قسم علوم الأغذية
المادة : كيمياء الأغذية
الجزء العملي

المرحلة الثالثة
المحاضرة التاسعة
مدرس المادة: م.م. مناف أكرم قاسم

كيمياء الاغذية

المرحلة الثالثة

الجزء العملي

المحاضرة التاسعة

عنوان المحاضرة : أنزيم البيروكسيديز

Title of the lecture: Peroxidase Enzyme

أنزيم البيروكسيديز Peroxidase Enzyme

ينتمي انزيم البيروكسيديز الى المجموعة الاولى لمجاميع الانزيمات Oxidoreductase والتي تشمل انزيمات الاكسدة والاختزال ويجري تخليقه في سيتوبلازم الخلية و ينتشر بشكل واسع في جدران الخلايا النباتية بصورة ذائبة او مرتبطة بشكل ايوني او تساهمي وله العديد من المتناظرات الانزيمية القاعدية والحامضية والتي تختلف في نقطة التعادل الكهربائي ومحتوى الاحماض الامينية والكربوهيدرات والوزن الجزيئي، و يصنف هذا الانزيم ضمن مجموعة الانزيمات المحتوية على المعادن Metaloprotein ويمثل الحديد المجموعة المرتبطة Prosthetric، اذ يرتبط بالاحماض الامينية الموجودة في الموقع الفعال باصرة تناسقية ارتباطا قويا، ويؤدي فك ارتباط هذه المجموعة الى فقدان فعالية الانزيم لدورها الكبير في ثبات الانزيم والمحافظة على فعاليته, ويحتوي الانزيم على مواد كاربوهيدراتية بنسب متفاوتة تختلف باختلاف نوع الانزيم و تؤثر هذه المواد في الصفات المميزة للانزيم كالوزن الجزيئي والثبات الحراري فالبيروكسيدات الحامضية التي تتجمع على جدار الخلية النباتية تكون ذات محتوى عال من الكربوهيدرات اما البيروكسيدات القاعدية والتي تتجمع داخل الخلايا فانها تكون ذات محتوى واطئ من الكربوهيدرات, واظهرت الدراسات التحليلية على انزيم البيروكسيديز المنقى من الفجل البري احتوائه على كاربوهيدرات بنسبه (21%) وهي عبارة عن سكريات مختلفة مثل الهكسوز والبنتوز والزايلوز والمانوز والكلوكوز امين لذلك صنف هذا الانزيم بانه احد البروتينات السكرية glycoprotein.

الية تفاعل انزيم البيروكسيديز Peroxidase Enzyme Reaction Mechanism

يعرف هذا الانزيم بانه الانزيم الذي يعمل عاملا مساعدا في التفاعل التالي:

$$ROOH + AH_2 \longrightarrow H_2O + ROH + A$$

وتعتمد الية عمل الانزيم على وجود عدد من المواد المستقبلة للهيدروجين مثل بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 او اي بيروكسيد عضوي مثل بيروكسيد الهيدروجين الاثيلي او بيروكسيد الهيدروجين المثيلي وتمثل ROOH مادة مستقبلة للهيدروجين اما المادة الواهبة للهيدروجين (Hydrogen doner) فقد تكون الفينولات او الامينات او المركبات العضوية الاخرى وتمثل AH_2 ماده واهبة للهيدروجين و A تمثل المادة القابلة المؤكسدة Oxidized acceptor.

مصادر الانزيم Enzyme Sources

يعد انزيم البيروكسيديز من الانزيمات المتوفرة في جميع النباتات الراقيه مثل ثمار البابايا والشليك والكيوي والطماطم والفاصوليا الخضراء والخيار والقرنبيط و درنات البطاطا و اوراق الفلفل الحار وسعف النخيل والرشاد والسلق ويعد الفجل البري من المصادر الرئيسية لانزيم البيروكسديز، ويوجد الانزيم في الحليب باسم Lactoperoxidase .

خصائص الانزيم Enzyme Properties

يقدر الوزن الجزيئي بيروكسيديز الفجل حوالي 40000 دالتون و للانزيم ثباتية عالية في اس هيدروجيني تتراوح بين (2 – 14) وله ثباتية عالية تجاه الحرارة وتدعى عملية التثبيت الحراري للبيروكسيديز بعملية ثنائية الطور Biphasic heat اي ان للانزيم القدرة على استعادة فعاليته Regeneration والتي تعتمد على عدة عوامل منها شدة المعاملة الحرارية وظروف الخزن وهذا ما يميز البيروكسيديزات عن الكثير من الانزيمات الاخرى، اذ لوحظ ان الانزيم له القدرة على استرجاع فعاليته عند الخزن فقد استعاد الانزيم المعرض الى درجة حرارة (100، 120، 140 160 م°) على التوالي لمدة (5 دقائق) الفعالية بنسبة (4%، 3.6%، 2.3%، 0.17 %) بعد (24 ساعة) ولانزيم البيروكسيديز ارتباط شديد بالنكهة في الخضروات غير المسلوقة.

الأهمية التطبيقية للبيروكسيديزات Applied importance of Peroxidases

تمتاز انزيمات البيروكسيديز بتخصصها العالي تجاه العديد من مواد الاساس, فضلا عن سهولة وسرعة اجراء تفاعلاتها مما اكسبها اهمية متميزة لاستخدامها في مجال التطبيقات الصناعية والطبية والمختبرية. يستخدم انزيم البيروكسيديز في مجال علوم الاغذية كمؤشرا على كفاءة عملية السلق الحراري Blanching للفواكه والخضروات وذلك لانه يقاوم درجات الحرارة العالية، اذ وجد ان البيروكسيديز يحتفظ بنصف فعاليته بعد وضعه على درجة حرارة (85 م°) لمدة (32 دقيقة). وان تحطم انزيم البيروكسيديز يعطي دلالة واضحة على تحطم الكثير من الانظمة الانزيمية الاخرى, ووجد ان القضاء على فعالية انزيم البيروكسيديز في الخضروات يؤدي الى اطالة مدة حفظها و يعد مؤشرا على كفاءة السلق الحراري للبزاليا والفاصوليا الخضراء والقرنابيط.

اما في مجال صناعه الالبان فيعد نظام Lactoperoxidase (LPS) من الانظمة المعروفة والتي تستخدم على نطاق واسع لايقاف نمو الاحياء المجهرية المسببة لتلف الحليب ومنتجاته وتكاثرها وزيادة مدة حفظها من خلال توافر H_2O_2 والثايوسيانيت (SCN^-) لانزيم (LPO) الموجود في الحليب، اذ ان فعل الانزيم يعتمد على قدرته في اكسدة الثايوسيانيت بواسطة (H_2O_2) لانتاج مركبات وسطية هايبوسيانيت ($OSCN^-$) ذات الفعل المضاد للبكتريا المسببة لتلف الحليب.

$$SCN^- + H2O2 \rightarrow OSCN^- + H2O$$

استخلاص انزيم البيروكسيديز Peroxidase Enzyme Extraction

تعد عملية استخلاص البيروكسيديزات من الانسجة النباتية من الطرق السهلة نسبيا، اذ بالامكان اجراءها بخلط اجزاء النبات مع محلول الاستخلاص المناسب بنسب مختلفة وباستخدام خلاط كهربائي Blender , الا ان قسما من البيروكسيديزات يمكن ان تكون مرتبطة مع اغشية الخلايا او الجدار الخلوي نظرا لوجود هذه الانزيمات بشكلين احدهما ذائب والاخر مرتبط بشكل ايوني او تساهمي بجدار الخلية، لذا فانه من الضروري اضافة عامل مساعد الى محاليل الاستخلاص لغرض فك هذه الارتباطات وقد ركزت اغلب الدراسات على استعمال املاح ($NaCl, CaCl_2, LiCl_2$) و بتراكيز تتراوح بين(0.1 - 0.2) مولاري.

طريقة العمل للمعاملة الحرارية:

1- يؤخذ (10) غم من نسيج النبات ويضاف له (50) مل من الماء المقطر

2- يسخن في حمام مائي على درجة حرارة (65 م°) لمدة دقيقة واحدة بعد ذلك يبرد

3- يخفف المزيج باضافة (100) مل من محلول البفر ثم يمزج جيدا ويرشح

4- يؤخذ (1) مل من الراشح ويضاف له (1) مل ماء و(1) مل من الكاياكول ويترك لمدة خمس دقائق

5- بعد ذلك تقاس الامتصاصية للمحلول على طول موجي (420) نانوميتر.

يحدد نشاط الانزيم عن طريق المعادلة التالية:

البيروكسيديز (غم) للعينة = الامتصاصية على (420) نانوميتر/ وزن العينة(غم)× (1مل) من الراشح×التخفيف

النسبة المئوية للتثبيط= الفعالية للمعاملة الاولى- الفعالية للمعاملة الثانية × (100) /الفعالية للمعاملة الاولى

قسم علوم الأغذية **المرحلة الثالثة**

المادة : كيمياء الأغذية **المحاضرة التاسعة**

الجزء العملي **مدرس المادة: م.م. مناف أكرم قاسم**

خطوات العمل للمعاملة الاعتيادية (بدون استخدام الحرارة)

1- يؤخذ (10) غم من نسيج النبات ويضاف له (100) من محلول البفر.

2- يمزج جيدا بواسطة خلاط.

3- يرشح المزيج بواسطة ورقة ترشيح او باستخدام النبذ المركزي.

4- يؤخذ (1) مل من الراشح ويضاف له (1) مل من الماء و(1) مل ما الكاياكول.

5- يترك المزيج لمدة (5) دقائق ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موجي (420) نانوميتر.

ادناه فيديو توضيحي يبين طريقة استخلاص الانزيم وقياس فعاليته

https://www.youtube.com/watch?v=RxeDMF9533o

المصادر

- **محاضرات كيمياء الاغذية – الجزء العملي – الدكتورة ايناس مظفر**
- **كتاب كيمياء تحليل الاغذية – الدكتور محمد امين عبدالله – الدكتور ممدوح القليوبي – الدكتور محمد مجدي خلاف**
- **كتاب كيمياء الاغذية – الدكتورة ملداء الأتاسي**
- **كتاب كيمياء الاغذية – الدكتور محمد مصطفي صفوت**

Queiroz, C., Mendes Lopes, M. L., Fialho, E., & Valente Mesquita, V. L. (2008). Polyphenol oxidase: characteristics and mechanisms of browning control. Food reviews international, 24(4), 361-375.