إستخلاص وتنقية إنزيم الأكسدة والأختزال (بيروكسيداز) من الحميض (Rumex vesicarius) وتحميله على جسيمات نانوية

Arabic Abstract

تتمثل إحدى أبرز وظائف الإنزيم كمحفز حيوي طبيعي في قدرته على تحسين معدل التفاعلات الكيميائية داخل الخلية. البيروكسيدات لها القدرة على المعالجة البيولوجية لمياه الصرف الملوثة بالكريسولات والفينولات المكلورة والفينولات. كثيرًا ما يستخدم عصارة النباتات لعلاج آلام الأسنان وحرارة المعدة، كما أنه يزيد من الشهية. تستهلك Rumex vesicarius لعلاج عسر الهضم والإمساك واليرقان. تتمثل الأهداف الرئيسية لهذا البحث في تحديد مصادر جديدة للبيروكسيد، والتحقيق في الخصائص الكيميائية الحيوية للإنزيمات، وتطوير تقنيات التحميل لإعادة استخدام الإنزيمات عبر عدد كبير من دورات التفاعل. تم استخدام الجسيمات النانوية المغناطيسية من Sigma-Aldrich و DEAE-Sepharose و Fe3O4 و CMC بالإضافة إلى مركبات كيميائية محضرة للمعايرة. تم الحصول على عينات من نبتة الحميض Rumex vesicarius. وتعتبر كمية الإنزيم المطلوبة لرفع الكثافة الضوئية بمقدار ١,٠ في الدقيقة، وحدة واحدة من النشاط. في ظل ظروف الفحوص العادية ، تم إجراء هذه التجربة. تم أيضًا حساب نقاء الوحدة الفرعية والكتلة الجزيئية للإنزيم المعزول باستخدام SDS-PAGE. تم تجميد البيروكسيد المخفف في محلول أسيتات الصوديوم ٥٠ ملي مولار درجة الحموضة ٤,٠ على جزيئات الحديد النانوية المغناطيسية Fe3O4 عن طريق تحميلها لمدة يوم واحد في درجة حرارة الغرفة. تم استخدام مطياف PerkinElmer 100 FT-IR لجمع عينة مطياف FTIR. تم تحديد قيم الكيلومتر من خلال إعداد مخططات Line-weaver-Burk بكميات متفاوتة من guaiacol و H_2O_2 كركائز. وفقًا لنتائج الدراسة الحالية، كشفت النتائج عن ذروتين مع نشاط *Rumex vesicarius* بيروكسيد المسمى POD I و POD II والذي يحتوي على تنقية ١,٣ و ٠,٢ ضعف على المستخلص الخام على التوالي. علاوة على ذلك ، كشفت تنقيةPOD بيروكسيد عن نشاطين من POD IAو POD IB مع أنشطة ٢٣ و ١١٦ وحدة / مجم بروتين ، على التوالي. تم تحسين كفاءة تثبيت Fe_3O_4 والنشاط بعد ١٠ عمليات إعادة استخدام ؛ احتفظ الإنزيم المعطل بنسبة ٥٣٪ من نشاطه الأولي.

الكلمات المفتاحية :

الانزيمات ، بيروكسيدز ، التحميل ،الجسميات المتناهية الصغر ، *Rumex vesicarius*

EXTRACTION AND PURIFICATION OF OXIDO-REDUCTIVE ENZYME (PREOXIDASE) FROM HUMMAYD (RUMEX VESICARIUS) AND IMMOBILIZATION ON NANOMATERIALS

Abstract

One of the most prominent functions of the enzyme as a natural biocatalyst is its ability to improve the rate of chemical reactions inside a cell. Peroxidases having the ability to bioremediate wastewater that has been polluted with cresols, chlorinated phenols, and phenols. Rumex vesicarius is frequently used to heal toothaches, stomach heat, and it also increases appetite. The Rumex vesicarius are consumed to treat indigestion, constipation, and jaundice. The objectives of this research are to identify novel peroxidase sources, investigate the biochemical properties of enzymes, and develop immobilization techniques for the reuse of enzymes across a large number of reaction cycles. Sigma-Aldrich, DEAE-Sepharose, Fe_3O_4, and CMC magnetic nanoparticles were used in addition to analytical-grade compounds. Specimens of Hummayd *(Rumex vesicarius* L.) were obtained. The quantity of enzyme required to raise the optical density by 1.0 per minute is considered one unit of activity. The subunit purity and molecular mass of the isolated enzyme were also calculated using SDS-PAGE. Peroxidase diluted in 50 mM sodium acetate buffer pH 4.0 was immobilized on Fe_3O_4 magnetic nanoparticles by turning them end over end for one night at room temperature. PerkinElmer spectrum 100 FT-IR spectrometer was used to collect sample FTIR spectra. Km values were determined by preparing Line-weaver-Burk plots with varying amounts of guaiacol and H_2O_2 as substrates. The results revealed two peaks with *Rumex vesicarius* peroxidase activity designated as POD I and POD II which has 1.3- and 0.2-fold purification over the crude extract respectively. Furthermore, POD I purification revealed 2 peroxidase activity: POD IA and POD IB with activities of 23 and

116 units/mg protein, respectively. Immobilization efficiency of Fe_3O_4 was enhanced and the activity after 10 reuses; the immobilized enzyme retained 53% of its initial activity.

Keywords:

Enzyme, Peroxidase, Immobilization, Nanoparticles, *Rumex vesicarius*