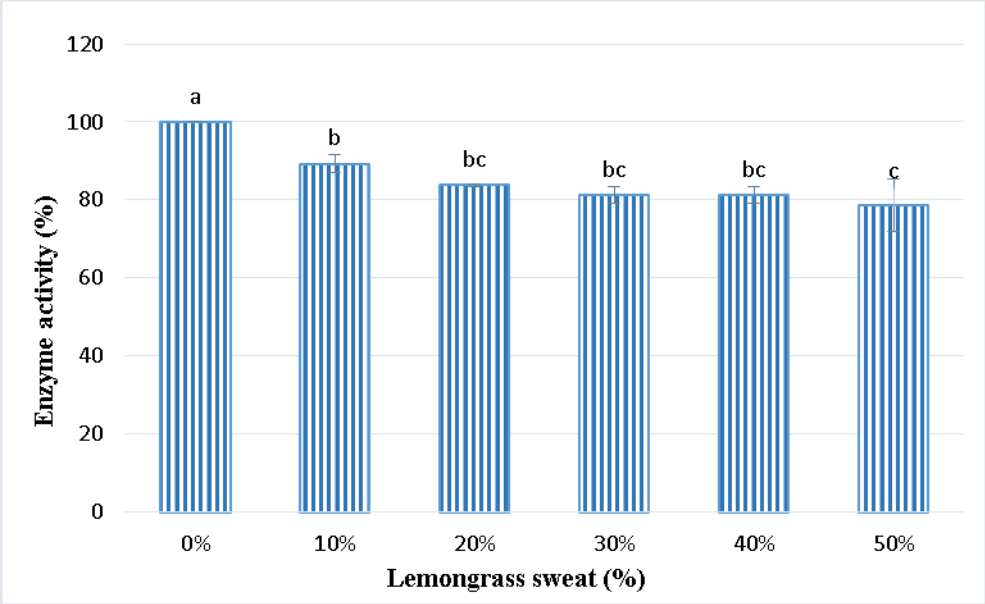


شکل ۶- تاثیر عرق شیرین بیان بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب
حروف مختلف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است. مقادیر میانگین ۴ تکرار ±SE هستند.
Figure 6. Effect of licorice sweat on apple fruit polyphenol oxidase activity
Means followed by different letters are significantly different at P≤ 0.05

تاثیر غلظت‌های مختلف بادرنجبویه بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب

با توجه به شکل ۷، غلظت‌های مختلف عرق بادرنجبویه روی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب اثر مهاری دارد. بیش‌ترین مقدار کاهش فعالیت آنزیم در غلظت ۵۰ درصد عرق به میزان ۲۱/۳۷ درصد (در مقایسه با شاهد) در دما و pH ثابت اتفاق افتاده است. تاثیر عرق بادرنجبویه بر فعالیت آنزیم در یک حالت وابسته به غلظت عرق رخ داده است، به طوری که کم‌ترین تاثیر مهاری در غلظت ۱۰ درصد عرق به میزان ۱۰/۶۹ درصد مشاهده می‌شود. داده‌های حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان‌دهنده تاثیر معنی‌دار غلظت‌های مختلف بادرنجبویه روی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در سطح ۰/۰۱ است.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]
[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]



شکل ۷- تاثیر عرق بادرنجبویه بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب

حروف مختلف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح P≤۰/۰۵ است. مقادیر میانگین ۴ تکرار ±SE هستند.

Figure 7. Effect of lemongrass sweat on apple fruit polyphenol oxidase activity

Means followed by different letters are significantly different at P≤ 0.05

بحث

طیف کثیری از آنزیم‌ها به عنوان کاتالیست‌های زیستی مورد توجه جدی در صنایع پیشرو هستند. فعالیت آنزیم‌ها صدها سال است که توجه دانشمندان مختلف را به خود جلب نموده است. فعالیت کاتالیتیکی آنزیم‌ها به عوامل مختلف مانند دما و pH بستگی دارد. مطالعات در *شیشه* و در *زیوه* نقش بسیاری از مواد مختلف برای بازدارنگی فعالیت کاتالیتیکی را نشان داده است. آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در اکثر بافت‌های گیاهی وجود دارد. به دلیل دخالت آن در قهوه‌ای شدن نامطلوب محصولات کشاورزی گیاهی، مورد توجه بسیاری از محققان در زمینه‌های زیست شناسی کاربردی، علوم غذایی و آنزیم شناسی صنعتی قرار گرفته است. قهوه‌ای شدن آنزیمی در نتیجه اکسیداسیون ترکیبات فنولی توسط پلی‌فنول‌اکسیداز به کینون‌ها و پلیمریزاسیون نهایی آن‌ها به رنگدانه‌های تیره‌رنگ اتفاق می‌افتد. واکنش‌های قهوه‌ای شدن اکسیداتیو در بسیاری از غذاهای با منشاء گیاهی با تغییر خواص تغذیه‌ای باعث کاهش کیفیت می‌شود. این واکنش‌ها به طور قابل توجهی علاقه مصرف‌کننده، عمر انبارداری و ارزش محصولات گیاهی را کاهش می‌دهد. بنابراین یافتن راهکارهایی برای کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در میوه‌ها و سبزیجات مورد توجه تولیدکنندگان و صاحبان صنایع می‌باشد (Yoruk & Marshall, ۲۰۰۳). عوامل محیطی مختلف می‌توانند از طریق تغییرات برگشت پذیر یا برگشت ناپذیر در ساختار پروتئین بر سرعت واکنش‌های کاتالیز شونده توسط آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز تأثیر بگذارند. اثرات دما و pH بر فعالیت آنزیم-ها به خوبی شناخته شده است.

دما به طور قابل توجهی بر فعالیت کاتالیتیکی پلی‌فنول‌اکسیداز تأثیر می‌گذارد. کاهش انرژی جنبشی مولکول‌های واکنش‌دهنده در دماهای پایین موجب کاهش سرعت عمل آنزیمی می‌شود. علاوه بر این، در دماهای بالا در اثر واسرشتگی یکپارچگی ساختار سه بعدی ظریف آنزیم آسیب می-بیند. تغییرات دما همچنین ممکن است حلالیت اکسیژن را که یکی از سوبسترا‌های مورد نیاز پلی‌فنول‌اکسیداز برای انجام فعالیت کاتالیتیکی خود می‌باشد را تغییر دهد. دمای بهینه فعالیت پلی‌فنول‌اکسیداز برای منابع مختلف گیاهی متفاوت است. همچنین دمای بهینه فعالیت آنزیم به نوع سوبسترا وابسته است (Yoruk & Marshall, ۲۰۰۳). در این تحقیق، ابتدا فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز استخراج شده از سیب زرد در دماهای۱۵، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد مطالعه شد که دمای بهینه برای فعالیت آنزیم ۳۰ درجه سانتی‌گراد در حضور سوبسترای پیروگالل تعیین گردید. سپس فعالیت آنزیم در بازه دمایی دقیق ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. در این بازه،

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]

بهینه دما ۳۲ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در انواع مختلف گونه‌های گیاهی دماهای بهینه متفاوتی را نشان می‌دهند. دمای بهینه فعالیت اکثر آنها در محدوده ۳۰ الی ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار دارند. توت سیاه در دامنه دمایی ۱۰ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز دارای فعالیت بود ولی دمای بهینه آن ۲۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شد (Azzouzi, ۲۰۲۲). در یک مطالعه بر روی ویژگی‌های بیوشیمیایی پلی‌فنول‌اکسیدازهای جوانه‌های عدس بهینه فعالیت را در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد مشخص کردند (Sikora et al., ۲۰۱۹). این داده به طور مستقیم در بهبود کیفیت برای مصرف‌کنندگان جوانه‌ها مفید ارزیابی شده است. در مطالعات انجام شده روی گیاه جعفری با سوبسترای کاتکول، آنزیم‌های پلی‌فنول‌اکسیداز در ۴۰ درجه سانتی‌گراد عملکرد بهینه نشان دادند (Dogru & Erat, ۲۰۱۲). دمای بهینه برای حداکثر فعالیت پلی‌فنول‌اکسیداز در کاهو و انگور به ترتیب بین ۲۵ تا ۳۵ و ۲۵ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شده که در دماهای کمتر و بیشتر از این دما، فعالیت آنزیم به تدریج کاهش می‌یابد. پلی‌فنول‌اکسیدازهای برخی گیاهان دماهای بالا برای فعالیت بهینه نیاز دارند. طی چندین مطالعه دمای بهینه فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز توت‌فرنگی (Serradell ۲۰۰۰ et al,) دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و خرمالو (Navarro ۲۰۱۴ et al.,) دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شده است. پلی‌فنول‌اکسیدازهای سیب، موز و انبه دارای دمای بهینه ۳۰ درجه سانتی‌گراد هستند (Yoruk & Marshall, ۲۰۰۳). دمای بهینه تعیین شده در این پژوهش در حضور سوبسترای پیروگالل با یافته‌های پژوهش‌های سابق انجام شده تا حدودی مطابق است.

pH یکی از عوامل تاثیرگذار بر روی فعالیت آنزیم می‌باشد. در pH بهینه آنزیم بیش‌ترین فعالیت را دارد. تغییرات pH می‌تواند با ایجاد تغییر در ساختار آنزیم (با تغییر در پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی) نقش موثری در میزان فعالیت داشته باشد. همچنین سوبسترا و اسیدهای‌آمینه مهم واکنشگر در جایگاه فعال آنزیم‌ها از تغییرات pH متاثر می‌شوند. pH بهینه تحت تأثیر عواملی از قبیل ماهیت سوبسترای فنلی، روش‌های استخراج، دما، و سیستم بافر مورد استفاده در حین جداسازی قرار می‌گیرد. برای اغلب آنزیم‌های پلی‌فنول‌اکسیداز pH بهینه در بازه ۵ الی ۸ قرار دارد. در این تحقیق pH بهینه عملکرد آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب زرد در حضور سوبسترای پیروگالل، بافر فسفات سدیم و دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد ۷ تعیین شد. در توت سیاه pH بهینه بین ۶ تا ۷ تعیین شده است (۲۰۲۲ ,Azzouzi). وجود چند pH بهینه، می‌تواند نشان دهنده وجود چند ایزوآنزیم برای آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز باشد. در یک مطالعه بر روی قسمت‌های مختلف میوه لوبیا سبز فعالیت تمام ایزوفرم‌ها در pH بین ۶/۸ تا ۷/۲ پایدار بودند اگرچه پایداری دمایی آنها بسیار متفاوت بود. تمام ایزوفرم‌های آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز بیشترین میل ترکیبی را به سوبسترای پیروگالل نشان دادند (Guo et al., ۲۰۰۹). pH بهینه برای آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز استخراج‌شده از جوانه‌های سویا بین ۸ الی ۹ تعیین شده است (Nagai & Suzuki, ۲۰۰۱). در جوانه‌های عدس پلی‌فنول‌اکسیدازها در بازه ۴ الی ۸ بهینه فعالیت را در pH حدود ۴/۵ تا ۵ نشان دادند (Sikora et al., ۲۰۱۹). از مطالعات مختلف چنین برمی‌آید که pH بهینه فعالیت آنزیمی به نوع سوبسترا و گونه گیاهی بستگی دارد (Zhang, ۲۰۲۳).

متابی‌سولفیت‌سدیم یک ترکیب شیمیایی با فرمول $Na_2S_2O_5$ است. متابی‌سولفیت‌سدیم یک ترکیب یونی حاوی کاتیون سدیم و آنیون متابی‌سولفیت است. متابی‌سولفیت‌سدیم به صورت پودر متمایل به سفید به سادگی در آب حل شده و به هنگام حل شدن بوی ناخوشایند گوگردی ایجاد می‌کند. نوع خوراکی این ماده در صنایع غذایی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، نگهدارنده و ضدعفونی‌کننده جهت جلوگیری از رشد باکتری‌ها، افزایش ماندگاری، جلوگیری از قهوه‌ای شدن و از دست رفتن تازگی میوه‌ها و سبزیجات کاربردهای متعددی دارد. در مطالعات انجام شده در میان عوامل ضد قهوه‌ای، متابی‌سولفیت‌سدیم یکی از موثرترین آنهاست (Thipnate & Sukhonthara, ۲۰۱۵). در مطالعات قبلی انجام شده متابی‌سولفیت‌سدیم به طور غیر رقابتی آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز زنجبیل را با استفاده از هر دو متیل کاتکول و پیروکاتکل به‌عنوان سوبسترا مهار کردند (Lim & Wong, 2018). در تحقیق حاظر غلظت‌های۱و ۰/۵ و ۰/۳میلی‌مولار متابی‌سولفیت‌سدیم در حضور سوبسترای پیروگالل و دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد و۷ pH اثر مهاری بر روی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز سیب زرد را داشتند و بیش‌ترین تاثیر مهاری در غلظت ۱ میلی‌مولار مشاهده می‌شود. طبق یافته‌های پژوهش حاضر متابی‌سولفیت‌سدیم به‌عنوان یک عامل شیمیایی موثر در جهت مهار قهوه‌ای شدن عمل می‌کند. در مطالعه روی پلی‌فنول‌اکسیدازهای جوانه‌های عدس با غلظت‌های مختلف متابی‌سولفیت‌سدیم نیز نتایج مشابه بدست آمده است (۲۰۱۹ ,Sikora et al.). عمل متابی‌سولفیت‌سدیم در ممانعت از قهوه‌ای شدن آنزیمی را می‌توان به جلوگیری از پلیمریزاسیون کینون‌ها به دلیل تشکیل کمپلکس‌های کینون- سولفیت و همچنین تاثیر مستقیم متابی‌سولفیت‌سدیم روی ساختار آنزیم

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]

پلی‌فنول‌اکسیداز به عنوان بازدارنده برگشت‌ناپذیر (غیررقابتی) مرتبط دانست (Valero et al.,۱۹۹۹).

اسیدهایی که به طور طبیعی در برخی از محصولات غذایی خوراکی وجود دارند، مانند اسید اسکوربیک، اسید سیتریک، اسید مالیک یا اسید فسفریک، pH محیط را کاهش می‌دهند. آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز عموماً از نظر کاتالیزوری در محدوده pH بین ۴ تا ۸ فعال‌تر است و فعالیت آنزیم به شدت تحت تاثیر اسیدهای آلی قرار می‌گیرد. اسید آسکوربیک به صورت رقابتی و اسید سیتریک به شکل غیررقابتی از فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز برگ‌های کاساوا (*Manihot esculenta* Crantz) ممانعت به عمل می‌آورند (Wong & Lee ۲۰۱۴). تاثیر اسید سیتریک بر کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در مطالعات دیگر و از منابع مختلف گیاهی نشان داده شده است. نقش اسیدهای آلی مانند اسید مالیک و اسید سیتریک در پوره موز برای ممانعت از قهوه‌ای شدن نشان داده شده است (۲۰۰۷ ,.Chaisakdanugull et al). در مطالعه حاضر در غلظت‌های مورد استفاده تاثیر اسید سیتریک کمتر از متابی‌سولفیت‌سدیم بوده است. در مطالعات دیگر نیز نقش اسید سیتریک در بازدارندگی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز به شکل وابسته به غلظت نشان داده شده است (Sikora et al., ۲۰۱۹). اسید می تواند به پروتونه شدن گروه‌های عاملی ضروری برای کاتالیز، تغییرات ساختاری در جایگاه فعال آنزیم، دناتوره شدن غیرقابل برگشت پروتئین و یا کاهش پایداری سوبسترا کمک کند. علاوه بر این، اسید ممکن است اتصال مس به جایگاه فعال آنزیم را تضعیف و یا اینکه اسید سیتریک مس را کلاته نماید (۲۰۲۰ ,.Moon et al). تیمار سطوح بریده شده سیب با محلول اسید سیتریک و یا اسید اسکوربیک به تنهایی در مهار قهوه‌ای شدن موثر نبود ولی محلول ترکیبی اسید سیتریک و اسید آسکوربیک تاثیر چشمگیری در کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز نشان داد (Pizzocaro et al., ۱۹۹۳). در مطالعه روی میوه گرمسیری گواوا (*Psidium guajava* L.) تاثیر اسید سیتریک روی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز خیلی کمتر از اسید آسکوربیک بود (Thipnate & Sukhonthara, ۲۰۱۵). pH پایین عصاره گل‌های ختمی ممکن است منعکس‌کننده محتوای بالایی از اسیدهای آلی مانند اسید سیتریک، اسید مالیک، اسید تارتاریک و اسید اگزالیک باشد. اسیدهای آلی علاوه بر کاهش pH قادر به تشکیل کمپلکس با مس، کوفاکتور پلی‌فنول‌اکسیداز و در نتیجه بر فعالیت آنزیم تأثیر می‌گذارند (Wessels et al., ۲۰۱۴). شاید اسید اگزالیک با اتصال به مس و تشکیل یک کمپلکس غیرفعال-کننده به‌عنوان یک مهارکننده غیررقابتی عمل کند.

در تحقیق حاظر از اسید سیتریک در غلظت‌های ۰/۳، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار استفاده شد. بیش‌ترین اثر مهاری در غلظت ۱ میلی‌مولار در حضور بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار pH ۷ و در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد در حضور پیروگالل ۰/۲ مولار مشاهده شد. تاثیر مهاری اسید سیتریک بر روی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در این تحقیق و نقش آن در جلوگیری از قهوه‌ای شدن آنزیمی با مطالعات قبلی انجام شده همخوانی دارد. بنابراین این ترکیب می‌تواند جهت مهار پلی‌فنول اکسیداز سیب به کار رود.

تحقیقات انجام شده نشان داده‌اند که خصوصیات آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی سبب کاهش آسیب‌های فیزیولوژیکی مانند قهوه‌ای شدن آنزیمی و افزایش زمان ماندگاری سبزی‌ها و میوه‌ها و حفظ کیفیت آنها می‌گردد. در پژوهش‌های سابق انجام شده تاثیر مثبت آویشن کوهی و باغی در کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز توت‌فرنگی اثبات شده است (Jannati et al., ۲۰۱۵). عصاره گل ختمی اثر ضدقهوه‌ای و کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز بر قطعات بریده میوه سیب را نشان داده است. خواص آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌های گل ختمی ممکن است مهار پلی‌فنول‌اکسیداز را توضیح دهد (Wessels et al., ۲۰۱۴). pH پایین عصاره حاصل از گل‌های ختمی ممکن است منعکس‌کننده محتوای بالایی از اسیدهای آلی مانند اسید سیتریک، اسید مالیک، اسید تارتاریک و اسید اگزالیک باشد. همانطور که در قبل گفته شد، اسیدهای آلی علاوه بر کاهش pH قادر به تشکیل کمپلکس با مس، کوفاکتور پلی‌فنول‌اکسیداز و در نتیجه بر فعالیت آنزیم تأثیر می‌گذارند. تاثیر برخی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند در جلوگیری از قهوه‌ای شدن آنزیمی نشان داده شده است (Azzouzi, ۲۰۲۲ و Li et al., ۲۰۱۹). برخی از پلی‌فنول‌ها آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز را به‌صورت رقابتی، غیررقابتی یا با عمل به‌عنوان یک عامل کلات‌کننده مهار می‌کنند. گیاهان دارویی حاوی مقادیر قابل توجهی اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها به ویژه تانن‌های هیدرولیز شونده و متراکم هستند (Wessels et al., ۲۰۱۴). در یک مطالعه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی تیمول در برابر قهوه‌ای شدن پریکارپ و پوسیدگی میوه گرمسیری لونگان (*Dimocarpus longan*) بررسی و نتایج نشان داد که بخور تیمول به شکل معنی‌دار از فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز جلوگیری کرده و پوسیدگی میوه را به عقب انداخت (۲۰۲۱ ,Khan et al). در این تحقیق هر یک از عرقیات کاسنی، شیرین‌بیان و بادرنجبویه با غلظت‌های ۱۰ تا ۵۰ درصد دارای اثر

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]

مهاری بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز بودند. بیش‌ترین تاثیر مهاری در غلظت ۵۰ درصد برای هریک از عرقیات مشاهده شد. تاکنون مطالعه‌ای در مورد تاثیر عرقیات کاسنی، شیرین بیان، بادرنجبویه بر روی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در سیب زرد گزارش نشده است.

نتیجه‌گیری

طبق داده‌های این پژوهش، ترکیبات طبیعی و شیمیایی مورد استفاده دارای اثر مهاری بر روی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز سیب زرد بودند. شناسایی و توسعه عوامل ضد قهوه‌ای شدن میوه‌ها و سبزیجات در صنایع غذایی دارای اهمیت فراوانی است. سلامت انسان، اثربخشی و ارزان بودن از عوامل مهمی هستند که جایگزینی ترکیبات طبیعی با مواد شیمیایی را توجیه می‌کنند. در مقایسه با روش‌های فیزیکی و شیمیایی مختلف برای مهار آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز و حفظ کیفیت و سلامت محصولات میوه‌ای، مواد طبیعی مانند اسانس‌ها و عرقیجات با توجه به داشتن خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارای اهمیت مضاعف هستند. همچنین، علاقه فزاینده‌ای در بین صاحبان صنایع برای بالابردن میزان فعالیت ضد قهوه‌ای شدن در محصولات جانبی و ضایعات غذایی وجود دارد که از آنها استفاده مجدد به عمل آید.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید مدنی آذربایجان و قطب آنتی اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان کمال تشکر را دارند.

References

Azzouzi, N., Bouchaib, A., Britel, M.R. & Maurady, A. 2022. Characterization of polyphenol oxidase (ppo) from blackberry thorny wild *Rubus fruticosus* and its inhibition using natural extracts. Current Research in Nutrition and Food Science Journal 10(3): 1205-1221. doi: 10.12944/CRNFSJ.10.3.33.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254. doi: 10.1006/abio.1976.9999.

Can, Z., Dincer, B., Sahin, H., Baltas, N., Yildiz, O. and Kolayli, S. 2014. Polyphenol oxidase activity and antioxidant properties of Yomra apple (*Malus communis* L.) from Turkey. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry 29: 829-835. doi: 10.3109/14756366.2013.858144.

Chaisakdanugull C, Theerakulkait C, Wrolstad RE. 2007. Pineapple juice and its fractions in enzymatic browning inhibition of Banana [Musa (AAA Group) Gros Michel]. Journal of Agricultural and Food Chemistry: 55(10): 4252-4257. doi: 10.1021/jf0705724.

Cho Y.K., Ahn H.K. 1999. Purification and characterization of polyphenol oxidase from potato: II. Inhibition and catalytic mechanism. Journal of Food Biochemistry 23: 593-605. doi: 10.3390/foods8050154.

Coseteng, M.Y. & Lee, C.Y. 1987. Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. Journal of Food Science 52: 985-989. doi: 10.1111/j.1365-2621.1987.tb14257.x.

De la Rosa, L.A., Alvarez-Parrilla, E., Moyers-Montoya, E., Villegas-Ochoa, M., Ayala-Zavala, J.F., Hernandez, J. & Gonzalez-Aguilar, G.A. 2011. Mechanism for the inhibition of apple juice enzymatic browning by *Palo fierro* (desert ironweed) honey extract and other natural compounds. LWT-Food Science and Technology 44: 269-276. doi: 10.1016/j.lwt.2010.05.030.

Devece, C., Rodriguez-Lopez, J.N., Fenoll, L.G., Tudela, J., Catala, J.M., de los Reyes, E. & Garcia-Canovas, F. 1999. Enzyme inactivation analysis for industrial blanching applications: comparison of microwave, conventional, and combination heat treatments on mushroom polyphenoloxidase activity. Journal of Agricultural and Food chemistry 47: 4506-4511. doi: 10.1021/jf981398.

Dogru, Y.Z. & Erat, M. 2012. Investigation of some kinetic properties of polyphenol oxidase from parsley (*Petroselinum crispum*, Apiaceae). Food Research International. 49: 411-415. doi: 10.1016/j.foodres.2012.07.028.

Duong-Ly, K.C. & Gabelli, S.B. 2014. Salting out of proteins using ammonium sulfate precipitation. Methods Enzymol. 541: 85-94. doi: 10.1016/B978-0-12-420119-4.00007-0.

Guo, L., Ma, Y., Shi, J. & Xue, S. 2009. The purification and characterisation of polyphenol oxidase from green bean (*Phaseolus vulgaris* L.).

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]

Food Chemistry 117: 143-151. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.03.088.

Hamdan, N., Lee, C.H., Wong, S.L., Fauzi, C.E.N.C.A., Zamri, N.M.A. & Lee T.H. 2022. Prevention of enzymatic browning by natural extracts and genome-editing: A review on recent progress. Molecules. 27(3): 1101. doi: 10.3390/molecules27031101.

Hemmler, D., Roullier-Gall, C., Marshall, J.W., Rychlik, M., Taylor, A.J. & Schmitt-Kopplin, P. 2018. Insights into the chemistry of non-enzymatic browning reactions in different ribose-amino acid model systems.Scientific Reports 8: 16879. doi: 10.1038/s41598-018-34335-5.

Honisch, C., Osto, A., de Matos, A.D., Vincenzi, S. & Ruzza, P. 2020. Isolation of a tyrosinase inhibitor from unripe grapes juice: A spectrophotometric study. Food chemistry 305 :125506. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125506.

Jannati, M., Abdossi, V. & Mashhadi Akbar Boujar, M. 2015. Effect of calcium chloride and thyme essential oils application on some postharvest characteristics of strawberry fruit cv. Selva. Agroecology Journal 10: 25-32 (In Persian).

Khan, M.R., Huang, C., Zhao, H., Huang, H., Ren, L., Faiq, M., Hashmi, M.S., Li, B., Zheng, D., Xu, Y., Su, H. & An, J. 2021. Antioxidant activity of thymol essential oil and inhibition of polyphenol oxidase enzyme: A case study on the enzymatic browning of harvested longan fruit. Chemical and Biological Technologies in Agriculture. 8 (61): 1-10. doi: 10.1186/s40538-021-00259-y.

Li, J., Wang, H., Lu, Y., Mao, T.F., Xiong, J., He, S.L. & Liu, H. 2019. Inhibitory effect of tartary buckwheat seedling extracts and associated flavonoid compounds on the polyphenol oxidase activity in potatoes (*Solanum tuberosum* L.). Journal of Integrative Agriculture, 18(9): 2173-2182. doi: 10.1016/S2095-3119(19)62692-4.

Lim, W.Y. & Wong, C.W. 2018. Inhibitory effect of chemical and natural anti-browning agents on polyphenol oxidase from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). Journal of Food Science And Technology 55: 3001-3007. doi: 10.1007/s13197-018-3218-7.

Martinez-Hernandez, G.B., Castillejo, N. & Artes-Hernandez, F. 2019. Effect of fresh cut apples fortification with lycopene microspheres, revalorized from tomato by products, during shelf life. Postharvest Biology and Technology 156:110925. doi: 10.1016/j.postharvbio.2019.05.026

Moon, K.M., Kwon, E.B., Lee, B. & Kim, C.Y. 2020. Recent trends in controlling the enzymatic browning of fruit and vegetable products. Molecules 25:2754. doi: 10.3390/molecules25122754

Nagai, T. & Suzuki, N. 2001. Partial purification of polyphenol oxidase from Chinese cabbage *Brassica rapa* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49: 3922-3926. doi: 10.1021/jf000694v. DOI: 10.1021/jf000694v.

Pizzocaro, F., Torreggiani, D. & Gilardi, G. 1993. Inhibition of apple polyphenoloxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride. Journal of Food Processing and Preservation 17: 21-30. doi: 10.1111/j.1745-4549.1993.tb00223.x.

Serradell, M.D.L.A., Rozenfeld, P.A., Martinez, G.A., Civello, P.M., Chaves, A.R., Anon, M.C. 2000. Polyphenoloxidase activity from strawberry fruit (*Fragaria* x *ananassa*, Duch., cv Selva): Characterisation and partial purification. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80: 1421-1427. doi: 10.1002/1097-0010(200007)80:9<1421::AID-SFA649>3.0.CO;2-K.

Sikora, M., Swieca, M., Franczyk, M., Jakubczyk, A., Bochnak, J. & Złotek, U. 2019. Biochemical properties of polyphenol oxidases from ready-to-eat lentil (*Lens culinaris* medik.) sprouts and factors affecting their activities: A search for potent tools limiting enzymatic browning. Foods. 8 (5): 154. doi: 10.3390/foods8050154.

Soysal, C. 2009. Effects of green tea extract on golden delicious apple polyphenoloxidase and its browning. Journal of Food Biochemistry 33 (1): 134-148. doi: 10.1111/j.1745-4514.2008.00201.x.

Strelec, I., Burić, P., Janković, I., Kovač, T. & Molnar, M. 2017. Inhibitory effect of coumarin derivatives on apple (cv. Idared) polyphenol oxidase. Croatian Journal of Food Science and Technology9:57-65. doi: 10.17508/CJFST.2017.9.1.08.

Sullivan, M.L. 2015. Beyond brown: Polyphenol oxidases as enzymes of plant specialized metabolism. Frontiers in Plant Science 14; 5:783. doi: 10.3389/fpls.2014.00783.

Thipnate, P. & Sukhonthara, S. 2015. Control of enzymatic browning in apple and potato purees by using guava extract. Science, Engineering and Health Studies 9(2): 59-68.

Tsikrika, K., Lemos, M.A., Chu, B.S., Bremner, D.H. & Hungerford, G. 2022. Effect of ultrasound on the activity of mushroom (*Agaricus bisporous*) polyphenol oxidase and observation of structural changes using time-resolved fluorescence. Food and Bioprocess Technology 15: 656-668. doi: 10.1007/s11947-022-02777-5.

Valero, E., Varon R. & Garcia-Carmona F. 1992. Kinetic study of the effect of metabisulfite on polyphenol oxidase. Journal of Agricultural and

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]

Food Chemistry 40 (5): 904-908. doi: 10.1021/jf00017a042

Walker, J.R. & Ferrar, P.H. 1998. Diphenol oxidases, enzyme-catalysed browning and plant disease resistance. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews 15: 457-498. doi: 10.1080/02648725.1998.10647966.

Wessels, B., Schulze-Kaysers, N., Damm, S., & Kunz, B. 2014. Effect of selected plant extracts on the inhibition of enzymatic browning in fresh-cut apple. Journal of Applied Botany and Food Quality 87: 16-23. doi: 10.5073/JABFQ.2014.087.003.

Wong, C.W. & Lee A.P.L. 2014. Inhibitory effect of onion extract on cassava leaf (*Manihot esculenta* Crantz) polyphenol oxidase. International Food Research Journal 21(2): 755-758.

Yoruk, R. & Marshall, M.R. 2003. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review 1. Journal of Food Biochemistry 27: 361-422. doi: 10.1111/j.1745-4514.2003.tb00289.x.

Zhang, S. 2023. Recent Advances of polyphenol oxidases in plants. Molecules 28(5): 2158. doi: 10.3390/molecules28052158.

*****

How to cite this article:

Chaparzadeh N, Ali-Pashaei-Dehkhargani M & Zarandi-Miandoab L 2024**.** The effect of some chemical and natural compounds on polyphenol oxidase activity from apple fruits. Nova Biologica Reperta 11: 1-14. (In Persian).

چاپارزاده. ن، علی پاشائی دهخوارقانی. م، زرندی میاندوآب. ل. ۱۴۰۳. تاثیر برخی ترکیبات شیمیایی و طبیعی بر فعالیت پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۱: ۱۴-۱

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-09-20]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.1]