پلی فنل اکسیداز: قهوه‌ای شدن آنزیمی در میوه و سبزیجات

مانی جباری[1*] و میترا جباری[2]

[1] **ایران، بیرجند، دانشگاه بیرجند، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و مهندسی باغبانی**

[2] **ایران، گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده تولید گیاهی، گروه علوم و مهندسی باغبانی**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۳

چکیده

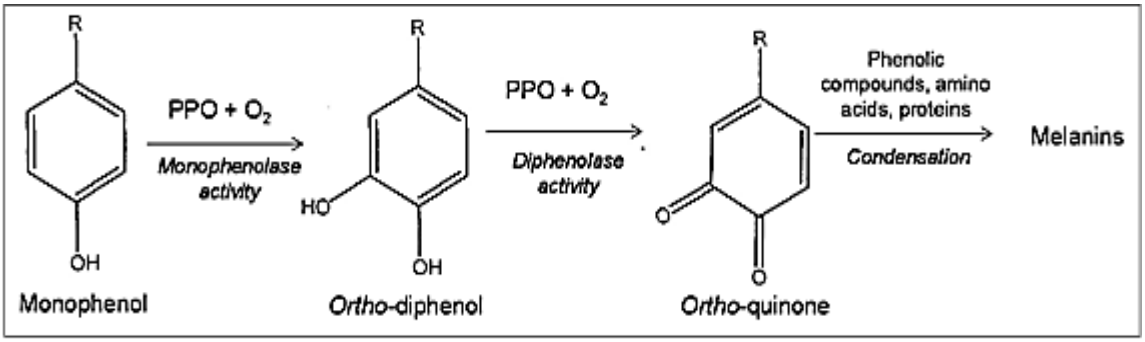
آنزیم پلی فنل اکسیداز، از یک آنزیم حاوی اتم مس است که در حیوانات مسئول متابولیسم و بیوسنتز ملانین و در گیاهان باعث تولید رنگیزه‌های زرد، قهوه‌ای یا سیاه می‌شود، که در نتیجه بر کیفیت تغذیه‌ای آنها تاثیر می‌گذارد. این آنزیم، نقش مهمی در مقاومت به تنش گیاه و متابولیسم فیزیولوژیکی دارد. قهوه ای شدن آنزیمی، یکی از مهمترین واکنش‌های رنگی است که میوه‌ها و سبزیجات را تحت تاثیر قرار می‌دهد. با این حال، واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی، ناشی از پلی فنل اکسیداز یک مشکل عمده در تولید، برداشت و ذخیره‌سازی میوه‌ها و سبزیجات است. در صنایع غذایی جهت افزایش طول عمر سبزیجات و میوه‌جات و جلوگیری از فساد و پوسیدگی آنها مبادرت به طراحی مهارکننده‌های مختلف برای این آنزیم می‌نمایند. فعالیت این آنزیم برای ایجاد رنگ سیاه یا قهوه‌ای در چای و قهوه که نقش تغذیه‌ای دارند ضروری است. پلی فنل اکسیدازها، آنزیم‌هایی هستند که قادرند ترکیبات فنلی را به اورتو کینون‌ها، اکسید و باعث قهوه‌ای شدن بافت محصولات گیاهی، ایجاد ظاهری نامناسب و کاهش کیفیت شوند. این تاثیر منفی، بر رنگ (ملانین)، طعم، خواص تغذیه‌ای و ماندگاری محصولات تاثیر منفی می‌گذارد. قهوه‌ای شدن، معمولاً توسط پلی فنل اکسیدازها به دنبال آسیب سلولی ناشی از پیری، زخم و حمله آفات و عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌شود. پلی فنول اکسیدازها آنزیم‌هایی بسیار مهم در رابطه با تعیین کیفیت مواد غذایی هستند. بدلیل ایجاد اثرات نامطلوبی که روی خواص ظاهری و کیفیت محصول می‌گذارد، شناسایی آنزیم پلی فنل اکسیدازها و چگونگی رفتار آن در دماها، pH و سایر شرایط مختلف می‌تواند در جلوگیری از فعالیت این آنزیم و نهایتاً جلوگیری از قهوه ای شدن آنزیمی موثر باشد

واژه‌های کلیدی: باغبانی، پس از برداشت، ملانین، ژن

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: mani.jabbari.mp@gmail.com

مقدمه

پلی فنل اکسیداز (PPO) یک فنولاز حاوی مس است که در اکثر حیوانات، گیاهان (در *Arabidopsis thaliana*، *Brassica napus* و جلبک‌های سبز یافت نمی‌شود) و میکروارگانیسم‌ها کشف شده است (۱). در گیاهان، پلی فنل اکسیداز، توسط چندین ژن از ژنوم هسته‌ای کدگذاری می‌شود. ژن‌های (StPOTP1, StPOTP2, StPOT32, StPOT33, StPOT72, StuPPO5–StuPPO9) از سیب زمینی جدا شدند (۲). همچنین چهار ژن پلی فنل اکسیداز (*BPO1*, *BPO11*, *BPO34*, *BPO35*) در موز جدا شدند (۳). گوجه‌فرنگی حاوی هفت ژن پلی فنل اکسیداز است (۴). در حالی که فقط یک ژن پلی فنل اکسیداز در خیار یافت شد (۵). بیشترین تعداد ژن پلی فنل اکسیداز در مریم گلی وجود دارد که شامل ۲۶ عدد است (۶). براساس ویژگی سوبسترا و حالت عمل، معمولاً پلی‌فنل اکسیداز را به تیروزیناز (EC 1.14.18.1)، کاتکول اکسیداز (EC 1.10.3.1) و لاکاز (EC 1.10.3.2) تقسیم بندی می‌کنند (۷). پلی فنل اکسیداز دو واکنش مهم را کاتالیز می‌کند،: مونوفنل به o-دیفنل هیدروکسیله و o-diphenol به o-quinone اکسید می‌شود (۸). سپس، o-quinone بیشتر پلیمریزه شده و با اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها متراکم تا مواد قهوه‌ای رنگ تولید شود (شکل ۱) (۹). پلی فنل اکسیدازها در گونه‌های مختلف گیاهی دماهای بهینه متفاوتی را نشان دادند، اکثر آنها در محدوده ۳۰ تا ۵۰ درجه سانتیگراد بودند (۱۰).



شکل ۱- فرآیند قهوه ای شدن پلی فنل اکسیدازها (۱۱).

معمولاً در طول فرآیند پس از برداشت، قهوه‌ای شدن آنزیمی مرتبط با پلی‌فنل‌اکسیداز نامطلوب است، که موجب، کاهش کیفیت میوه و سبزیجات باغی می‌شود (۱۲). طبق آمار، قهوه ای شدن باعث از بین رفتن حدود ۵۰ درصد از میوه‌ها و سبزیجات در طول فرآوری می‌شود (۱۳). پلی فنل اکسیداز، نقش مهمی در فیزیولوژی گیاه دارد و برای گیاهان برای مقاومت در برابر میکروارگانیسم‌ها و حشرات گیاه‌خوار بسیار مهم می‌باشد (۱۴). گوجه‌فرنگی‌هایی با بیان بالای پلی فنل اکسیداز مقاومت بیماری را بطور قابل‌توجهی نسبت به باکتری *P. syringae* نشان دادند (۱۵). علاوه بر این، محققان دریافتند که پلی فنل اکسیداز، نقش مثبتی در افزایش مقاومت در برابر کرم *Helicoverpa* armigera و *Spodoptera exigua* در گوجه‌فرنگی دارد (۱۶). محققین گزارش کردند که فعالیت پلی فنل اکسیداز با کرم‌های میوه همبستگی منفی دارد (۱۷).

توزیع و دامنه عملکردی پلی فنل اکسیداز

پلی فنل اکسیداز در ریبوزوم تولید و به شکل یک زیموژن در حالت غیرفعال (نهفته) وارد پلاستید می‌شود (۱۸). محتوای پلی فنل اکسیداز در بافت‌های جوان بیشتر از بافت‌های بالغ و پیر است (۶). پلی فنل اکسیداز در غده‌ها عمدتاً توسط ژن *StPOT32* کدگذاری می‌شود، در حالی که در ریشه، از ژن *StPOT72* مشتق می‌شود (۱۹). فعالیت پلی‌فنل اکسیداز در میوه‌های زیتون به‌طور معنی‌داری بیشتر از برگ‌ها می‌باشد و سطوح پروتئین پلی فنل اکسیداز بطور قابل توجهی در طول فرآیند رسیدن زیتون افزایش می‌یابد (۲۰).

شرایط بهینه پلی فنل اکسیداز

پلی فنل اکسیداز در گیاهان مختلف ویژگی‌های متفاوتی از خود نشان می‌دهد و حتی در قسمت‌های مختلف یک گیاه یا در دوره‌های مختلف رشد متفاوت است.

pH بهینه پلی فنل اکسیداز

شرایط اسیدی و قلیایی منجر به کاهش فعالیت کاتالیزوری پلی فنل اکسیداز می‌شود (۲۱). معمولاً pH بهینه پلی فنل اکسیداز در گیاهان به بستر و گونه اصلی آن بستگی دارد (۲۲). در عین حال، pH بهینه بیشتر پلی فنل اکسیداز خنثی است، در حالی که تعداد کمی اسیدی است (جدول ۱) (۲۳).

جدول ۱- pH بهینه پلی فنل اکسیداز در گیاهان مختلف (۲۵).

نام علمی	بستر	pH بهینه
Irvingia gabonensis	کاتکول	۷
Solanum lycopersicum	کاتکول	۷
Ipomoea batatas L. Lam	کاتکول	۷
Annona muricata L	کاتکول	۶/۵
Dioscorea alata	کاتکول	۶
Areca catechu L	کاتکول	۷
Prunus armeniaca L	کاتکول	۴/۵
Amorphophallus paeoniifolius	کاتکول	۶
Prunus domestica	کاتکول	۶
Colocasia esculenta L	کاتکول	۶/۸
Pyrus nivalis	کاتکول	۴/۵
Vitis vinifera L	۴- متیل کاتکول	۵

البته روش‌های استخراج، محیط و بسیاری از عوامل دیگر باعث ایجاد نوساناتی در pH بهینه آنها می‌شود (۲۴).

دمای بهینه پلی فنل اکسیداز

دما عامل مهم دیگری است که بر فعالیت کاتالیزوری پلی فنل اکسیداز تأثیر می‌گذارد، زیرا بر حلالیت اکسیژن تأثیر و ممکن است منجر به دناتوره شدن آنزیم شود (۲۶). پلی فنل اکسیداز، در شرایط دمای بسیار پایین و بالا غیرفعال خواهد شد (۲۱). عوامل متعددی بر نقش دما در قهوه‌ای شدن آنزیمی تأثیر می‌گذارد. برای مثال سرعت واکنش‌های قهوه‌ای شدن آنزیمی، با هر ۱۰ درجه سانتیگراد افزایش دما، قبل از رسیدن به دمای بهینه تقریباً دو تا سه برابر افزایش می‌یابد (۱۰). دمای بالاتر ساختار سه بعدی پلی فنل اکسیداز را از بین می‌برد و فعالیت کاتالیزوری آن را کاهش می‌دهد (۱). غلظت اکسیژن محلول، که تحت تأثیر تغییرات دما قرار می‌گیرد و بر سرعت قهوه‌ای شدن آنزیمی تأثیر می‌گذارد (۲۴). دمای مطلوب برای پلی فنل اکسیداز پوست میوه *Irvingia gabonensis* که در مناطق استوایی رشد می‌کند، ۵۰ درجه سانتیگراد است (۲۷). در حالی که دمای مطلوب برای پلی فنل اکسیداز سوسن مقاوم به سرما ۱۵ درجه سانتیگراد است (۲۸).

جدول ۲- دمای بهینه پلی فنل اکسیداز در گیاهان مختلف (۲۵).

دما بهینه	بستر	نام علمی
۵۰	کاتکول	*Irvingia gabonensis*
۵۰	کاتکول	*Solanum lycopersicum*
۲۵	کاتکول	*Annona muricata* L
۳۵	کاتکول	*Dioscorea alata*
۳۰-۲۰	کاتکول	*Ipomoea batatas* L. Lam
۲۰	کاتکول	*Areca catechu* L
۴۵	کاتکول	*Prunus armeniaca* L
۳۵	کاتکول	*Vaccinium corymbosum* L
۳۵	کاتکول	*Malus domestica*
۳۵	کاتکول	*Amorphophallus paeoniifolius*
۲۵	کاتکول	*Prunus domestica*
۳۰	کاتکول	*Colocasia esculenta* L
۳۰	کاتکول	*Pyrus nivalis*
۳۰	۴- متیل کاتکول	*Vitis vinifera* L

بستر و وزن مولکولی پلی فنل اکسیداز

فعالیت کاتالیزوری پلی فنل اکسیداز، تحت تأثیر زنجیره جانبی، تعداد گروه‌های هیدروکسیل و موقعیت روی حلقه بنزن ترکیبات فنلی است (۲۹). سوبسترای پلی فنل اکسیداز نسبت به دی‌فنول‌ها و تری فنل‌ها مطلوب‌تر هستند. به عنوان مثال، زمانی که کاتکول به عنوان سوبسترا انتخاب شد، فعالیت نسبی پلی فنل اکسیداز در گیاه *Amorphophallus paeoniifolius* بسیار بیشتر از مونو فنل‌ها بود (۳۰). محققین تفاوت محتوای فنل درونی زردآلو را قبل و بعد از قهوه‌ای شدن بررسی کردند و بیان داشتند که کاتچین‌ها و مشتقات دیمری آن‌ها ترکیبات اولیه پلی فنل اکسیداز زردآلو هستند (۳۱). وزن مولکولی پلی فنل اکسیداز گیاهان از ۲۷ تا ۱۴۴کیلو دالتون متغیر است و بیشتر آنها بین ۳۵ تا ۷۰ کیلو دالتون قرار دارند (۳۲). بطورکلی، وزن مولکولی پلی‌فنل اکسیداز توسط SDS-PAGE و Native-PAGE پس از خالص‌سازی آن تعیین می‌شود که یک باند پروتئینی واحد را نشان می‌دهد (۳۲). وزن مولکولی پلی فنل اکسیداز در *Pueraria lobata* حدود ۲۱ کیلو دالتون (۳۳) و در *Terfezia arenaria* به ۶۷ کیلو دالتون می‌رسد (۲۲).

جدول ۳- وزن مولکولی پلی فنل اکسیداز در گیاهان مختلف(۲۵).

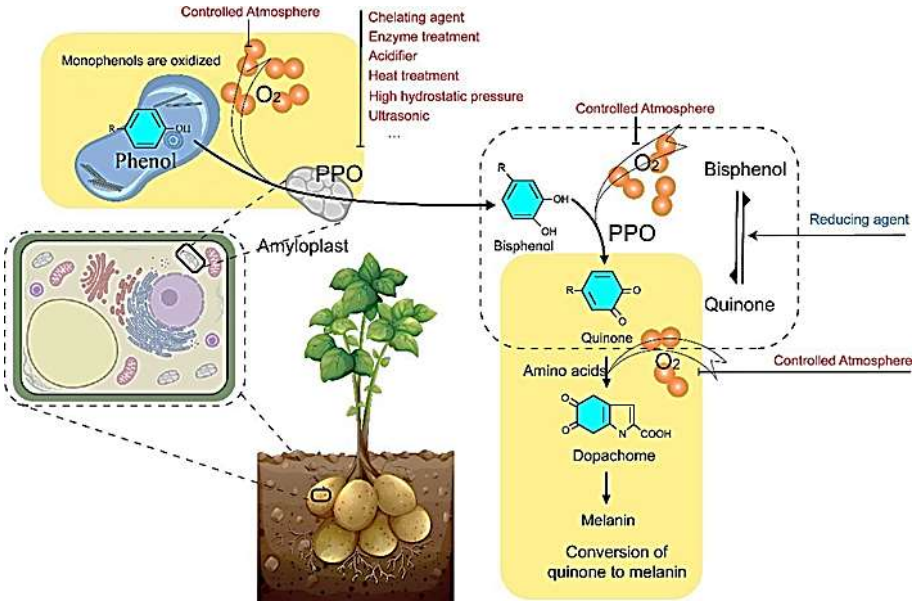
نام علمی	وزن مولکولی (کیلو دالتون)
Irvingia gabonensis	۵۳
Foeniculum vulgare Mill	۲۷/۸
Vitis vinifera L	۳۸/۱
Dioscorea alata	۳۲
Areca catechu L	۲۹/۲
Prunus armeniaca L	۳۷/۵
Malus domestica	۵۸
Amorphophallus paeoniifolius	۴۰
Prunus domestica	۶۵
Colocasia esculenta L	۲۴
Solanum tuberosum L	۵۰

قهوه‌ای شدن آنزیمی پلی فنل اکسیداز

قهوه ای شدن در بافت‌های سالم گیاهی مشاهده نمی‌شود، تنش‌هایی مانند زخم، درجه حرارت بالا و پیری موجب فعال شدن آنزیمی پلی فنل اکسیداز می‌شود (۳۴). قهوه‌ای شدن آنزیمی زمانی رخ می‌دهد که فنل‌ها با پلی فنل

اکسیداز فعال کاتالیزوری مواجه و باعث قهوه‌ای شدن می‌شوند (۳۵). قهوه‌ای شدن بر ارزش تجاری بسیاری از محصولات کشاورزی تأثیر منفی می‌گذارد، از جمله سیب (۳۶)، موز (۳)، خیار (۳۷)، انگور (۳۸)، انبه (۳۹)،گلابی (۴۰)، هلو، زردآلو (۴۱)، بادمجان (۴۲)، کاهو (۴۳)، سیب زمینی (۴۴) و غلات (۴۵). قهوه‌ای شدن سه نوشیدنی اصلی جهان (چای سیاه، قهوه و کاکائو) توسط پلی فنل اکسیداز ایجاد می‌شود که موجب بهبود طعم و رنگ آنها می‌شود (۴۶). سالانه ارزش تجاری تعداد زیادی از میوه‌ها و سبزیجات بدلیل قهوه‌ای شدن آنزیمی کاهش می‌یابد (۴۷). بنابراین، توسعه روش‌های جدید برای مهار فعالیت پلی فنل اکسیداز به یک زمینه تحقیقاتی مهم تبدیل شده است (۳۲).

روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی، رایج‌ترین روش‌های مهار فعالیت پلی فنل اکسیداز هستند (شکل ۲). روش‌های فیزیکی مانند کنترل دما، اتمسفر کنترل شده، فشار بالا، اولتراسوند و ..... دماهای بالا می‌توانند به سرعت پلی فنل اکسیداز را غیرفعال کنند، اما بر ظاهر، بافت و ارزش غذایی محصولات تأثیر منفی می‌گذارند (۴۸). اتمسفر کنترل شده، بطور گسترده در تولید میوه و سبزیجات برای مهار قهوه‌ای شدن آنزیمی با افزایش CO_2 و کاهش غلظت O_2 به میزان معینی استفاده می‌شود. در حال حاضر در میوه‌ها و سبزیجاتی مانند لیچی (۴۹)، سیب زمینی (۵۰)، سیب (۵۱) کاربرد دارد. همچنین کنترل قهوه-ای شدن آنزیمی توسط مواد شیمیایی مانند، مرکاپتول-۲-بوتانول-۳ که می‌تواند بطور رقابتی فعالیت پلی فنل اکسیداز را مهار و بطور موثر از قهوه‌ای شدن آنزیمی سیب زمینی تازه برش خورده جلوگیری کند (۵۲). تیمار با سدیم نیتروپروساید (Sodium Nitroprusside) می‌تواند، بطور موثری از قهوه‌ای شدن آب میوه گلابی جلوگیری کند (۵۳).



شکل ۲- پلی فنل اکسیداز در غده‌های سیب زمینی در آمیلوپلاست‌ها و فنل‌ها در وزیکول‌ها وجود دارند. تحت شرایط اکسیژن، مونوفنول‌ها توسط پلی فنل اکسیداز فعال شده به بیس‌فنول‌ها اکسید و بعد به کینون‌ها اکسید می‌شوند. سپس کینون‌ها در حضور اسیدهای آمینه و اکسیژن به دوپاکوم و بیشتر به ملانین تبدیل می‌شوند. با کنترل اکسیژن،گرما، آنزیم ها، ترکیبات شیمیایی می‌توانند فعالیت بیولوژیکی پلی فنل اکسیداز را کاهش داده و از قهوه‌ای شدن آنزیمی جلوگیری کرد (۲۵). (Zhang, 2023).

مهارکننده‌های شیمیایی با اثر متفاوت، مانند احیا کننده (اسید اسکوربیک و سولفیت‌ها)، کیلات (اتیلن دی آمین ترا استات)، اسید (سیتریک و مالیک)، و ترکیبات کمپلکس کننده (سیکلودکسترین) تشکیل ملانین را مهار می‌کنند (۵۴، ۵۵، ۵۶). سولفیت سدیم، بی‌سولفیت و متابی سولفیت، بدلیل قیمت پایین آنها بطور گسترده در صنعت

فرآوری میوه و سبزیجات مورد استفاده قرار گرفتند، با این حال، تجاری سازی آنها در چندین کشور بدلیل اثرات نامطلوب بر سلامت ممنوع است (۵۷). به عنوان جایگزین، اسید اسکوربیک و ۴-هگزیل رزورسینول اغلب استفاده می‌شود. علاوه بر این، سیکلودکسترین‌ها، اثر ضد قهوه‌ای امیدوارکننده ای دارند، اخیراً تحقیقی نشان داد که بتا سیکلودکسترین بهتر از سایر پلی‌ساکاریدها به صورت غیرکووالانسی به پلی‌فنل اکسیدازها متصل می‌شود و در شرایط بهینه دارای توانایی بازدارندگی است (۵۸). تیمارهای فیزیکی مانند گرما، کم آبی، تابش و فشار بالا، راهبرد دیگری برای به حداقل رساندن قهوه‌ای شدن آنزیمی است (۵۹). عملیات بلانچینگ توسط بخار، آب داغ، محلول‌های آب اسید/نمک نیز تا حد زیادی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶۰، ۶۱، ۶۲). با این حال، برای متعادل کردن درجه غیرفعال شدن پلی فنل اکسیدازها و تأثیر آن بر کیفیت محصولات، زمان و دمای بلانچینگ باید با دقت تنظیم شود (۶۳). در نهایت، بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده با لایه‌های نفوذپذیری کم، راه مؤثر دیگری برای افزایش ماندگاری میوه‌ها و سبزیجات فرآوری شده است، زیرا برای شروع قهوه‌ای شدن به اکسیژن نیاز است.

متابولیسم فیزیولوژیکی پلی فنل اکسیداز

پاسخ به تنش‌های زنده

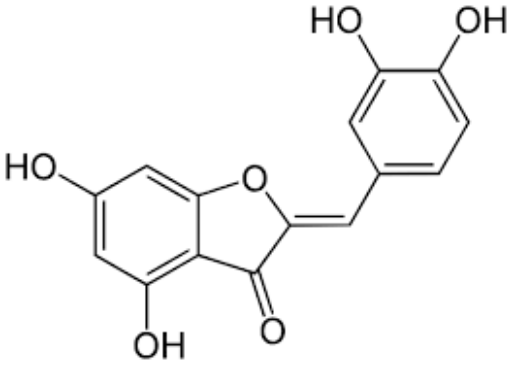
گیاهان در طبیعت در معرض بسیاری از تنش‌های زیستی مانند تنش‌های ناشی از حمله گیاهخواران، حشرات و میکروارگانیسم‌ها هستند (۱۴). گیاهان مجموعه‌ای از پاسخ‌های ایمنی را برای مقاومت در برابر حمله ایجاد می‌کنند. نقش پلی فنل اکسیداز در مکانیسم‌های دفاعی گیاه یکی از چندین زمینه تحقیقاتی مهم است. اولین تحقیق در مورد دفاع از پلی فنل اکسیداز در برابر حشرات از طریق بیان بیش از حد پلی فنل اکسیداز در گوجه فرنگی بوده است که دریافتند سطوح رونوشت ژن‌های پلی فنل اکسیداز با تعداد آفت *Heliothis zea* همبستگی منفی دارد (۱۷). همچنین مشخص شد که پلی فنل اکسیداز می‌تواند سوسک سیب زمینی کلرادو (*Leptinotarsa decemlineata*) را مهار کند (۶۴). بیان بیش از حد پلی فنل اکسیداز در گوجه‌فرنگی بطور قابل توجهی نرخ رشد و شاخص تغذیه‌ای *Helicoverpa armigera* و *Spodoptera exigua* را کاهش دادند (۱۶). با افزایش سطح رونوشت پلی فنل اکسیداز، مقاومت به *Pseudomonas syringae* و *Alternaria solani*نیز در گوجه فرنگی افزایش یافت (۱۵، ۶۵). علاوه بر این، سیب‌زمینی‌هایی با بیان ژن‌های پلی فنل اکسیداز بالاتر نسبت به پوسیدگی، مقاومت بیشتری نشان دادند (۶۶). در همین حال، هرچه محتوای پلی فنل اکسیداز بیشتر باشد، شدت بیماری در گیاه تنباکو کمتر می‌شود (۶۷). در صنوبر، بیان پلی فنل اکسیداز باعث افزایش مقاومت در برابر گیاهخواری توسط کرم *Malacosoma distria* شد (۶۸). افزایش تنظیم ژن‌های پلی فنل اکسیداز در گوجه‌فرنگی در معرض تنش آبی، به‌ویژه در ناحیه بریده شدن برگ‌ها و رگبرگ‌ها مشاهده شد. با این حال، گیاهان شاهد نسبت به ژنوتیپ‌هایی که در آنها فعالیت پلی فنل اکسیداز، سرکوب شده بود، تحمل کمتری نسبت به تنش آبی داشتند (۶۹).

تحقیقات نشان می‌دهد که مکانیسم‌های زیر در مقاومت پلی فنل اکسیداز به تنش‌های زیستی دخیل هستند، (۱) پلی فنل اکسیداز می‌تواند پروتئین‌ها را با واکنش با ترکیبات مختلف، از جمله گروه‌های آمینه، فنولیک و مرکاپتو، تغییر دهد، که منجر به آلکیلاسیون می‌شود که باعث کاهش فراهمی زیستی پروتئین‌های سلولی و از هضم و جذب مواد مغذی در حشرات و میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌کند (۲) پلی فنل اکسیداز تولید کینون از فنل‌ها را کاتالیز و ردوکس کینون گونه‌های اکسیژن فعال را تولید می‌کند و باعث تنش اکسیداتیو با خاصیت باکتری‌کشی می‌شود (۱۴). تولید مقادیر زیادی از محصولات اکسیداتیو منجر به پیری، بیماری و مرگ در موجودات می‌شود (۷۰). بنابراین پلی فنل اکسیداز یکی از آنزیم‌های مهم درگیر در ایمنی گیاه است.

پاسخ به تنش‌های غیر زنده

گیاهان اغلب در معرض محیط‌های طبیعی نامناسب قرار می‌گیرند. پلی فنل اکسیدازها در مقابله با تنش‌های غیرزیستی مانند تنش شوری، خشکی، فلزات سنگین، اشعه ماوراء بنفش و ..... نقش دارند. پلی فنل اکسیداز و انواع آنزیم‌های مرتبط در فرآیندهای پیچیده‌ای نقش دارند که با تاثیر بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی درون‌زا و تغییر صفات گیاهی به محیط‌های نامطلوب پاسخ می‌دهند. محققان دریافتند که گوجه‌فرنگی با بیان کمتر پلی‌فنل‌اکسیداز مقاومت به خشکی را افزایش داد (۷۱). فلزات سنگین

معمولاً باعث آسیب شدید به گیاهان می‌شوند و فعالیت پلی فنل اکسیداز گیاه در پاسخ به تنش فلزات سنگین افزایش می‌یابد (۷۲).



شکل ۳–ساختار شیمیایی اورئوسیدین

نقش پلی فنل اکسیداز در متابولیسم فیزیولوژیکی

پلی فنل اکسیداز، علاوه بر درگیر شدن در تنش‌های زیستی و غیرزیستی، ارتباط نزدیکی با تولید و تخریب متابولیت‌ها در گیاهان دارد. تحقیقات نشان داده است که هسپریدین نیز توسط پلی فنل اکسیداز تولید می‌شود (۶۹). لیگنین، یک متابولیت مرتبط با پلی فنل اکسیداز، غنی از بیوپلیمرهای معطر است که نقش مهمی در صنعت ایفا می‌کند (۷۳). اورئوسیدین (Aureusidin)(شکل ۳) گلیکوپروتئین حاوی مس است که به خانواده پلی فنل اکسیداز تعلق دارد که می‌تواند تشکیل اورون را از کالکون برای تنظیم رنگ گل کاتالیز کند (۷۴). گزارش شده است که واکنش مهلر (Mehler Reaction)، واکنش پرایمینگ فتوسنتزی و تنظیم سطح اکسیژن در پلاستیدها نیز با پلی فنل اکسیداز مرتبط است (۷۵). مولکول‌های پلی فنل اکسیداز خارج سلولی در تعداد کمی از موارد در تخریب متابولیت‌ها نقش دارند. به عنوان مثال، پلی فنل اکسیداز خارج سلولی تولید شده توسط قارچ‌ها می‌تواند لیگنین و هوموس را در خاک تجزیه کند (۷۶).

نتیجه‌گیری

پلی فنل اکسیداز یک آنزیم حاوی مس است که بطور گسترده در موجودات یوکاریوتی یافت می‌شود که فعالیت آن به pH، دما و بسترهای فنلی بستگی دارد. پلی فنل اکسیداز در گیاهان نقش مهمی در دفاع در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده ایفا می‌کنند و قادرند ترکیبات فنلی را به اورتوکینون‌ها اکسید و باعث قهوه‌ای شدن بافت محصولات گیاهی، ایجاد ظاهری نامناسب و کاهش کیفیت میوه‌جات شوند. ترکیبات کینونی تحت تاثیر واکنش‌های ثانویه در مجاورت یکدیگر و یا مواد دیگر مانند پروتئین‌ها ایجاد ترکیبات رنگی به نام ملانین می‌نمایند. این آنزیم در مراحل برداشت، ذخیره‌سازی و فرآوری میوه و سبزیجات آنزیم مهمی به شمار می‌آیند. بدلیل ایجاد اثرات نامطلوبی که روی خواص ظاهری و کیفیت محصول می‌گذارد، شناسایی آنزیم پلی فنل اکسیدازها و چگونگی رفتار آن در دماها، pH و سایر شرایط مختلف می‌تواند در جلوگیری از فعالیت این آنزیم و نهایتاً جلوگیری از قهوه‌ای شدن آنزیمی موثر باشد درک مکانیسم تنظیمی فعالیت پلی‌فنل اکسیداز و مکانیسم عمل آن در فرآیند مقاومت به تنش گیاه برای اصلاح گیاهان مقاوم به تنش بسیار مورد توجه است.

منابع

1. Batista, K.A., Batista, G.L., Alves, G.L. and Fernandes, K.F. “Extraction, partial purification and characterization of polyphenol oxidase from *Solanum lycocarpum* fruits.” Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 2014, 102, 211–217.
2. Chi, M., Basdeo, B., David, L., Tang, G., Su, Y., Sun, R., Oomah, B.D., Wiersma, P.A. and Xiang, Y. “Reduced polyphenol oxidase gene expression and enzymatic browning in potato (*Solanum tuberosum* L.) with artificial microRNAs. BMC Plant Biology. 2014, 14, 62.
3. Gooding, P.S., Bird, C. and Robinson, S.P. “Molecular cloning and characterization of banana fruit polyphenol oxidase.” Planta 2001, 213, 748–757.
4. Newman, S.M., Eannetta, N.T., Yu, H., Prince, J.P., Carmen de Vicente, M., Tanksley, S.D. and Steffens, J.C. “Organization of the tomato polyphenol oxidase gene family.” Plant Molecular Biology. 1993, 21, 1035–1051.
5. Huang, S., Li, R., Zhang, Z., Li, L., Gu, X., Fan, W., Lucas, W.J., Wang, X., Xie, B. and Ni, P. “The genome of the cucumber, *Cucumis sativus* L.” Nature Genetics. 2009, 41, 1275–1281.
6. Zhang, H.X., Shi, W.K., Guo, R., Zhang, Y.J. and Guo, H.B. “Screening and verification of proteins of *Salvia miltiorrhiza* polyphenol oxidase interaction.” China Journal of Chinese Materia Medica. 2020, 45, 2523–2532.
7. Pretzler, M. and Rompel, A. “What causes the different functionality in type-III-copper enzymes? A state of the art perspective.” Inorganica Chimica Acta. 2018, 481, 25–31.
8. Tomás-Barberán, F.A. and Espín, J.C. “Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables.” Journal of the Science of Food and Agriculture. 2001, 81, 853–876.

9. Torres, A., Aguilar-Osorio, G., Camacho, M., Basurto, F. and Navarro-Ocana, A. “Characterization of polyphenol oxidase from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam) and its affinity towards acylated anthocyanins and caffeoylquinic acid derivatives.” Food Chemistry. 2021, 356, 129709.

10. Mayer, A.M. “Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review.” Phytochemistry, 2006, 67, 2318–2331.

11. Taranto, F., Delvecchio, L.N., Mangini, G., Del Faro, L., Blanco, A. and Pasqualone, A. “Molecular and physico-chemical evaluation of enzymatic browning of whole meal and dough in a collection of tetraploid wheats.” Journal of Cereal Science. 2012, 55, 405–414.

12. Terefe, N.S., Buckow, R. and Versteeg, C. “Quality-Related Enzymes in Fruit and Vegetable Products: Effects of Novel Food Processing Technologies, Part 1: High-Pressure Processing.” Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2014, 54, 24–63.

13. Iqbal, A., Murtaza, A., Hu, W., Ahmad, I., Ahmed, A. and Xu, X. “Activation and inactivation mechanisms of polyphenol oxidase during thermal and non-thermal methods of food processing.” Food and Bioproducts Processing. 2019, 117, 170–182.

14. Zhang, J. and Sun, X. “Recent advances in polyphenol oxidase-mediated plant stress responses.” Phytochemistry, 2021, 181, 112588.

15. Li, L. and Steffens, J.C. “Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance.” Planta, 2002, 215, 239–247.

16. Bhonwong, A., Stout, M.J., Attajarusit, J. and Tantasawat, P. “Defensive Role of Tomato Polyphenol Oxidases against Cotton Bollworm (*Helicoverpa armigera*) and Beet Armyworm (*Spodoptera exigua*).” Journal of Chemical Ecology, 2009, 35, 28–38.

17. Felton, G.W., Donato, K., Del Vecchio, R.J. and Duffey, S.S. “Activation of plant foliar oxidases by insect feeding reduces nutritive quality of foliage for noctuid herbivores.” Journal of Chemical Ecology. 1989, 15, 2667–2694.

18. Yoruk, R. and Marshall, M.R. “Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: A review.” Journal of Food Biochemistry. 2003, 27, 361–422.

19. Thygesen, P.W., Dry, I.B. and Robinson, S.P. “Polyphenol Oxidase in Potato: A Multigene Family That Exhibits Differential Expression Patterns.” Plant Physiology, 1995, 109, 525–531.

20. Ortega-García, F., Blanco, S., Peinado, M.Á. and Peragón, J. “Polyphenol oxidase and oleuropein in olives and their changes during olive ripening. In Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2021; pp. 123–129.

21. Bisswanger, H. “Enzyme assays.” Perspectives in Science. 2014, 1, 41–55.

22. Benaceur, F., Chaibi, R., Berrabah, F., Neifar, A., Leboukh, M., Benaceur, K., Nouioua, W., Rezzoug, A., Bouazzara, H. and Gouzi, H. “Purification and characterization of latent polyphenol oxidase from truffles (*Terfezia arenaria*).” International Journal of Biological Macromolecules. 2020, 145, 885–893.

23. Panis, F., Kampatsikas, I., Bijelic, A. and Rompel, A. “Conversion of walnut tyrosinase into a catechol oxidase by site directed mutagenesis.” Scientific Reports, 2020, 10, 1659.

24. Singh, A. and Wadhwa, N. “Biochemical characterization and thermal inactivation of polyphenol oxidase from elephant foot yam (*Amorphophallus paeoniifolius*).” Journal of Food Science and Technology. 2017, 54, 2085–2093.

25. Zhang, S. “Recent Advances of Polyphenol Oxidases in Plants.” Molecules 2023, 28, 2158.

26. Valero, E. and Garcia-Carmona, F. “pH-dependent effect of sodium chloride on latent grape polyphenol oxidase.” Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1998, 46, 2447–2451.

27. Adeseko, C.J., Sanni, D.M., Salawu, S.O., Kade, I.J., Bamidele, S.O. and Lawal, O.T. “Purification and biochemical characterization of polyphenol oxidase of African bush mango (*Irvingia gabonensis*) fruit peel.” Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2021, 36, 102119

28. Wang, X., Yang, L., Liu, J., Wang, R., Zhang, Q., Shan, Y. and Ding, S. “Comparison of the biochemical properties and thermal inactivation of polyphenol oxidase from three lily bulb cultivars.” Journal of Food Biochemistry, 2020, 44, e13431.

29. Siddiq, M. and Dolan, K. “Characterization of polyphenol oxidase from blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.).” Food Chemistry, 2017, 218,216–220.

30. Li, J., Deng, Z.Y., He, Y., Fan, Y., Dong, H., Chen, R., Liu, R., Tsao, R. and Liu, X. “Differential specificities of polyphenol oxidase from lotus seeds (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) toward stereoisomers, ( )-epicatechin and (+)-catechin: Insights from comparative molecular docking studies.” LWT 2021, 148, 111728.

31. Derardja, A.E., Pretzler, M., Kampatsikas, I., Barkat, M. and Rompel, A. “Purification and Characterization of Latent Polyphenol Oxidase from Apricot (*Prunus armeniaca* L.).” Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65, 8203–8212.

32. Panadare, D. and Rathod, V.K. “Extraction and purification of polyphenol oxidase: A review.” Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2018, 14, 431–437.

33. Liu, J., Zhang, J., Liao, T., Zhou, L., Zou, L., Liu, Y., Zhang, L. and Liu, W. “Thermal Inactivation Kinetics of Kudzu (*Pueraria lobata*) Polyphenol Oxidase and the Influence of Food Constituents.” Foods, 2021, 10, 1320.

34. Gong, Z. and Wang, W. “Research advancement of enzymatic browning machanism after harvest of the fruit and vegetable and its influence factors.” Food and Nutrition in China, 2012, 18, 30–33.

35. Harbowy, M.E., Balentine, D.A., Davies, A.P. and Cai, Y. “Tea chemistry.” CRC. Critical Reviews in Plant Sciences, 2010, 16, 415–480.

36. Reinkensmeier, A., Steinbrenner, K., Homann, T., Bußler, S., Rohn, S. and Rawel, H.M. “Monitoring the apple polyphenol oxidase-modulated adduct formation of phenolic and amino compounds.” Food Chemistry, 2016, 194, 76–85.

37. Miller, A.R., Kelley, T.J. and Mujer, C.V. “Anodic peroxidase isoenzymes and polyphenol oxidase activity from cucumber fruit: Tissue and substrate specificity.” Phytochemistry, 1990, 29, 705–709.

38. Rathjen, A.H. and Robinson, S.P. “Aberrant processing of polyphenol oxidase in a variegated grapevine mutant.” Plant Physiology. 1992, 99, 1619–1625.

39. Robinson, S.P., Loveys, B.R. and Chacko, E.K. “Polyphenoloxidase enzymes in the sap and skin of

mango fruit." Australian Journal of Plant Physiology, 1993, 20, 99–107.

40. Saba, M.K. and Moradi, S. "Internal browning disorder of eight pear cultivars affected by bioactive constituents and enzyme activity." Food Chemistry, 2016, 205, 257–263.
41. Fraignier, M., Marques, L., Fleuriet, A. and Macheix, J. "Biochemical and immunochemical characteristics of polyphenol oxidase from different fruits of Prunus. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1995, 43, 2375–2380.
42. Docimo, T., Francese, G., de Palma, M., Mennella, D., Toppino, L., Lo Scalzo, R., Mennella, G. and Tucci, M. "Insights in the fruit flesh browning mechanisms in *Solanum melongena* genetic lines with opposite post-cut behavior." Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64, 4675–4685.
43. Heimdal, H., Larsen, L.M. and Poll, L. "Characterization of polyphenol oxidase from photosynthetic and vascular lettuce tissues (*Lactuca sativa*)." Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994, 42, 1428–1433.
44. Sánchez-Ferrer, A., Laveda, F. and Garcia-Carmona, F. "Partial purification of soluble potato polyphenol oxidase by partitioning in aqueous two-phase system." Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1993, 41, 1219–1224.
45. Pasqualone, A., Delvecchio, L.N., Mangini, G., Taranto, F. and Blanco, A. "Variability of total soluble phenolic compounds and antioxidant activity in a collection of tetraploid wheat." Agricultural and Food Science, 2014, 23, 307–316.
46. Kamal, A., Gasmalla, M.A. and Alyousef, H. "Efficient methods for polyphenol oxidase production." International Journal of Nutrition and Food Sciences, 2015, 4, 656–659.
47. Nozue, M., Arakawa, D., Iwata, Y., Shioiri, H. and Kojima, M. "Activation by Proteolysis in vivo of 60-ku Latent Polyphenol Oxidases in Sweet Potato Cells in Suspension Culture." Journal of Plant Physiology, 1999, 155, 297–301.
48. Ali, S., Khan, A.S., Malik, A.U., Anjum, M.A., Nawaz, A. and Shah, H.M.S. "Modified atmosphere packaging delays enzymatic browning and maintains quality of harvested litchi fruit during low temperature storage." Scientia Horticulturae. 2019, 254, 14–20.
49. Zhao, X., Zhou, J., Chen, X., Xu, L., Yang, X. and Liu, J. "Effect of different gas compositions in the OPP/CPP film on preservation of fresh-cut potato chips." Science and Technology of Food Industry, 2017, 38, 207–211.
50. Li, D., Zhan, Z., Zhou, X., Li, Y., Li, L., Lin, X., Xu, Y. and Luo, Z. "Mechanism of the inhibition of elevated CO_2 atmosphere on enzymatic browning of fresh-cut lotus roots." Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences), 2020, 46, 110-118.
51. Podrepšek, G.H., Knez, Z. and Leitgeb, M. "The Influence of Supercritical Carbon Dioxide on Graham Flour Enzyme Polyphenol Oxidase Activity." Molecules, 2020, 25, 5981.
52. Huang, G.L., Sun, L.X., Ma, J.J., Sui, S.Y. and Wang, Y.N. "Anti-polyphenol oxidase properties of total flavonoids from young loquat fruits: Inhibitory activity and mechanism." Bioengineered, 2021, 12, 640–647.
53. Adhikary, T., Gill, P., Jawandha, S., Bhardwaj, R. and Anurag, R. "Efficacy of postharvest sodium nitroprusside application to extend storability by regulating physico-chemical quality of pear fruit." Food Chemistry, 2021, 346, 128934.
54. Gacchea, R.N., Shete, A.M., Dhole, N.A. and Ghole, V.S. "Reversible inhibition of polyphenol oxidase from apple using L-cysteineIndian." Journal of Chemical Technology. 2006, 13, 459–463.
55. Soares, J.M. and Fonseca, G.G. "Effect of L-ascorbic acid and sodium metabisulfite in the inhibition of the enzymatic browning of minimally processed apple." International Journal of Agricultural Research, 2008, 3, 196–201.
56. Landi, M., Degl'Innocenti, E., Guglielminetti, L. and Guidi, L. "Role of ascorbic acid in the inhibition of polyphenol oxidase and the prevention of browning in different browning-sensitive *Lactuca sativa* var. capitata (L.) and *Eruca sativa* (Mill.) stored as fresh-cut produce." Journal of the Science of Food and Agriculture. 2013, 93, 1814–1819.
57. Gultekin, F. and Doguc, D.K. "Allergic and immunologic reactions to food additives." Clinical Reviews in Allergy & Immunology, 2013, 45, 6–29.
58. Hicks, K.B., Haines, R.M., Tong, C.B., Sapers, G.M., El-Atawy, Y., Irwin, P.L. and Seib, P.A. "Inhibition of enzymatic browning in fresh fruit and vegetable juices by soluble and insoluble forms of β-cyclodextrin alone or in combination with phosphates." Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44, 2591–2594.
59. Ashie, I.N.A., Simpson, B.K. and Smith, J.P. "Mechanisms for controlling enzymatic reactions in foods." Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 1996, 36, 1–30.
60. Mukherjee, S. and Chattopadhyay, P.K. "Whirling bed blanching of potato cubes and its effects on product quality." Journal of Food Engineering, 2007, 78, 52–60.
61. Gonzalez-Fesler, M., Salvatori, D., Gomez, P. and Alzamora, S.M. "Convective air drying of apples as affected by blanching and calcium impregnation." Journal of Food Engineering. 2008, 87, 323–332.
62. Wang, R., Zhang, M., Arun, S. and Mujumdar, A.S. "Effects of vacuum and microwave freeze drying on microstructure and quality of potato slices." Journal of Food Engineering, 2010, 101, 131–139.
63. De Leonardis, A., Lustrato, G., Macciola, V. and Ranalli, G. "Application of chemical and physical agents in model systems to controlling phenoloxidase enzymes." European Food Research and Technology, 2010, 231, 603–610.
64. Castañera, P., Steffens, J.C. and Tingey, W.M. "Biological performance of Colorado potato beetle larvae on potato genotypes with differing levels of polyphenol oxidase." Journal of Chemical Ecology, 1996, 22, 91–101.
65. Babu, A.N., Jogaiah, S., Ito, S.I., Nagaraj, A.K. and Tran, L.S.P. "Improvement of growth, fruit weight and early blight disease protection of tomato plants by rhizosphere bacteria is correlated with their beneficial traits and induced biosynthesis of antioxidant peroxidase and polyphenol oxidase." Plant Science, 2015, 231, 62–73.
66. Ngadze, E., Icishahayo, D., Coutinho, T.A. and van der Waals, J.E. "Role of Polyphenol Oxidase, Peroxidase, Phenylalanine Ammonia Lyase, Chlorogenic Acid, and Total Soluble Phenols in Resistance of Potatoes to Soft Rot." Plant Disease, 2012, 96, 186–192.
67. Khodadadi, F., Tohidfar, M., Vahdati, K., Dandekar, A.M. and Leslie, C.A. "Functional analysis of walnut polyphenol oxidase gene (JrPPO1) in transgenic tobacco plants and PPO induction in response to

walnut bacterial blight." Journal of Plant Pathology, 2020, 69, 756–764.

68. Wang, J. and Constabel, C.P. "Polyphenol oxidase overexpression in transgenic Populus enhances resistance to herbivory by forest tent caterpillar (*Malacosoma disstria*)." Planta, 2004, 220, 87–96.
69. Araji, S., Grammer, T.A., Gertzen, R., Anderson, S.D., Mikulic-Petkovsek, M., Veberic, R., Phu, M.L., Solar, A., Leslie, C.A. and Dandekar, A.M. "Novel Roles for the Polyphenol Oxidase Enzyme in Secondary Metabolism and the Regulation of Cell Death in Walnut." Plant Physiology, 2014, 164, 1191–1203.
70. Huang, C., Chen, S., Cheng, X., Zhang, X., Li, X. and Kong, X. "Cloning and expression analysis of the laccase genes CsLAC4 and CsLAC12 from the tea plant." Journal of Plant Protection Research, 2018, 45, 1069–1077.
71. Thipyapong, P., Melkonian, J., Wolfe, D.W. and Steffens, J.C. "Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato." Plant Science, 2004, 167, 693–703.
72. Bhardwaj, R., Hundal, G., Sharma, N. and Sharma, I. "28-Homobrassinolide alters protein content and activities of glutathione-S-transferase and polyphenol oxidase in *Raphanus sativus* L. plants under heavy metal stress." Toxicology International, 2014, 21, 45–50.
73. Almada, C.C., Kazachenko, A., Fongarland, P., Da Silva Perez, D., Kuznetsov, B.N., Djakovitch, L. "Oxidative depolymerization of lignins for producing aromatics: Variation of botanical origin and extraction methods." Biomass Conversion and Biorefinery, 2020, 12, 3795–3808.
74. Nakayama, T., Yonekura-Sakakibara, K., Sato, T., Kikuchi, S., Fukui, Y., Fukuchi-Mizutani, M., Ueda, T., Nakao, M., Tanaka, Y. and Kusumi, T. "Aureusidin Synthase: A Polyphenol Oxidase Homolog Responsible for Flower Coloration." Science, 2000, 290, 1163–1166.
75. Jukanti, A. "Polyphenol Oxidases (PPOs) in Plants;" Springer: Singapore, 2017.
76. Robertl, S. "Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil." Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42, 391–404.

Polyphenol oxidase: Enzymatic browning in fruits and vegetables

Jabbari M.[1] and Jabbari M.[2]

[1] Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Agriculture, Birjand University, Birjand, I.R. of Iran.

[2] Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R. of Iran.

Abstract

The polyphenol oxidase enzyme is a copper-containing enzyme that is responsible for the metabolism and biosynthesis of melanin in animals and for the production of yellow, brown or black pigments in plants, which consequently affects their nutritional quality. This enzyme plays an important role in plant stress resistance and physiological metabolism. Enzymatic browning is one of the most important color reactions that affect fruits and vegetables. However, the enzymatic browning reaction caused by polyphenol oxidase is a major problem in the production, harvesting and storage of fruits and vegetables. In the food industry, various inhibitors of this enzyme are being designed to increase the shelf life of vegetables and fruits and prevent their spoilage and decay. The activity of this enzyme is essential for creating black or brown color in tea and coffee, which have a nutritional role. Polyphenol oxidases are enzymes that can oxidize phenolic compounds to orthoquinones, causing browning of plant tissue, creating an undesirable appearance and reducing quality. This negative effect negatively affects the color (melanin), flavor, nutritional properties and shelf life of the products. Browning is usually caused by polyphenol oxidases following cell damage caused by aging, wounding and attack by pests and pathogens. Polyphenol oxidases are very important enzymes in determining the quality of food. Due to the adverse effects they have on the appearance and quality of the product, identifying the polyphenol oxidase enzyme and how it behaves at different temperatures, pH and other conditions can be effective in preventing the activity of this enzyme and ultimately preventing enzymatic browning.

Keywords: Horticulture, Postharvest, Melanin, Gene.