روش ساده اسپکتروفوتومتری برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پکتین استراز پوست پرتقال

دردی فوچی و سید احسان موسوی

چکیده

هدف از این پژوهش استفاده از روشی ساده برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پکتین استراز در دمای 25 درجه سانتی‌گراد است. پرتابل رشد در حالت زمستان از فرخورشید، محلی تهیه شد. پنج گرم پوست پرتقال در محلول 10 درصدی مسید کارابه و با قرار دادن سه جفت 100 میلی‌لیتری متساوی‌جهت، مخلوط می‌پزند. بعد از 2 دقیقه سانتریفسپوز شده و محلول و روبی جمع آوری و توسط سوژه pH میلی‌لیتری در ترشح pH/200 درد می‌پذیرد. جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج 410 نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر قرار داده و قیمت تغییرات گردید. فعالیت آنزیم پکتین استراز بر حسب میکرومول تولید شده در هر دقیقه در محیط pH مورد بررسی قرار می‌گیرد. مقدار pH نمونه افزایش یافته با توجه به مقدار pH میلی‌لیتری تغییر می‌کند.

واژه‌ها: کلیدی: پکتین، فعالیت پکتین استراز، روش اسپکتروفوتومتری

مقدمه

پکتین از مونومرهای اسید گلاکتuronsیک و گلاکتuronsیک می‌باشد. همچنین، پکتین با فعالیت آنزیم‌های گروه پکتین استراز، کمک می‌سازد. تجزیه پکتین در سازمان‌های گیاهی کامل دندان و ریشه میوه، نشان دهنده و پایداری محصولات غذایی نشان دهنده مهمی‌تاریخی دارد (1). آنزیم پکتین استراز بر پکتین اثر کرده و گروه‌های کربوهیدرات آزاد را بلوک می‌نماید.

به ترتیب دانشیار بیوشیمی و مربی مکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی پایتخت 1
پکت‌های استراز طراحی شدند تا بزدح‌تر یکه روش اسکروتونومی براي اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پکت استراز مواد استفاده قرار گرفت. در نتیجه فعالیت آنزیم پکت استراز اندازه‌گیری شد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

پرتابل از فروشگاه‌های مالی مازندران در فصل زمستان تهیه شد. نمک طعام، فسفات بیانیسی، سورد، پکتین استراز، اکلی اسید پیزیک، آمینوئتوکسین، آم‌سید و پروئتین بی‌پرویک اسید از شرکت سیگما تهیه گردید. دیگر مواد شیمیایی و محلول‌ها در حد آزمایشگاهی بوده و از شرکت مرکز تهیه شدند.

روش آزمایش

پوست پرتابل گرفته شد و پنج گرم آن در بخار فسفات 95 درصد و محلول نمک طعام 10% (W/V) در دمای 70 درجه سانتی‌گراد هم‌زیستی گردید. سپس هموزن تهیه شد و در محلول رویی حاصل به یک لوله آزمایش میکرو‌پرتابل با pH 7/4 مقدار پنج میکروگرم پکتین مقدار ثابتی در دمای 20000xg به مدت 30 دقیقه سانتی‌فیوژ شد. محلول رویی حاصل به یک لوله آزمایش میکرو لیت دانه‌ای تهیه شد. سپس از آن مقدار پنج میکروگرم پکتین 20 میلی‌متر لیتر از مصرف آتومیک پرتابل 3/0 میلی‌متر لیتر از ام‌هیدرونکس پروئیک اسید پنج میلی‌متر در لیتر و 5/0 واحد از پراکسیداز برای انگیم هر آزمایش به هر میلی‌لیتر محلول رویی حاصل افزوده شد و محلول به مدت 10 دقیقه در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گرم‌گاز کاری شد.

در این آزمایش، پکت‌های تتوست پکت استراز به ممالی و پکت‌های بدون شد و مثال حاصل تتوست تکی اسید با فرم آلدید و آمینوتتوکسین تتوست گردید و تتوست آنزیم پراکسیداز در حضور مصرف آمینوئتوکسین پرتابل 5 میلی‌متر اسید به به کینواین تتوست شد. در طول متوسط 48 ساعت، جذب هر
نموندای ۱ محسوب جیلیرایانی فعالیت آنزیم در عمق های مختلف میکرومول در میلی لتر (ارائه شده و حاصل شکار تکرار آزمایش است).

نموندای ۲ محسوب جیلیرایانی فعالیت آنزیم در هر یک از نقاط به صورت میکرومول در میلی لتر (ارائه شده و حاصل شکار تکرار آزمایش است).

نموندای ۳ فعالیت آنزیم در pH های مختلف (هر یک از نقاط به صورت میکرومول در میلی لتر (ارائه شده و حاصل شکار تکرار آزمایش است).

نموندای ۴-انوآنتیپروپین به کینو تیک در و با روش اسپرائوتوری اندازه‌گیری گردید. منحنی کلیرایانی فعالیت آنزیم پکیع-اتراز پروست پرتنال بر حسب تغییرات pH عمق جیلیرایانی داده شده است. همان‌گونه که در این نموندای دیده می‌شود، تا حدود ۱۰ میکرومول در میلی لتر، منحنی به صورت خمی است که در حدود pH ۱۳ گستردگی pH نمودار است.
جدول ۱: فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول مانندول تولیدی شده در میلی‌لیتر در دقیقه، در نمونه‌های مختلف نهایه شده از پوست پرترقال

<table>
<thead>
<tr>
<th>شماره آزمایش</th>
<th>حجم نمونه (میلی‌لیتر)</th>
<th>فعالیت آنزیم (میکرومول در میلی‌لیتر در دقیقه)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>۱</td>
<td>۱</td>
<td>۰/۰۵±۱۰</td>
</tr>
<tr>
<td>۲</td>
<td>۲</td>
<td>۰/۰۲±۱۴</td>
</tr>
<tr>
<td>۳</td>
<td>۳</td>
<td>۰/۰۷±۱۰</td>
</tr>
<tr>
<td>۴</td>
<td>۴</td>
<td>۰/۰۸±۱۰</td>
</tr>
<tr>
<td>۵</td>
<td>۵</td>
<td>۰/۰۹±۱۰</td>
</tr>
<tr>
<td>۶</td>
<td>۶</td>
<td>۰/۰۲±۱۰</td>
</tr>
</tbody>
</table>

روش حاضر در مقایسه با روش‌های دیگر (۱۳۲۳) مراحل آزمایش کاملاً دارد و زمان و هزینه کمتری صرف می‌شود. همچنین، معروف ۴-آمینوبیزنیرین و ام-هیدروکسی بنزویک اسید در حضور آنزیم پراکسیداز و تبدیل آب اکسیژن به ترکیب رنگی کیتون در این پژوهش برای اولین بار در اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پک‌سیزیوم پوست پرترقال مورد استفاده قرار گرفت. روش اسپکتروفوتومتری استفاده شده در این آزمایش، مقادیر ضروری آزاد شده در طی واکنش انجام شده را از مقدار ۱۰۰ میکرومول در لیتر استاندارد گیری می‌کند و مقدار با کالیبراسیون تعیین می‌شود. مقدار ۰ میکرومول در میلی‌لیتر به صورت خطي است (منحنی ۱). می‌توان از این روش برای اندازه‌گیری pH و تغییرات غلظتی سلول‌های خون بهره‌برداری کرد. در روش‌های که اندازه‌گیری pH و تغییرات غلظتی سلول‌های خون بهره‌برداری کرد، حجم محلول ZF (حداقل یک میلی‌لیتر) و مقدار مواد دیگر مورد قرار می‌گرفت. حجم محلول ZF (حداقل ۱۰۰ میکرومول) در لامست (۱۱) در حالی که در روش حاضر مواد دیگر مورد قرار می‌گرفت.

بحث

در صنعت تبدیل پروتئین ها با محول موی‌ها توسط آنزیم پک‌سیزیوم، مفید و پیشین می‌باشد. این روش برای اندازه‌گیری در راه اندازی یک سایت در حضور آنزیم پک‌سیزیوم و با از طریق اندازه‌گیری مانگ آلایند شده صورت می‌گرفت. در روش شرح داده شده در این پژوهش، پروتئین‌های استریو توانان‌های آنزیمی پک‌سیزیوم هیدرولیز گردید و در ضرایب بسیار کمی کار می‌کردند. این روش با استفاده از الکترود نیمه‌رسانده به فرم آندید و آکسیژن در آمیخته‌ای مساحت تولیدی شده با استفاده از الکترود آتانه زده شد. در پژوهش، در ضرایب اکسیژن زده شده با استفاده از ـ۱۴ آمیアンات پرپروسک ای و ام-هیدروکسی بنزویک آسیب در حضور پراکسیداز به کلپین و آب تبدیل گردید. در این پژوهش، محولاً هره شده توسط استریوپرپروسک در اندازه‌گیری شد.
روش ساده اسیکتروفوتومتری برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پکتین اسたりاز پست پرتقال

نادرد، زیرا اسیکتروفوتومتر در همه آزمایشگاه‌ها موجود است (11، 12 و 13). از روش استفاده شده در این پژوهش می‌توان برای اندازه‌گیری فعالیت دیگر آنزیم‌های دسته استراز استفاده کرد.

حجم سوستراپی کم (1/110 میلی‌لیتر) نیاز دارد. این روش نسبت به روش‌های دیگر حساس، دقیق (0/05-0/049 میکرومول در میلی‌لیتر در دقیقه)، و از نظر اقتصادی، با توجه به مراحل کم و زمان کمتر، بسیار مناسب است و به تجهیزات پرهرزنی نیاز می‌مند.