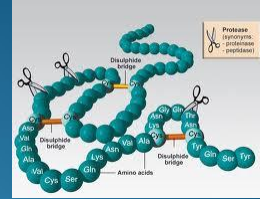




فصل ششم:



آنزیم ها و کاربرد آنها در مواد غذایی



آنزیم چیست؟

- آنزیم ها کاتالیزورهای واکنشهای بیوشیمیایی هستند که توسط سلول زنده ساخته شده و عمل کاتالیز واکنشهای بیوشیمیایی را در داخل و یا خارج سلول به عهده دارند.

Enzyme Action



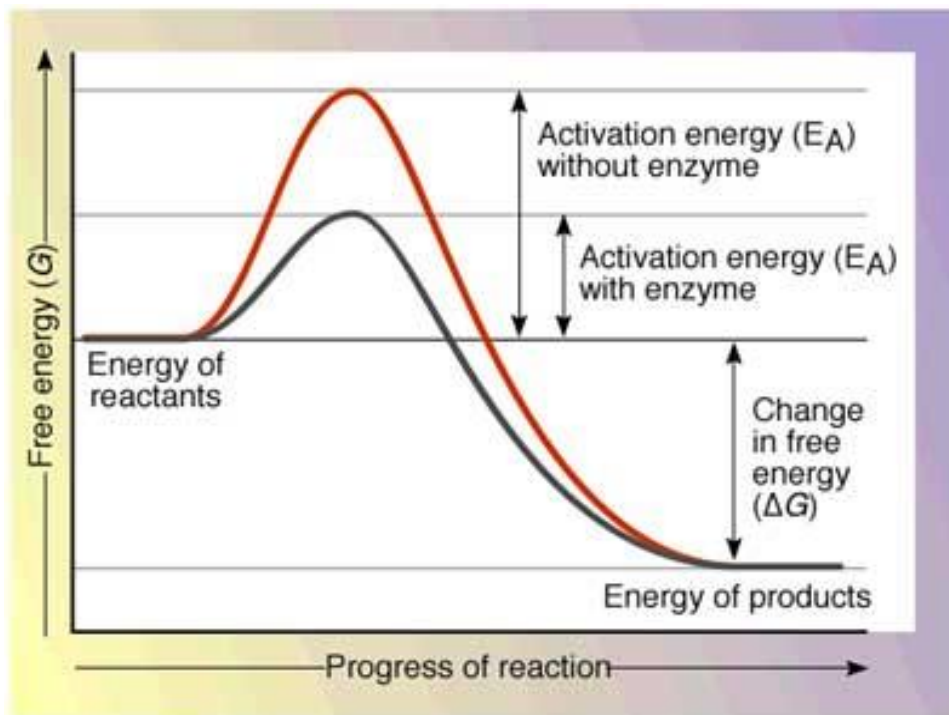
E = Enzyme
S = Substrate
P = Products

در واکنشهای آنزیمی سه جسم شرکت دارند:

- ۱- ماده اولیه یا سوبسترا (Substrate)
- ۲- آنزیم (Enzyme)
- ۳- محصول (Product)

اهمیت آنزیم ها

- بدون آنزیم، در حرارت موجود در سلولهای زنده، بسیاری از واکنشهای شیمیایی با سرعتی بسیار کم انجام می پذیرد. زیرا اکثر مولکولها، حامل انرژی کافی برای گذشتن از سد انرژی واکنش نیستند. این درحالی است که آنزیم، انرژی لازم برای رسیدن به حالت انتقال را کم نموده و سوبسترا با انرژی کمتر و همچنین سریعتر به محصول تبدیل میشود.
- آنزیم ها باعث تسهیل و تسریع واکنشها می شوند.
- آنزیم ها در طی واکنش مصرف نمی شوند و بدون هیچگونه تغییری در پایان واکنش آزاد می گردند.
- مقادیر بسیار جزئی از یک آنزیم برای کاتالیز واکنش - بیوشیمیایی کافی است.



میزان فعالیت تعدادی از آنزیم ها

آنزیم	تعداد مولکول های سوبسترای تغییر یافته توسط یک مولکول آنزیم در هر ثانیه
کربونیک انهدراز	۶۰۰۰۰۰
کاتالاز	۱۰۰۰۰۰
بنا - آمیلاز	۲۰۰۰۰
لاکتاز	۱۲۵۰۰
فنولاز	۲۰۰۰
انورتاز	۷۰۰

ساختار آنزیم

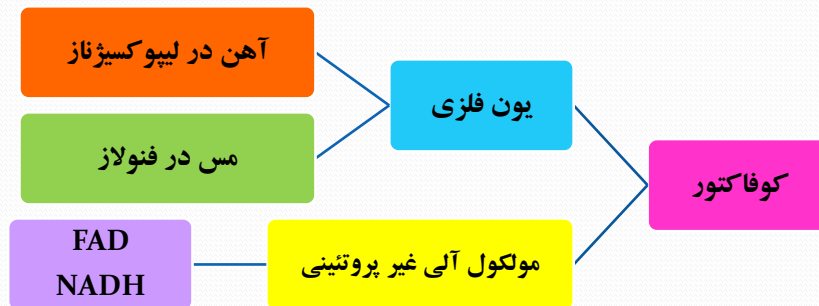


Human pancreatic amylase

- اغلب آنها پروتئینی هستند.
- شکل کروی دارند.
- دارای ساختمان سه بعدی پیچیده هستند.

کوفاکتورها (Cofactors)

- برخی آنزیم ها فقط با ساختمان پروتئینی خود فعالیت دارند (آنزیمهای گوارشی)
- اما تعدادی از آنزیم ها برای انجام فعالیت کاتالیزوری خود به ترکیبات فعال کننده غیر پروتئینی نیاز دارند که به این ترکیبات، **کوفاکتور** می گویند.

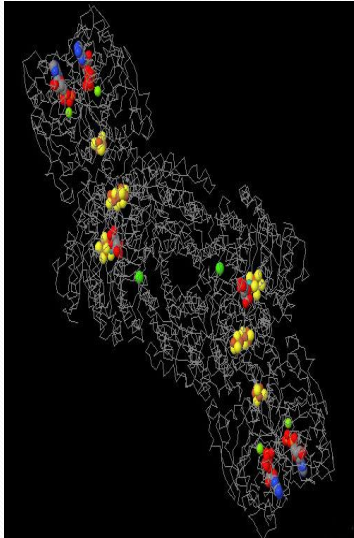


هنگامی که آنزیم برای فعالیت خود نیاز به کوفاکتور داشته باشد قسمت پروتئینی آن را **آپوآنزیم** و مجموع آنرا با کوفاکتور، **هولوآنزیم** میگویند.

Structure

Apoenzyme + Cofactor → Holoenzyme

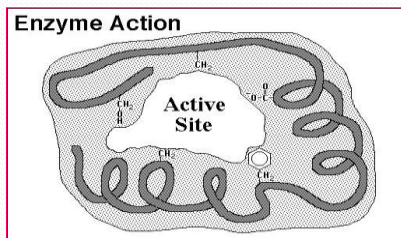
Protein Part (Inactive)	Nonprotein Part (Inactive)	Complete Enzyme (Active)
----------------------------	-------------------------------	--------------------------------



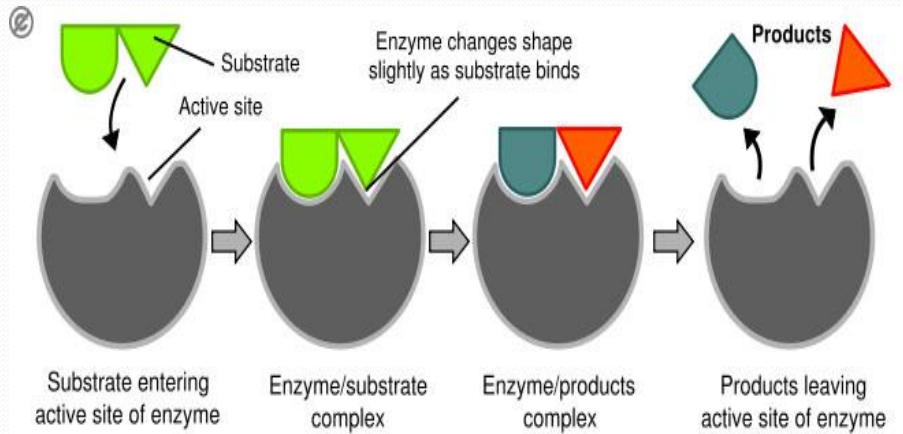
- کوفاکتورهایی که با پیوندهای ضعیف به آنزیم متصلند را **کوآنزیم** (coenzymes) گویند که معمولاً ویتامین ها در این دسته قرار می گیرند.
- کوفاکتورهایی که با پیوند قوی کووالان به آنزیم متصل است را **گروه پروستتیک** (prosthetic groups) میگویند. اغلب فلزات مانند یون روی در آنزیم کربنیک انهدراز جز این دسته اند.

عملکرد آنزیم ها:

- علاوه بر افزایش سرعت واکنش ها توسط آنزیم، دیگر مزیت آنها عملکرد اختصاصی آنهاست.
- عملکرد اختصاصی (specificity) آنزیم ها توسط جایگاه فعال آنها تعیین می شود. زیرا قبل از واکنش باید بین آنزیم و سوبسترا یک رابطه فضایی برقرار شود.
- جایگاه فعال (**active site**) محلی در ساختمان آنزیم است که زنجیره های جانبی برخی اسیدهای آمینه به گونه ای آرایش یافته اند که فقط با سوبستراهای خاصی قابلیت تشکیل کمپلکس آنزیم - سوبسترا را دارند.



چگونگی عملکرد آنزیم



طبقه بندی آنزیم ها

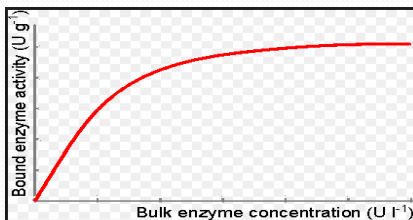
CLASSIFICATION OF ENZYMES

Group of Enzyme	Reaction Catalysed	Examples
1. Oxidoreductases	Transfer of hydrogen and oxygen atoms or electrons from one substrate to another.	Dehydrogenases Oxidases
2. Transferases	Transfer of a specific group (a phosphate or methyl etc.) from one substrate to another.	Transaminase Kinases
3. Hydrolases	Hydrolysis of a substrate.	Esterases Digestive enzymes
4. Isomerases	Change of the molecular form of the substrate.	Phospho hexo isomerase, Fumarase
5. Lyases	Nonhydrolytic removal of a group or addition of a group to a substrate.	Decarboxylases Aldolases
6. Ligases (Synthetases)	Joining of two molecules by the formation of new bonds.	Citric acid synthetase

سینتیک آنزیم ها

✓ برای آگاهی از میزان یا سرعت انجام یک واکنش آنزیمی، می توان از دو طریق اندازه گیری میزان سوبسترای مصرفی و یا فراورده تولیدی عمل کرد.

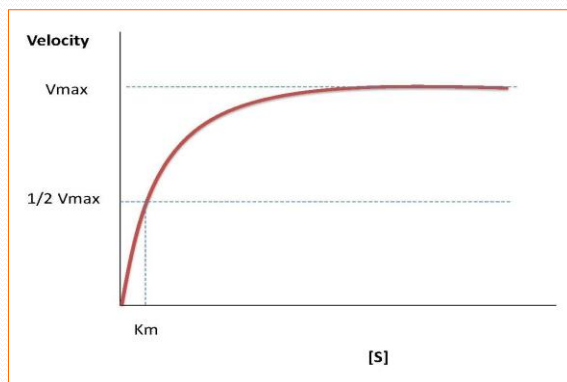
✓ در سال ۱۹۰۲، Henry و Brown نشان دادند که منحنی تغییرات سرعت واکنش آنزیمی بر حسب غلظت سوبسترا یک منحنی هذلولی شکل است.



✓ یعنی در ابتدا سرعت واکنش زیاد و پس از مدتی با افزایش سوبسترا ثابت می شود.

سینتیک آنزیم ها

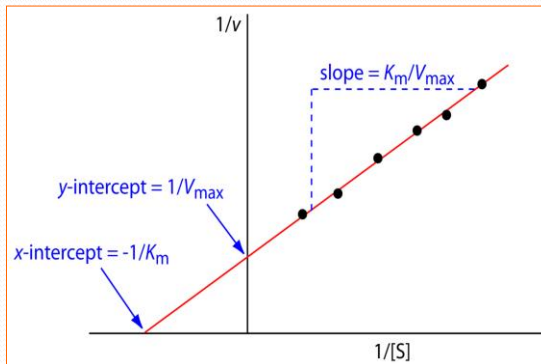
• با توجه به منحنی مذکور، در سال ۱۹۱۳، Michaelis و Menten معادله زیر را برای این رفتار آنزیم ها ارائه کردند:



$$V_o = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

سینتیک آنزیم ها

- چون در غلظت های بالای سوبسترا، میزان حداکثر سرعت به طور مناسب و دقیق قابل محاسبه نیست، لذا در سال ۱۹۳۴ معادله میکائلیس - منتن توسط Burk و Lineweaver به صورت زیر تغییر یافت:



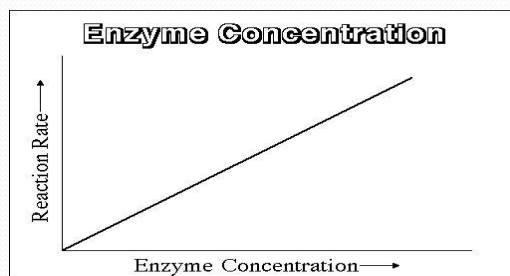
$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

عوامل مؤثر بر واکنش های آنزیمی

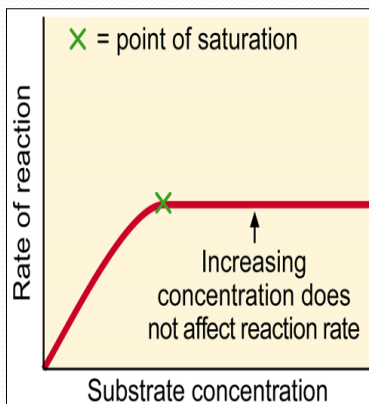
1. غلظت آنزیم (Enzyme concentration)
2. غلظت سوبسترا (substrate concentration)
3. pH
4. دما (temperature)
5. بازدارنده ها (inhibitors)

۱- تأثیر غلظت آنزیم

- سرعت یک واکنش آنزیمی تا زمانی که سوبسترا به مقدار کافی در محلول باشد یعنی تغییر سوبسترا ناچیز باشد، مستقیماً متناسب با غلظت آنزیم می باشد. یعنی هر چه غلظت آنزیم افزایش یابد سرعت واکنش نیز افزایش می یابد.



۲- تأثیر غلظت سوبسترا



- اگر غلظت آنزیم را ثابت نگه داشته و غلظت سوبسترا را افزایش دهیم و تغییرات سرعت اولیه واکنش را برای غلظت های مختلف سوبسترا رسم کنیم، منحنی بدست می آید که دارای دو مرحله است:

۱- در غلظتهای کم سوبسترا تغییرات سرعت واکنش با غلظت سوبسترا متناسب است. (افزایش غلظت سوبسترا = افزایش سرعت واکنش)

۲- با افزایش غلظت سوبسترا زمانی خواهد رسید که کلیه مولکولهای آنزیم در واکنش وارد گردیده و مولکولهای آنزیم از سوبسترا اشباع شده اند و در این حالت دیگر افزایش سوبسترا موجب افزایش سرعت واکنش نمی شود زیرا سرعت واکنش به حد ماکزیمم رسیده است.

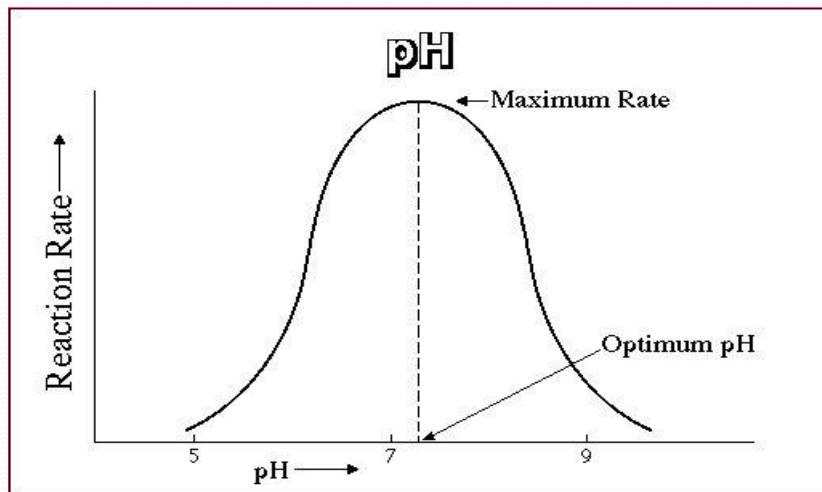
۳- تأثیر pH

هر آنزیمی در یک **PH معینی** (بهینه یا اoptimum) دارای حد اکثر فعالیت است و هر گونه تغییر (افزایش یا کاهش آن) سبب تغییر فعالیت آنزیم می شود.

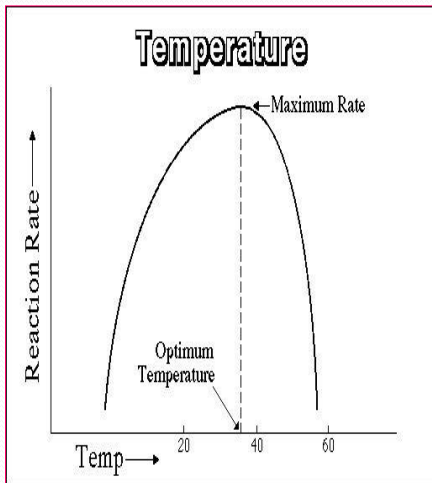
زیرا:

1. بر روی ساختمان پروتئینی آنزیم اثر و سبب غیر فعال شدن آنزیم و دگرگونی پیوند آنزیم با کوآنزیم میگردد.
2. بر میزان یونیزه شدن سوستر موثر است.
3. بر میزان یونیزه شدن اسید آمینه در جایگاه فعال موثر است در نتیجه در میل ترکیب سوستر با آنزیم و نیز عمل کاتالیزوری موثر است.

تأثیر pH بر فعالیت آنزیم



۴- تأثیر دما

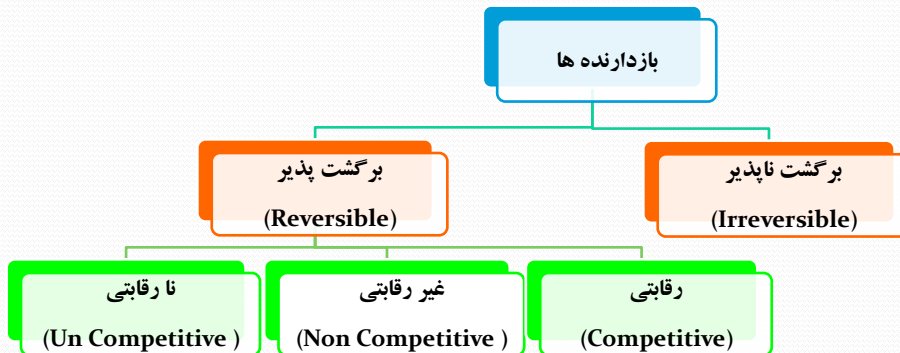


❖ در مورد واکنشهای آنزیمی نیز افزایش حرارت تا حدود ۵۰ درجه سانتیگراد سبب زیاد شدن سرعت واکنش می شود ولی حرارت های بالاتر موجب دگرگونی ساختمان پروتئینی آنزیم و غیر فعال شدن آن می گردد.

❖ درجه حرارت بهینه آنزیم ، درجه حرارتی است که آنزیم قادر باشد در واحد زمان مقدار بیشتری سوبسترا را به محصول تبدیل کند .

۵- اثر بازدارنده ها

برخی از ترکیبات قادرند با عوامل شیمیایی موجود در جایگاه فعال آنزیم و یا غیر جایگاه فعال آنزیم و یا همچنین با کوآنزیم و یا با کوفاکتورهای آنزیم ترکیب شوند و **سدی در مقابل فعالیت آنزیم** گردند به این ترکیبات ، بازدارنده می گویند.

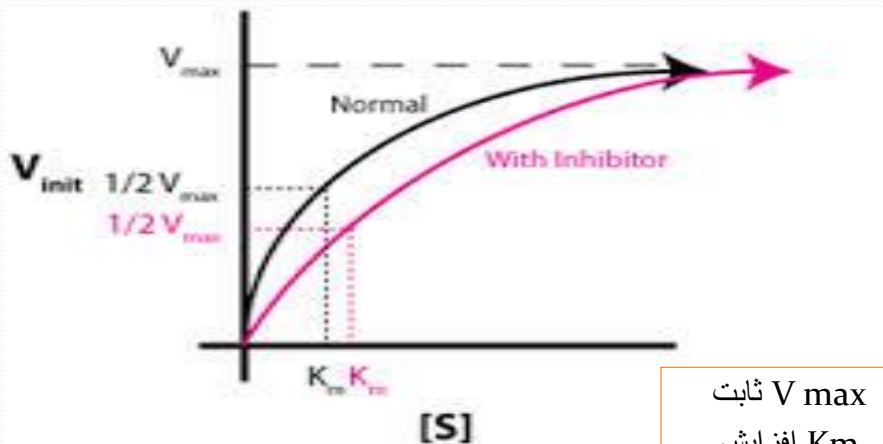


الف) بازدارنده های رقابتی

- ترکیباتی هستند که از نظر ساختمانی شبیه به سوبسترا هستند و این مشابهت سبب می گردد که آنزیم، آنها را در جایگاه فعال خود به جای مولکول سوبسترا جای می دهد. یعنی مهارکننده با سوبسترا برای ترکیب با جایگاه فعال آنزیم رقابت می کند و محصول تشکیل نمی شود.
- با افزایش غلظت سوبسترا آنزیم از مهار شدن رها میشود.



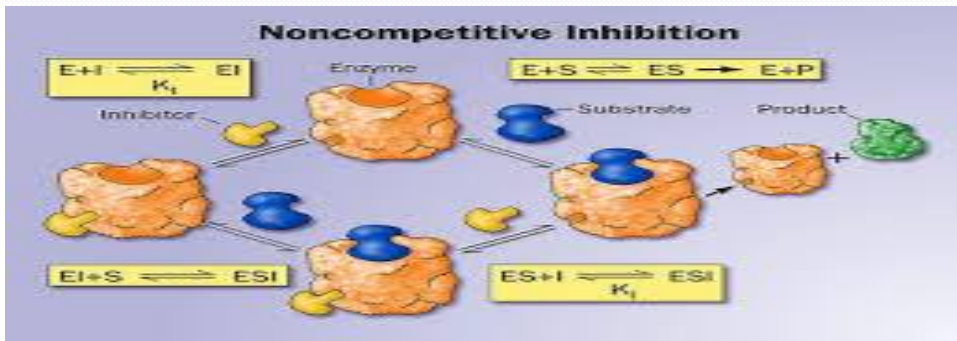
سینتیک بازدارنده رقابتی



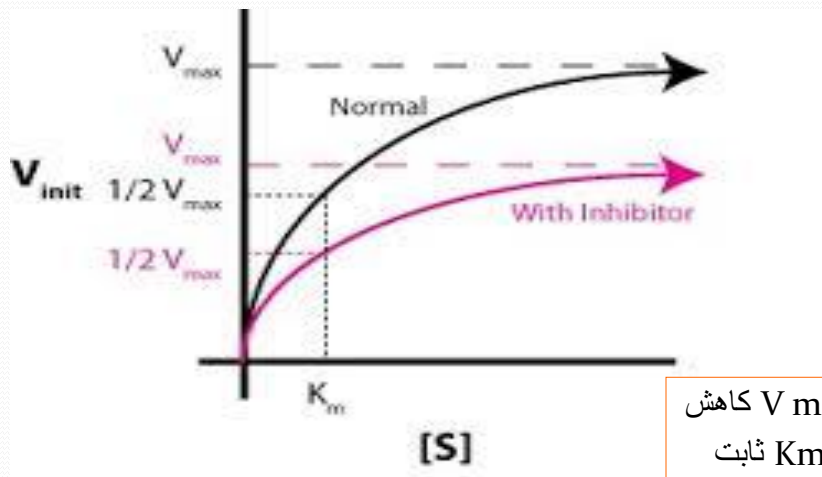
V_{max} ثابت
 K_m افزایش

ب) بازدارنده غیر رقابتی

- محل پیوند این ترکیبات (مهارکننده ها) با آنزیم در محلی غیر از جایگاه فعال آنزیم می باشد و هیچ رقابتی بین سوبسترا و مهارکننده وجود ندارد. اتصال مهار کننده به آنزیم موجب می گردد در ساختمان آنزیم تغییری رخ دهد که از فعالیت آنزیم کاسته شود.



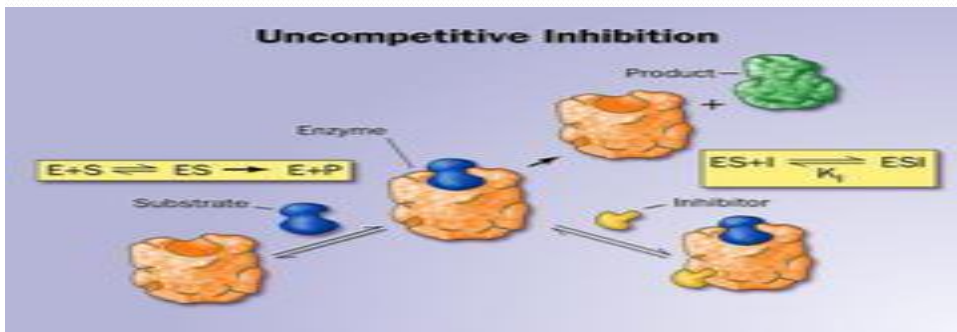
سینتیک بازدارنده غیر رقابتی



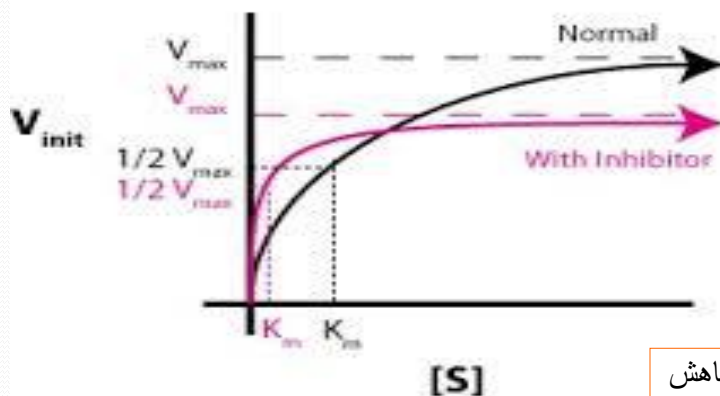
V_{max} کاهش
 K_m ثابت

ج) بازدارنده نارقابتي

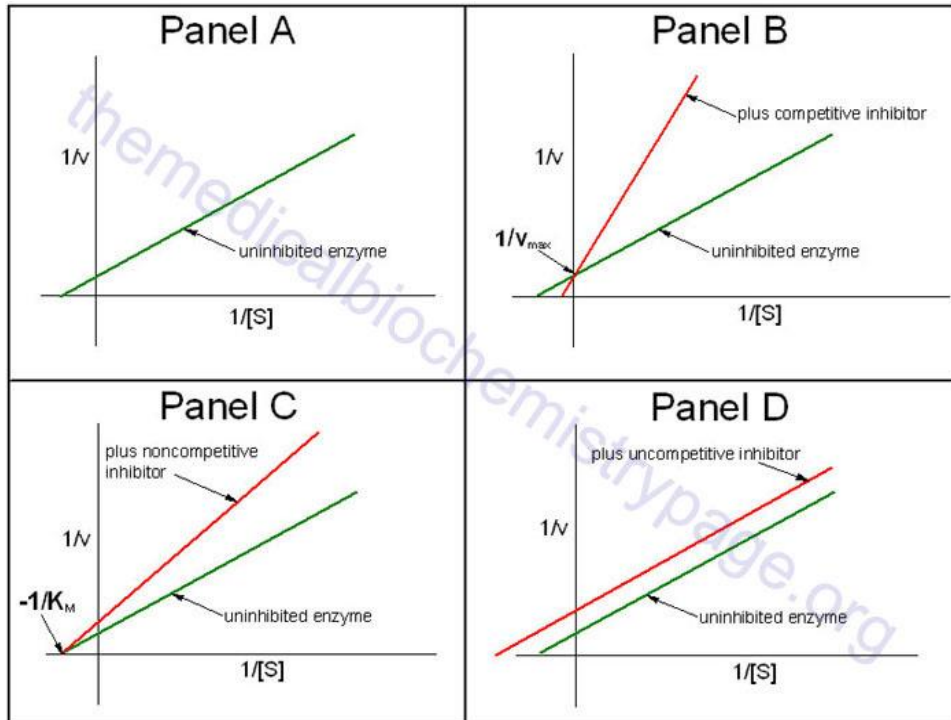
- اين دسته بر خلاف دو بازدارنده قبل، قادر به اتصال با آنزيم آزاد نيست و صرفاً به كمپلكس آنزيم - سوبسترا متصل مي شود و از تبديل آن به محصول جلوگيري مي كند.
- در اين حالت حضور سوبسترا براي كارايي بازدارنده لازم است.



سينتيك بازدارنده نارقابتي



V_{max} کاهش
 K_m کاهش



بازدارنده های برگشت ناپذیر

- این نوع مهارکننده ها به علت ایجاد پیوند های کووالان با آنزیم ، کمپلکس آنزیم - مهار کننده غیر قابل تجزیه و آنزیم کلا " غیر فعال می شود.
- آسپیرین، پنی سیلین، سیانور، گاز جنگی لویسایت ،داروهای آرسنیکی ، غیر فعال کننده کولین استرازو غیره از این دسته هستند.



دلایل اهمیت آنزیم ها در مواد غذایی

1. در مواد بیولوژیک به صورت طبیعی وجود دارد و باعث تغییر طعم، رنگ، بافت و ... می شود.
2. آنزیم ها غیر سمی هستند.
3. عملکرد اختصاصی و کارایی بالایی دارند.
4. کنترل واکنش های آنزیمی نسبتاً ساده است (استفاده از حرارت و pH)
5. از آنزیم ها می توان به عنوان شاخص های کفایت فرایند استفاده کرد.
6. تأثیر بر عوامل ضد تغذیه ای مانند ترکیبات سیانیدی و گلیکوزیدی نفاخ
7. به عنوان شاخصی برای تعیین مقدار برخی مواد در ماده غذایی کاربرد دارد.

۱- آمیلازها

- مهمترین آنزیم گروه هیدرولازها است.

α -آمیلاز

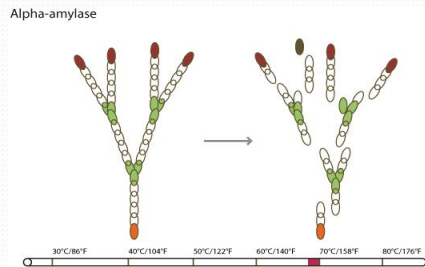
β -آمیلاز

گلوکوآمیلاز

به سه دسته اصلی تقسیم می شود:

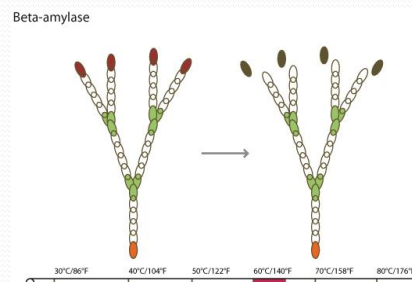
α -آمیلاز

- به میزان زیادی در منابع گیاهی و حیوانات یافت می شود.
- نوعی اندوآنزیم است که به صورت تصادفی پیوند $\alpha(1 \rightarrow 4)$ را می شکند.
- با اثر بر آمیلوپکتین، الیگوساکاریدهای ۲-۶ گلوکزی ایجاد می کند که در این صورت به سرعت ویسکوزیته محلول نشاسته کاهش می یابد و محیط رقیق می شود. به همین دلیل به آن آنزیم مایع کننده (Liquifying enzyme) نیز گویند.



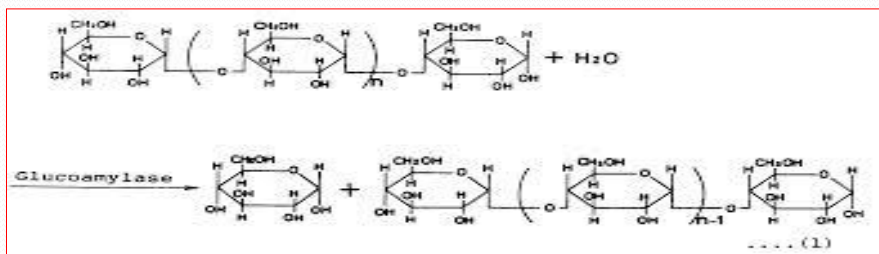
β -آمیلاز

- فقط در گیاهان عالی نظیر مالت جو، گندم، انواع سویا، سیب زمینی یافت می شود.
- نوعی اگزوآنزیم است که از انتهای غیراحیاکننده نشاسته، مولکول های گلوکز را به صورت دوتایی یعنی مالتوز جدا می کند.
- فقط قادر به شکستن پیوند $\alpha(1 \rightarrow 4)$ است و به محض رسیدن به $\alpha(1 \rightarrow 6)$ متوقف می شود.



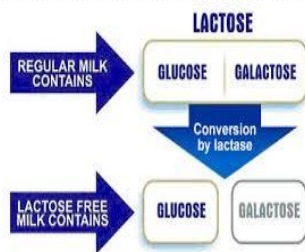
گلو کو آمیلاز

- در کپک ها و باکتری ها از جمله آسپرژیلوس اوریزه یافت می شود.
- نوعی آنزیم است که از انتهای غیر احیا نشاسته ، گلوکز را پی پی جدا می کند.
- این آنزیم قادر است هر دو پیوند $\alpha(1\rightarrow4)$ و $\alpha(1\rightarrow6)$ را بشکند.
- برای تولید صنعتی شربت ذرت و گلوکز از آن استفاده می کنند.



۲-لاکتاز

- به آنزیم β -D- galactosidase مشهور است.
- لاکتوز را به گلوکز و گالاکتوز تبدیل می کند.
- در گیاهان، حیوانات، باکتری ها و مخمرها یافت می شود.
- در تهیه غذای افراد مبتلا به سندروم "عدم تحمل لاکتوز" کاربرد فراوان دارد.



- در فرآورده های لبنی که لاکتوز در آن ایجاد حالت شنی کرده و سبب نامطلوب شدن بافت آنها می گردد، استفاده می شود.

۳- پروتئازها

- وظیفه آنها شکستن باندهای پپتیدی در رشته پروتئینی است.
- پروتئازها به چهار گروه اصلی زیر تقسیم می شوند:

پروتئازهای اسیدی

- در pH های اسیدی فعالند
- پپسین، رنین، تروپسین

سربین پروتئازها

- در جایگاه فعال آنها ریشه سربین + گروه ایمیدازول وجود دارد
- تریپسین، کیموتریپسین، الاستاز

سولفیدریل پروتئازها

- در جایگاه فعال آنها گروه سولفیدریل + هیستیدین وجود دارد
- بروملین، پاپائین، فیسین، کاتپسین

پروتئازهای فلزی

- برای فعالیت حتماً به کوفاکتور فلزی نیاز دارند.
- کربوکسی پپتیدازها و آمینوپپتیدازها

رنین

- شکل خالص آنزیم موجود رنت یا مایه پنیر است.
- از معده گوساله شیرخوار استخراج می شود.
- رنین قادر است تا برخی پیوندهای پروتئین کازئین موجود در شیر را شکسته و سبب ترسیب آن شود.
- از این فرایند در پنیر سازی استفاده می شود.
- pH مناسب برای فعالیت رنین ۳/۵ است.



Renin



کاتپسین ها

- اینگروه شامل چند نوع آنزیم است که در لیزوزوم های سلول قرار دارند و از بقیه پروتئازها مانند تریپسین که به بیرون از سلول ترشح می شود، قابل تشخیص است.
- در دوران حیات حیوان نقش چندانی ندارند و به طور مهار شده ای در سلول قرار دارد اما پس از مرگ از لیزوزوم رها شده و فعالیتش آغاز می شود.
- در عمل ترد شدن گوشت پس از کشتار و جمود نعشی شرکت دارد و باعث تجزیه پروتئین های میوفیبریلی می گردد.



۴- لیپازها

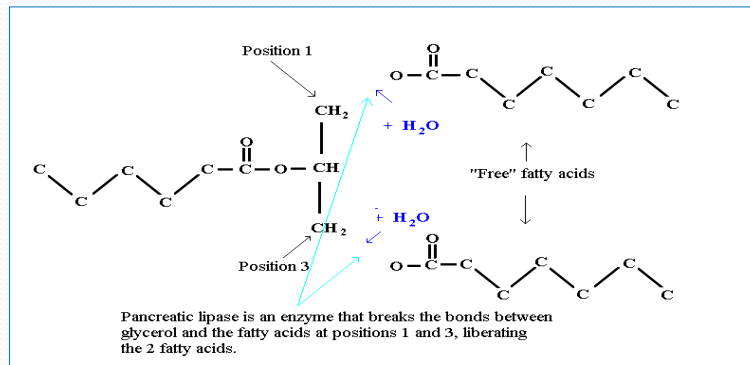
- لیپازها انواع مختلفی دارند و سبب شکسته شدن پیوندهای استری میان گروه های الکلی و اسیدی می گردند.
- ویژگی خاص لیپازها در این است که اساساً در سطح میان امولسیون آب و چربی اثر خود را ظاهر می سازند. به این ترتیب هر عاملی که باعث افزایش سطح میان آب و چربی در یک سیستم امولسیونی شود، افزایش فعالیت لیپاز را به همراه دارد.

مطلوب : تولید پنیرهایی نظیر پنیر های کاممبرت، آبی ، راکوفورت

• لیپاز در مواد غذایی

نامطلوب : تندی و ترشیدگی شیر، افزایش اسیدهای چرب در روغن ها

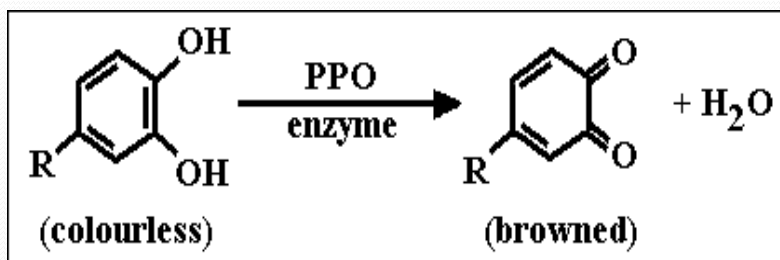
- برخی از لیپازها نظیر لیپاز پانکراس به طور اختصاصی عمل می کنند و ترجیحاً اسیدهای چرب موقعیت های ۱ و ۳ گلیسرید را می شکند.



- عمل لیپاز صرفاً جدا کردن اسیدهای چرب نیست و در برخی شرایط خاص ممکن است لیپاز استری کردن یعنی متصل نمودن اسید چرب به گلیسرول را انجام می دهد.

۵- پلی فنول اکسیداز

- عامل ایجاد پدیده قهوه ای شدن آنزیمی در مواد غذایی است.
- فنلازها یا پلی فنولازها دارای فلز مس هستند و بدون آن قادر به فعالیت نیستند.



- سوسترای تمام آنزیم های پلی فنول اکسیداز، ترکیبات فنولی موجود در گیاه و اساساً فلاونوئیدها نظیر کاتشین ها، آنتوسیانین ها و فلاونول ها می باشد.
- واکنش های قهوه ای شدن در تولید چای و قهوه مطلوب است ولی در سایر گیاهان و فرایندها، این واکنش ها نامطلوب است.

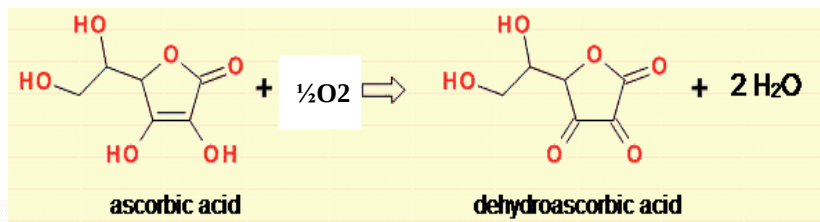


۶- لیپوکسیژناز

- عمل لیپوکسیژناز کاتالیزه کردن اکسیداسیون روغن های غیر اشباع در گیاهان است.
- منبع اصلی آن به طور کلی حبوبات به ویژه سویاست و به میزان کمتری در گندم و بادام زمینی و سیب زمینی یافت می شود.
- بیشتر اسیدهای چرب لینولئیک، لینولنیک و آراشیدونیک مورد حمله این آنزیم قرار می گیرند.
- این آنزیم در خود حاوی اتم آهن است.
- در اکثر موارد اثر لیپوکسیژناز در مواد غذایی نامطلوب است ولی در محصولات آردی به دلیل رنگبری کاروتنوئیدها و اکسیداسیون گروه های سولفیدریلی دارای اثر مثبت است.

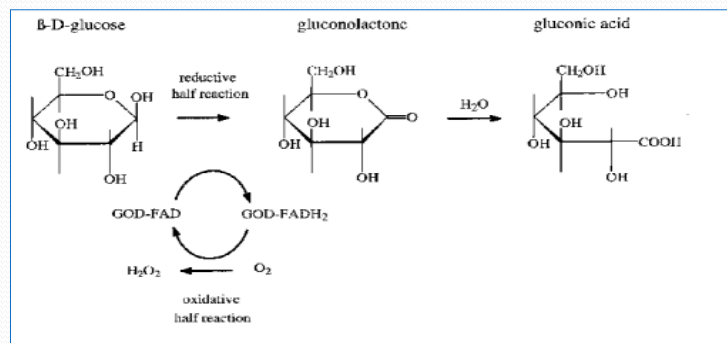
۷- آسکوربیک اسید اکسیداز

- این آنزیم دارای فلز مس است و اکسیداسیون اسید آسکوربیک را کاتالیز می کند.
- در صنایع مرکبات وجود این آنزیم حائز اهمیت است به طوریکه پس از عصاره گیری مرکبات باید بلافاصله هوا از محیط حذف و عملیات پاستوریزه کردن صورت گیرد.



۸- گلوکز اکسیداز

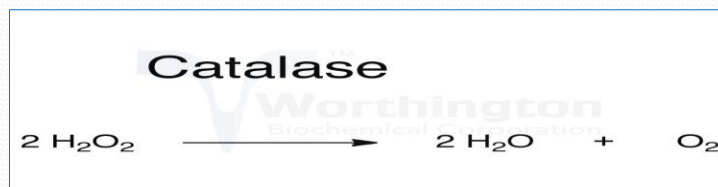
- این آنزیم گلوکز را پس از یک سری واکنش ها به اسید گلوکونیک تبدیل می کند.



- برای حذف اکسیژن و گلوکز از محیط از این آنزیم استفاده می شود.
- در صنایع نوشابه سازی با توجه به اثرات سود طعم و رنگ توسط اکسیژن، از گلوکز اکسیداز جهت حذف O₂ استفاده می شود.
- همچنین در مواردی که گلوکز در واکنش های قهوه ای شدن شرکت می کند و فرایند نامطلوبی محسوب می شود، می توان به کمک این آنزیم گلوکز را حذف کرد (تولید پودر تخم مرغ).

۹- کاتالاز

- در تمام حیوانات، گیاهان و میکروارگانیسم ها وجود دارند.
- کاتالاز ها به دلیل مقاومت حرارتی بالا، به عنوان شاخصی در این نوع فرایند ها استفاده می شود.
- حذف آب اکسیژنه تولیدی در جریان متابولیسم اکسیداتیو و همچنین استفاده از آب اکسیژنه برای اکسید کردن فنول ها، الکل هاو .. از وظایف این آنزیم است.



۱۰- آنزیم های پکتیک

- این آنزیم ها قادر هستند مواد پکتیکی دیواره سلول های گیاهی را تجزیه نمایند.
- این آنزیم ها در صنایع تولید آبمیوه بسیار اهمیت دارند و به منظور کمک به صاف کردن و شفاف ساختن آبمیوه به کار می رود.
- وجود این آنزیم ها در میوه ها و سبزی ها می تواند به نرم شدن اضافی این مواد منتهی شود.

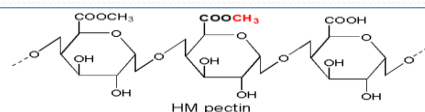
پکتین استراز: جدا کردن گروه متوکسیل از پکتین

پلی گالاتکتوروناز: شکستن پیوند گلیکوزیدی

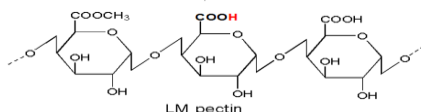
پکتات لیاز: شکستن پیوند گلیکوزیدی و تشکیل پیوند دو گانه بین کربن ۴ و ۵

آنزیم های پکتیکی

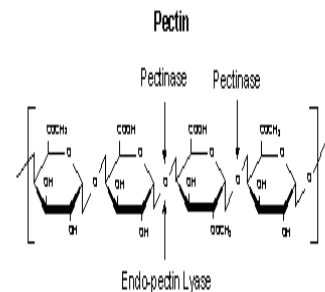
پکتیناز



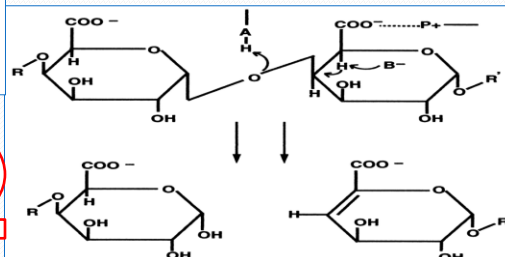
pectin methylesterase catalyzes demethylation



Could the demethylation also be catalyzed by enzyme(s) found in horseradish?



پکتاز



پکتات لیاز

۱۱- فیتازها

- اسید فیتیک که از نظر شیمیایی استر اسید فسفریک با اینوزیتول می باشد، به منزله منبع ذخیره فسفر در گیاهان عمل می کند.
- اسید فیتیک با برخی از مواد معدنی از جمله آهن، روی و کلسیم ایجاد کمپلکس کرده و موجودیت آنها را که از لحاظ تغذیه ای لازم است، کاهش می دهد.
- اسید فیتیک با جذب کلسیم سبب نرمی ساختار سبزیجات می شود.
- اسید فیتیک از اثر برخی آنزیم ها مثل پپسین و آمیلاز جلوگیری می کند.
- آنزیم فیتاز با جدا کردن فسفات از اسید فیتیک اثرات بد تغذیه ای و بافتی اسید فیتیک را از بین می برد.

نحوه عمل آنزیم فیتاز

