



Βιοχημεία Τροφίμων

Ένζυμα

Κατάταξη ενζύμων

Επεξεργασία τροφίμων και δράση ενζύμων

Εφαρμογές ενζύμων στην Τεχνολογία τροφίμων

Ένζυμα που υδρολύουν υδατάνθρακες

Πρωτεολυτικά ένζυμα

Λιπολυτικά ένζυμα

Οξειδοαναγωγάσες

Γενικά χαρακτηριστικά

- ↪ Δεσμεύουν εκλεκτικά τα υποστρώματά τους
- ↪ Καταλύουν τη μετατροπή των υποστρωμάτων σε προϊόντα
- ↪ Συχνά η κατάλυση χρησιμοποιεί συνένζυμα ή προσθετικές ομάδες
- ↪ Αποένζυμο: ένζυμο απουσία προσθετικής ομάδας (πρωτεϊνικό μέρος)
- ↪ Απόλυτη, υψηλή και χαμηλή εξειδίκευση

ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΕΝΖΥΜΩΝ

Κατηγοριοποίηση σύμφωνα με την καταλυτική τους φύση (την αντίδραση που καταλύουν) - Επιτροπή Ενζύμων (Enzyme Commission)

Σε κάθε ένζυμο αντιστοιχεί ένας κωδικός αριθμός (Enzyme code - **EC**) ο οποίος αποτελείται από 4 επιμέρους αριθμούς

✘ Ο πρώτος τέτοιος αριθμός ή ψηφίο δηλώνει την κύρια κατηγορία αντίδρασης που ανήκει το ένζυμο:

No.	Class	Type of reaction catalyzed
1	Oxidoreductases	Transfer of electrons (hydride ions or H atoms)
2	Transferases	Group-transfer reactions
3	Hydrolases	Hydrolysis reactions (transfer of functional groups to water)
4	Lyases	Addition of groups to double bonds, or formation of double bonds by removal of groups
5	Isomerases	Transfer of groups within molecules to yield isomeric forms
6	Ligases	Formation of C—C, C—S, C—O, and C—N bonds by condensation reactions coupled to ATP cleavage

Παραδείγματα

δεϋδρογονάσες, αναγωγάσες, οξειδάσες, υπεροξειδάσες κτλ.

λιπάσες, πρωτεϊνάσες, πηκτινестεράσες, αμυλάσες, μαλτάσες κτλ.

καρβοξυλάσες, δεϋδρολυάσες, υδρολυάσες

επιμεράσες, ρακεμάσες

✘ Το δεύτερο και τρίτο ψηφίο δηλώνει το είδος της καταλυτικής αντίδρασης

✘ Το τέταρτο διαφοροποιεί ένζυμο που καταλύουν πολύ παρόμοιες αντιδράσεις, πχ υδρόλυση διαφορετικών εστέρων ενός καρβοξυλικού οξέος

EC 1.1.1

With NAD⁺ or NADP⁺ as acceptor

Contents

- [EC 1.1.1.1](#) alcohol dehydrogenase
- [EC 1.1.1.2](#) alcohol dehydrogenase (NADP⁺)
- [EC 1.1.1.3](#) homoserine dehydrogenase
- [EC 1.1.1.4](#) (*R,R*)-butanediol dehydrogenase
- [EC 1.1.1.5](#) transferred, now [EC 1.1.1.303](#) and [EC 1.1.1.304](#)
- [EC 1.1.1.6](#) glycerol dehydrogenase
- [EC 1.1.1.7](#) propanediol-phosphate dehydrogenase
- [EC 1.1.1.8](#) glycerol-3-phosphate dehydrogenase (NAD⁺)
- [EC 1.1.1.9](#) D-xylulose reductase
- [EC 1.1.1.10](#) L-xylulose reductase
- [EC 1.1.1.11](#) D-arabinitol 4-dehydrogenase
- [EC 1.1.1.12](#) L-arabinitol 4-dehydrogenase
- [EC 1.1.1.13](#) L-arabinitol 2-dehydrogenase
- [EC 1.1.1.14](#) L-iditol 2-dehydrogenase
- [EC 1.1.1.15](#) D-iditol 2-dehydrogenase
- [EC 1.1.1.16](#) galactitol 2-dehydrogenase
- [EC 1.1.1.17](#) mannitol-1-phosphate 5-dehydrogenase
- [EC 1.1.1.18](#) inositol 2-dehydrogenase
- [EC 1.1.1.19](#) glucuronate reductase
- [EC 1.1.1.20](#) glucuronolactone reductase
- [EC 1.1.1.21](#) aldose reductase
- [EC 1.1.1.22](#) UDP-glucose 6-dehydrogenase
- [EC 1.1.1.23](#) histidinol dehydrogenase

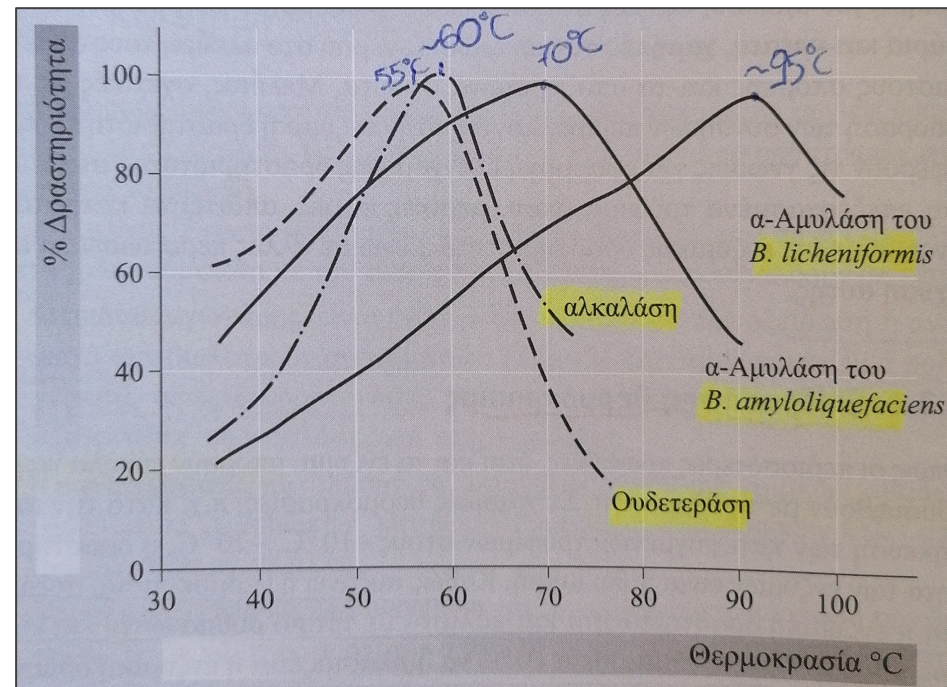
Παράγοντες που επηρεάζουν την ενεργότητα-δράση των ενζύμων κατά την επεξεργασία των τροφίμων

1. Θερμοκρασία
2. pH
3. Συγκέντρωση ενζύμου
4. Συγκέντρωση υποστρώματος
5. Ενεργότητα νερού (a_w)
6. Αναστολείς και ενεργοποιητές

Επίδραση Θερμοκρασίας

- Μικρή δραστηριότητα σε κατεψυγμένα τρόφιμα (-10, -20°C)
- Θ ανάλογη της ενζυμικής δραστικότητας
- Για κάθε αύξηση κατά 10°C διπλασιάζεται η ενζυμική δραστικότητα, $Q_{10} = 2$
- Μέγιστη ενζυμική δραστικότητα: 30-40°C
- 40-50°C έναρξη μετουσίωσης, μείωση Q_{10}
- >50°C γρήγορη θερμική αδρανοποίηση

- *Εξαιρέσεις*: θερμοανθεκτικά ένζυμα – θερμοευαίσθητα ένζυμα (ψυχρόφιλων μικροοργανισμών)



Συνέπειες συνέχισης ενζυμικής δράσης

☞ Αμαύρωση, αλλαγή στη γεύση υδατανθράκων, τάγγιση λιπών, μείωση θρεπτικής αξίας, αλλαγή δομής τροφίμων

⇒ **Θερμική αδρανοποίηση (blanching)** – απαραίτητη η διακοπή της ενζυμικής δραστηριότητας

Προηγείται της κονσερβοποίησης, διατήρησης υπό ψύξη & αφυδάτωσης φρούτων & λαχανικών
Σύντομη έκθεση των προϊόντων σε ατμό ή βάπτισμα σε θερμό νερό

HTST – αδρανοποίηση πηκτολυτικών ενζύμων για διατήρηση θολερότητας χυμών

Γρήγορη αδρανοποίηση E – μικρές απώλειες σε υδατοδιαλυτά συστατικά

Πώς διαπιστώνουμε εάν είναι επιτυχημένη η αδρανοποίηση;

↳ Μέτρηση ενζυμικής δραστηριότητας πχ υπεροξειδάσης (ιδιαίτερα θερμοανθεκτικό - δείκτης καταστροφής υπόλοιπων E)

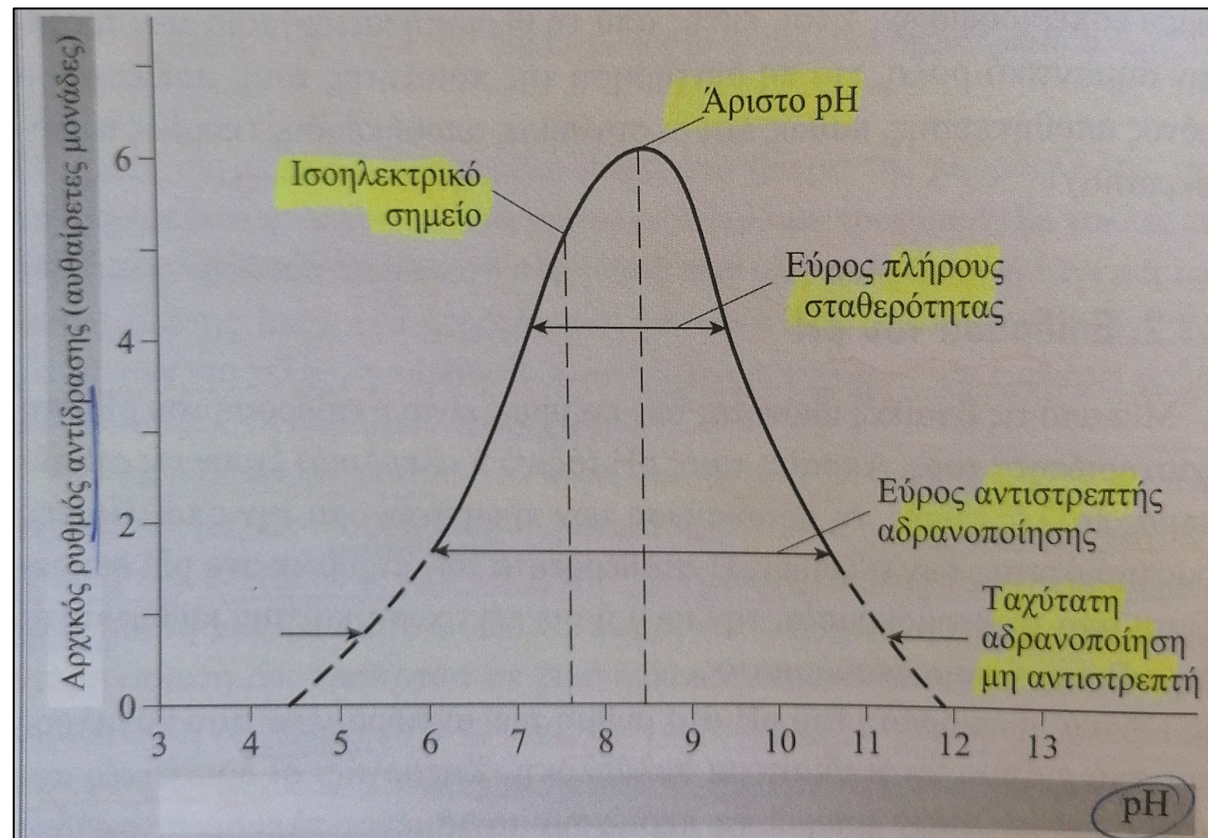
Περιπτώσεις όπου τα ένζυμα ενεργοποιούνται ξανά μετά από κάποιο χρονικό διάστημα

1. Φωσφατάσες & λιπάσες γάλακτος
2. Υπεροξειδάσες & καταλάσες λαχανικών
3. Πηκτινάσες χυμού εσπεριδοειδών

→ Ημερομηνία λήξης, συνθήκες αποθήκευσης για διατήρηση ποιότητας

Επίδραση του pH

- Ακραίες τιμές pH → μετουσίωση πρωτεϊνών & απώλεια ενζυμικής δραστηκότητας
- Σταθερότητα επηρεάζεται από: θερμοκρασία, ιονική ισχύ, καθαρότητα ενζυμικού παρασκευάσματος
- Πολύπλοκη η επίδραση του pH



Ο ρόλος του νερού στις ενζυμικές αντιδράσεις

- Απαραίτητο για τη διατήρηση της δομής του ενζύμου
- Μέσο για κατεύθυνση του υποστρώματος στη δραστική πλευρά του ενζύμου
- Απομακρύνει τα σχηματιζόμενα προϊόντα
- Διαλύτης
- Αποτελεί ένα από τα αντιδρώντα

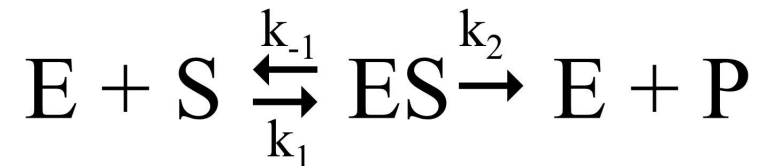
Μείωση διαθέσιμου νερού

- Δεν παρατηρείται δραστηριότητα πολλών ενζύμων πχ λυσοζύμη, αμυλάσες
- Δεν πραγματοποιούνται αντιδράσεις

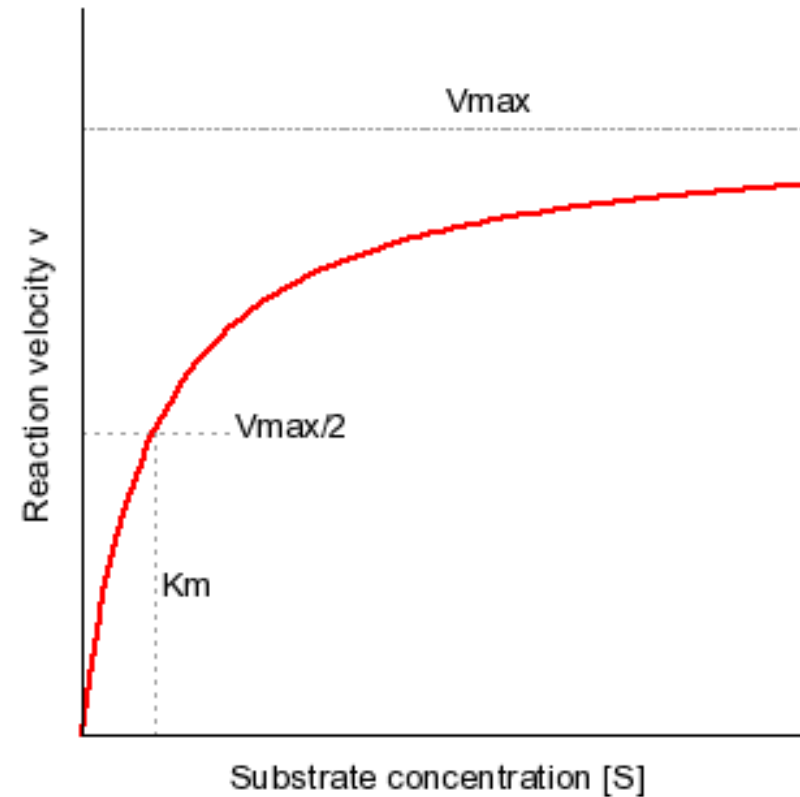


Συγκέντρωση ενζύμου - υποστρώματος

Κινητική Michaelis-Menten

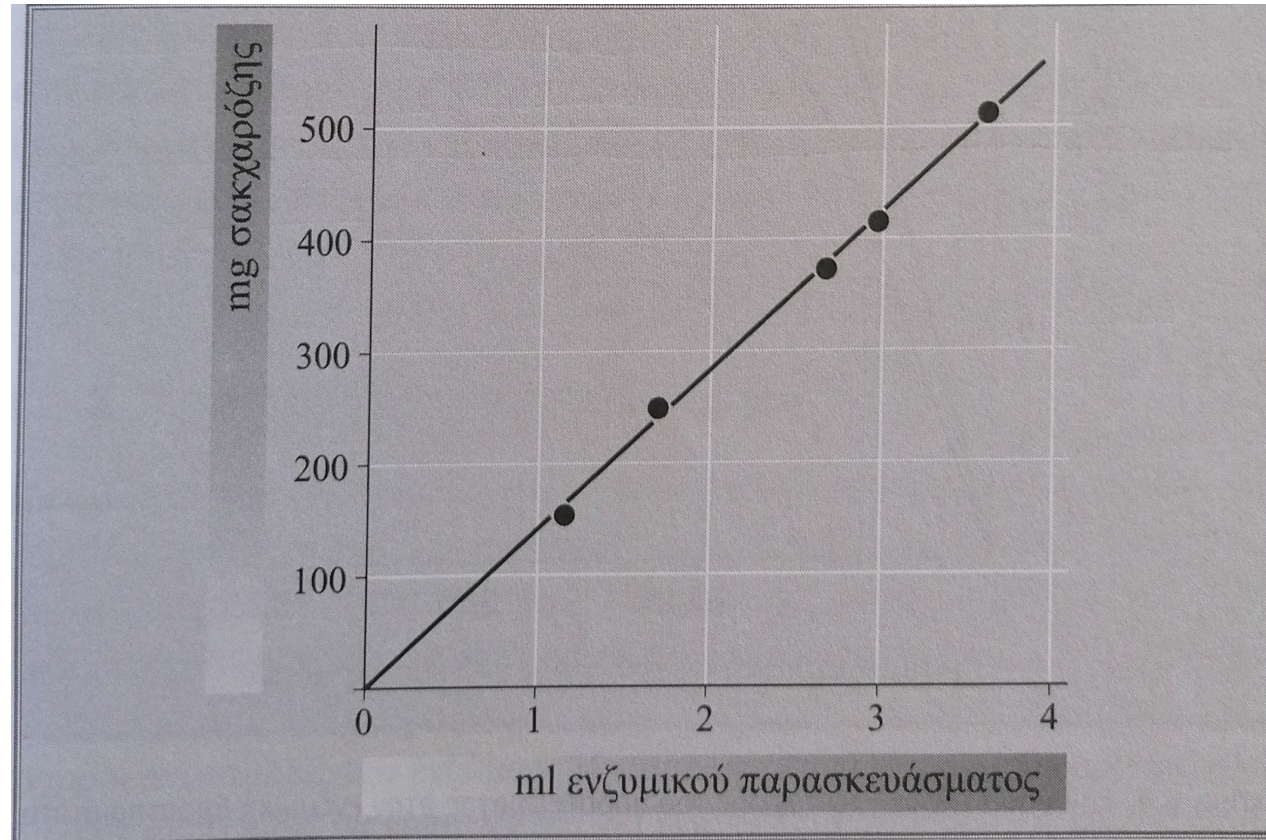


$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]}$$



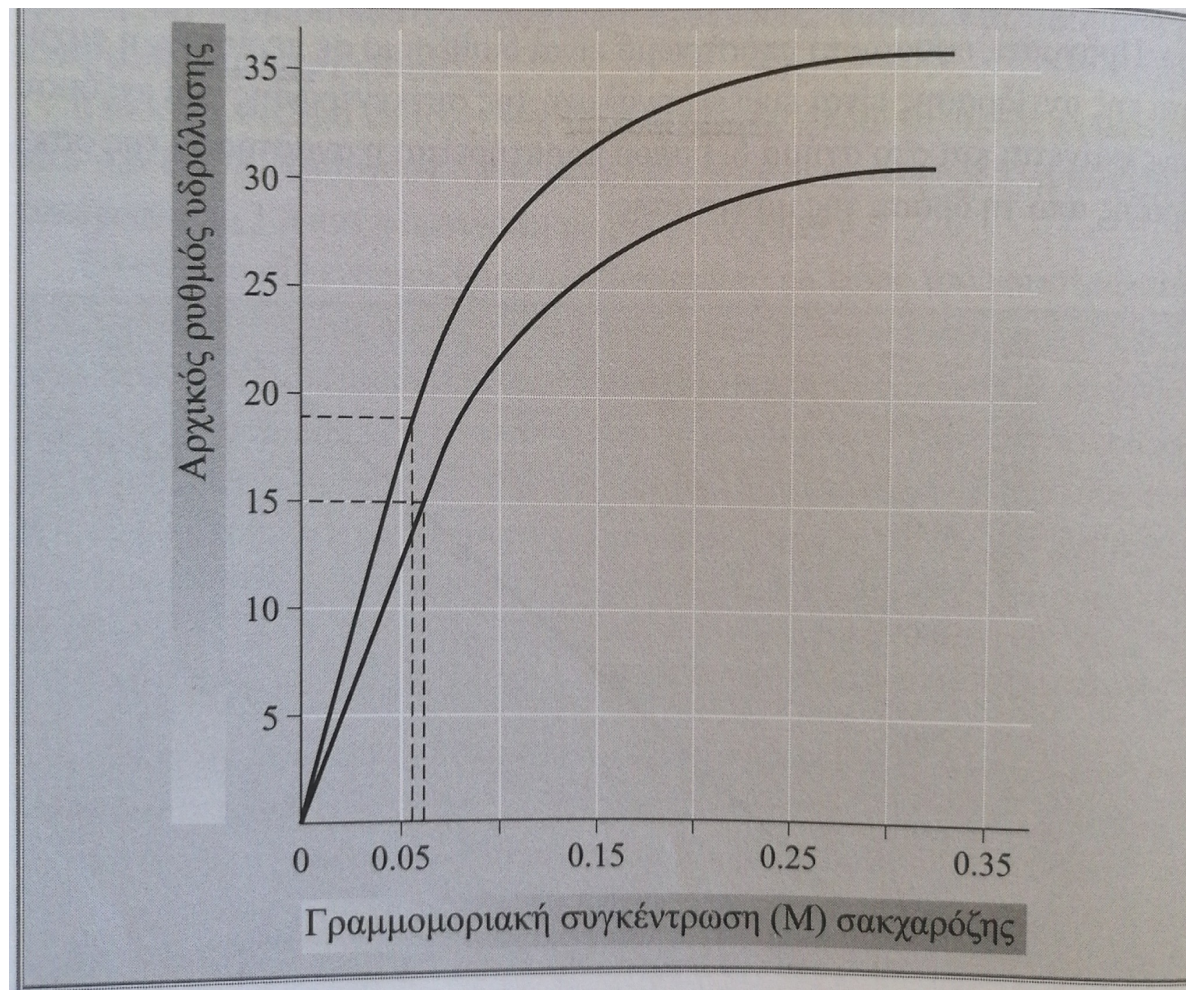
➤ $V_{αντίδρασης}$ = πόσο P παράγεται στη μονάδα χρόνου

Συγκέντρωση ενζύμου




Δράση ιμβερτάσης

Συγκέντρωση υποστρώματος



Στα τρόφιμα υπάρχει περίσσεια υποστρώματος → Οι διεργασίες θα πρέπει να συσχετίζονται με τη [E]

Αναστολείς – Ενεργοποιητές των ενζύμων

 [Συναγωνιστική ($\uparrow K_M$ /ίδιο V_{max}) – Μη συναγωνιστική (ίδιο K_M / $\downarrow V_{max}$) – Ανταγωνιστική ($\downarrow K_M$ / $\downarrow V_{max}$) αναστολή]

- Υπάρχουν φυσικά στα τρόφιμα ή προστίθενται κατά την κατεργασία
- Η επίδραση ποικίλει – ιόν τοξικό και ενεργοποιητής για διαφορετικά ένζυμα
- Σημαντική είναι η συγκέντρωση
- Ιόντα βαρέων μετάλλων (Hg^{2+} , Pb^{2+}), Ag^{2+} → ισχυροί αναστολείς
- Φυσικοί αναστολείς (πέψη): ιμβερτάση, τρυψίνη, αμυλάση, φωσφορυλάση
- Προστιθέμενοι αναστολείς → υποβάθμιση γεύσης & οσμής, τοξικότητα, κόστος

- Ενεργοποιητές: Ca^{2+} , Mg^{2+}
- Χρησιμοποιούνται λιγότερο
- Εφαρμογή στην τεχνητή τρυφεροποίηση κρέατος: -SH ενεργοποιούν την παπαΐνη

Στα τρόφιμά προτιμώνται οι παράγοντες θερμοκρασία και pH έναντι της προσθήκης αναστολέων-ενεργοποιητών



Τα ένζυμα στην τεχνολογία των τροφίμων

Προσθήκη εξωγενών παρασκευασμάτων που προέρχονται από φυτικά συμπυκνώματα, ιστούς ζώων και μικροοργανισμούς

Πηγές και εφαρμογές εμπορικών ενζύμων

Ενζυμο	Πηγή	Εφαρμογή
Ζωϊκά ένζυμα		
Χυμοσίνη (ρεννίνη)	4ος στόμαχος μηρυκαστικών	Τυροκομία
Καταλάση	Ήπαρ (βόειο)	Διάφορα τρόφιμα
Λιπάση	Πάγκρεας	Διάφορα τρόφιμα
Φυτικά ένζυμα		
α-και β-Αμυλάση	Βύνη ζυθοποιίας	Ζυθοποιία
β-Αμυλάση	Γλυκοπατάτα	Αρτοποιία
Λιποξυγονάση	Σόγια	Διάφορα τρόφιμα
Βρωμελαΐνη (πρωτεάση)	Ανανάς	Κρέας και προϊόντα κρέατος
Φικίνη (πρωτεάση)	Γάλα (latex) συκιάς	Κρέας και προϊόντα κρέατος
Παπαΐνη	Παπάγια	Κρέας και προϊόντα κρέατος
Βακτηριακά ένζυμα		
β-Αμυλάση	Βάκιλλοι	Άμυλο
Ισομεράση γλυκόζης	Βάκιλλοι	Σιρόπι φρουκτόζης
Πουλουλανάση	<i>Klebsiella</i>	Άμυλο
Ένζυμα μυκήτων		
α-Αμυλάση	<i>Aspergillus</i>	Αρτοποιία
Λακτάση	<i>Aspergillus</i>	Γαλακτοκομικά
Πηκτινάση	<i>Aspergillus</i>	Ποτά
Ένζυμα ζυμών		
Ιμβερτάση	<i>Saccharomyces</i>	Ζαχαροπλαστική
Λακτάση	<i>Kluyveromyces</i>	Γαλακτοκομικά
Λιπάση	<i>Candida</i>	Διάφορα τρόφιμα

Υδρολυτικά Ένζυμα *(υδατάνθρακες)*

Αμυλάσες, Ιμβερτάση, Λακτάση, Πηκτινάσες, Κυτταρινάσες, Ημικυτταρινάσες

Πρωτεολυτικά Ένζυμα

Πρωτεάσες

Λιπολυτικά Ένζυμα

Λιπάσες

Οξειδοαναγωγικά Ένζυμα

Οξειδοαναγωγάσες

Ένζυμα που υδρολύουν υδατάνθρακες

Υδρόλυση πολυσακχαριτών & ολιγοσακχαριτών

- Αμυλάσες στην αρτοποιία και στη ρευστοποίηση αμύλου
- Ιμβερτάση στη ζαχαροπλαστική
- Λακτάση στη γαλακτοκομία
- Πηκτινάσες στην οινοποιία και στη βιομηχανία χυμών φρούτων
- Κυτταρινάσες
- Ημικυτταρινάσες

Αμυλάσες στην αρτοποιία



Ζύμη ψωμιού: αλεύρι, νερό, αλάτι, εμπορικό παρασκεύασμα ζυμομυκήτων (μαγιά)



α-αμυλάση – β-αμυλάση (διαστάσεις)

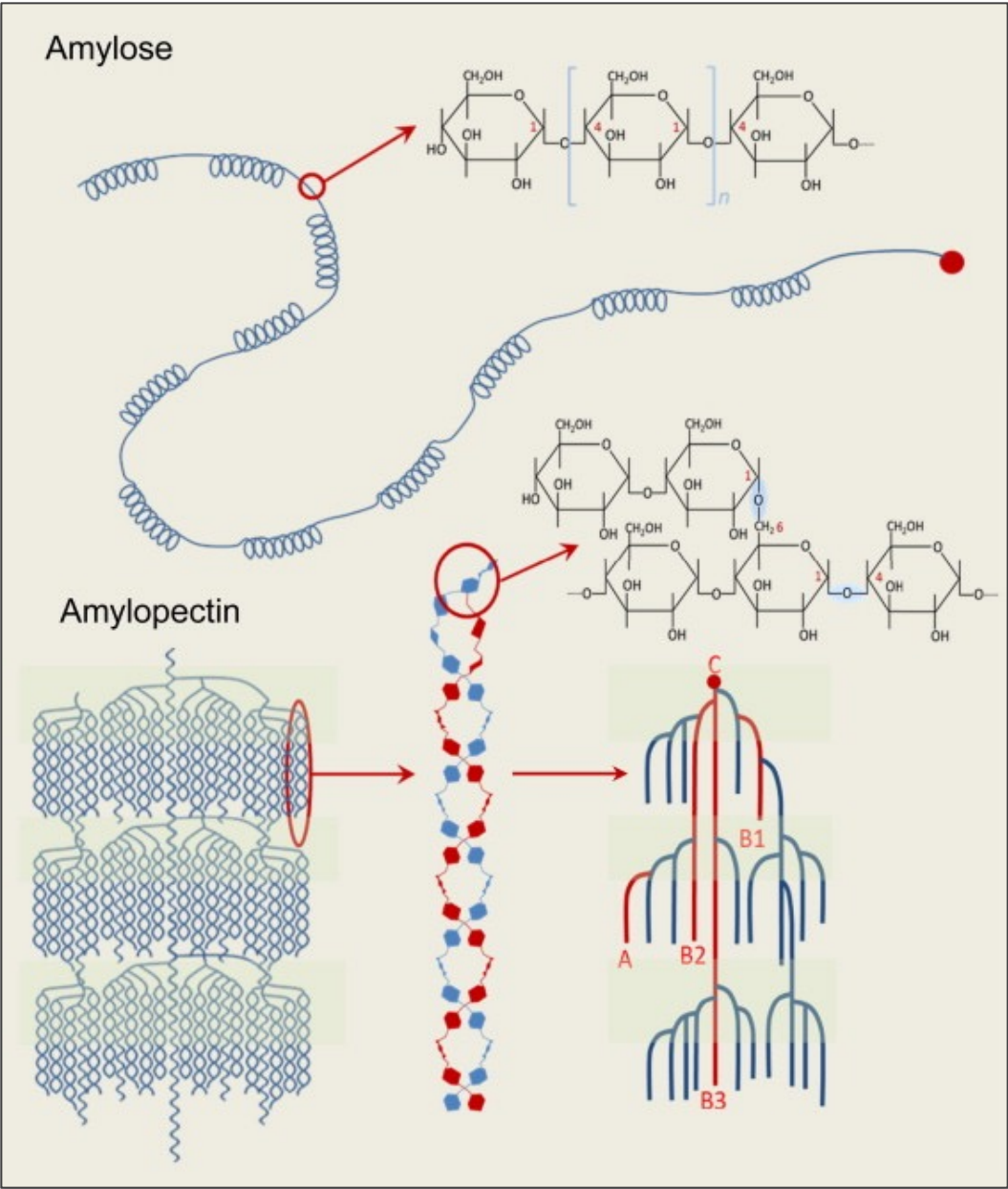
Υπόστρωμά τους είναι το άμυλο αποτελούμενο από [αμυλόζη και αμυλοπηκτίνη](#)

1. **α-αμυλάση** (δεξτρινογόνος): υδρολύει α-1,4 δεσμούς αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης με τυχαίο τρόπο (ενδοαμυλάση). Προϊόντα: χαμηλού μοριακού βάρους (MB) δεξτρίνες, μαλτόζη και γλυκόζη

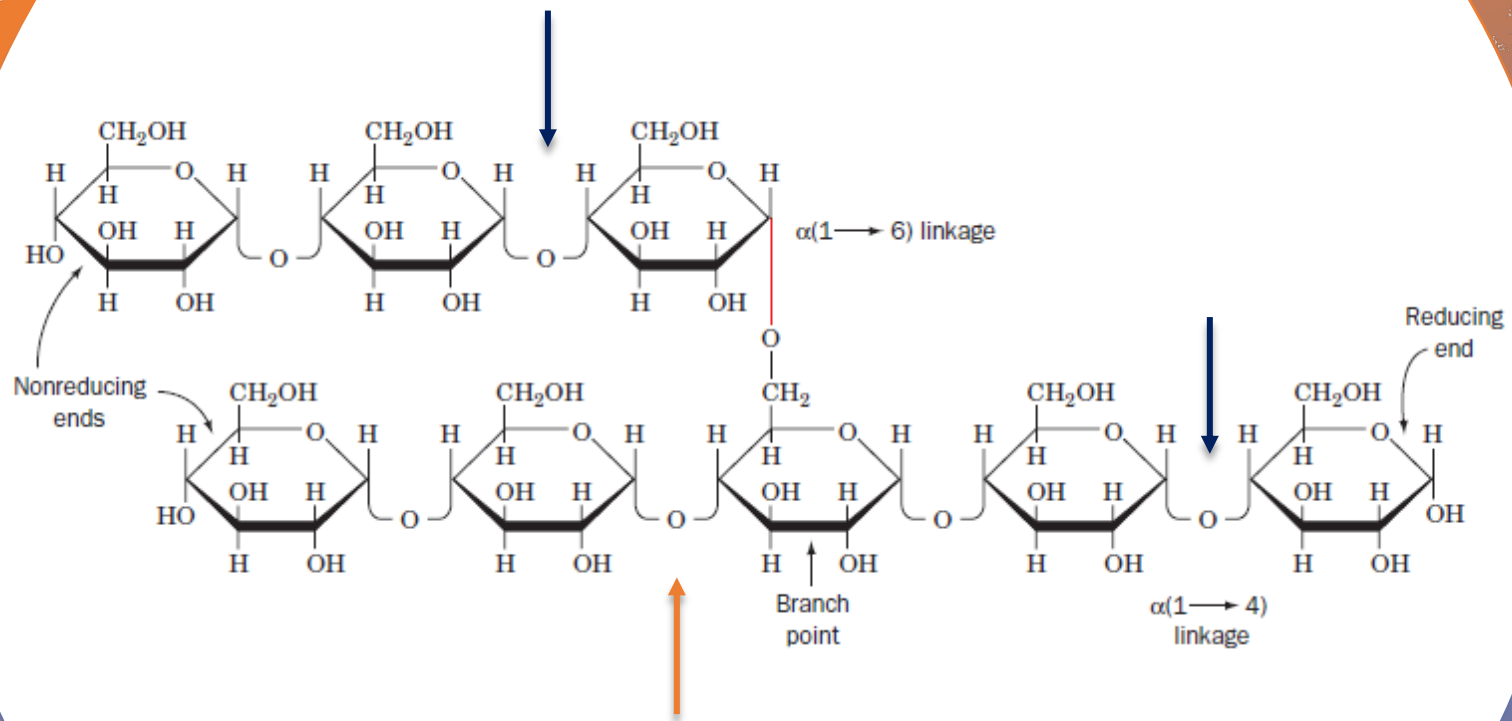
2. **β-αμυλάση** (γλυκογόνος): υδρολύει α-1,4 δεσμούς αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης αποσπώντας μόρια μαλτόζης από το μη αναγωγικό άκρο → μετατροπή αμυλόζης σε μαλτόζη & αμυλοπηκτίνης σε μείγμα μαλτόζης και δεξτρινών υψηλού MB

Η παραγόμενη μαλτόζη διασπάται από τη *μαλτάση* των ζυμομυκήτων της μαγιάς σε απλά σάκχαρα (ακολουθεί ζύμωση προς αλκοόλη και CO₂)

Φούσκωμα ψωμιού



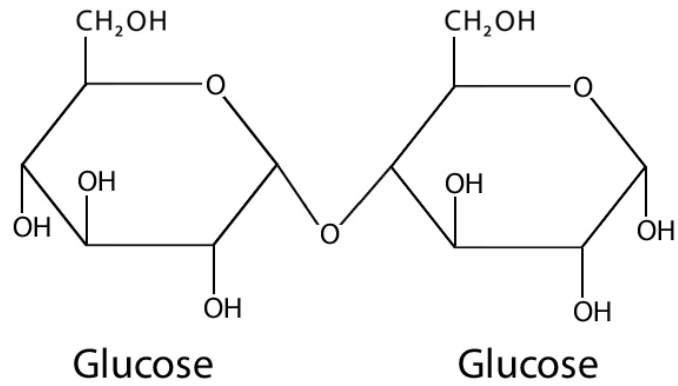
α-αμυλάση



β-αμυλάση

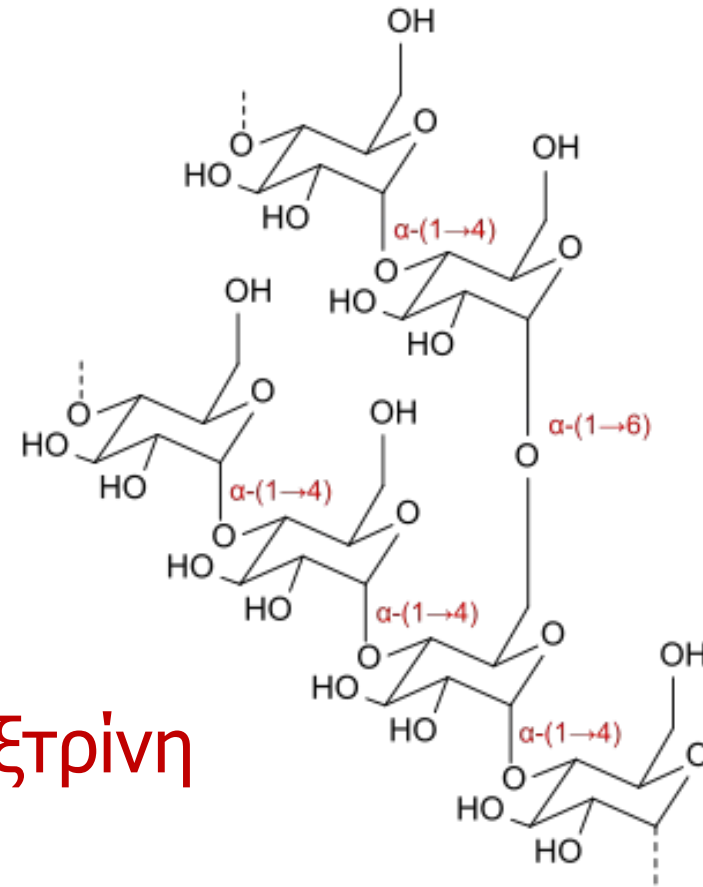
α-αμυλάση: υδρολύει τυχαία α-1,4 δεσμούς
β-αμυλάση: αφαιρεί μόρια μαλτόζης από το μη αναγωγικό άκρο

Μαλτόζη



©Nutrientsreview.com

Δεξτρίνη

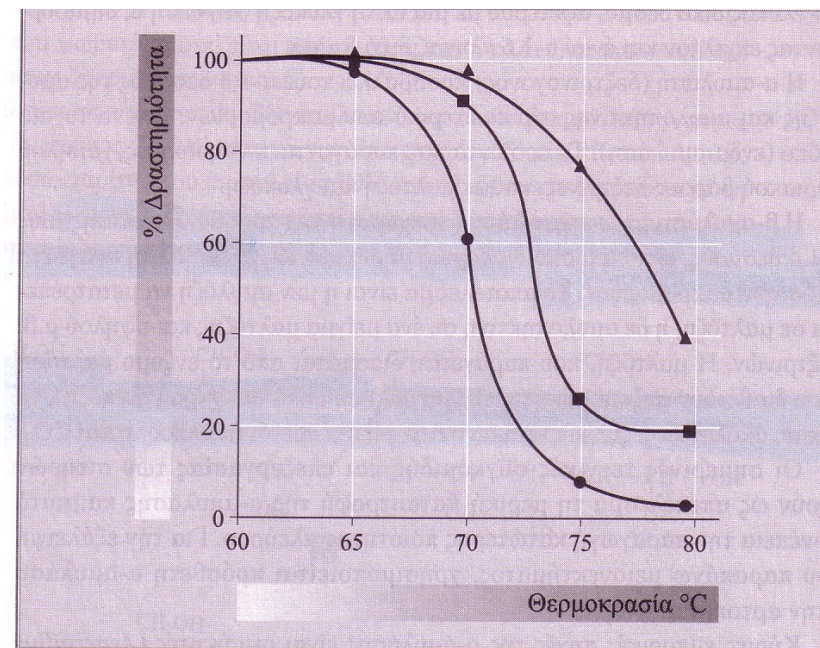


Οι σημερινές τεχνικές συγκομιδής και επεξεργασίας των σιτηρών καταστρέφουν μερικώς την ενδογενή α-αμυλάση ⇒ **κατώτερης** ποιότητας αλεύρι ⇒ ανάγκη για εξωγενή προσθήκη

Εμπορικές **πηγές** α-αμυλάσης:

- | | |
|--|-----------------|
| 1. Μύκητες (<i>Aspergillus oryzae</i>) | θερμοευαίσθητες |
| 2. Βακτήρια (<i>Bacillus subtilis</i>) | θερμοάντοχες |
| 3. Δημητριακά (σίκαλη, βλαστημένοι σπόροι σίτου) | θερμοάντοχες |

Δραστικότητα σε pH 5-5.5, μεγάλη διαφορά στην θερμική σταθερότητα:



Σχήμα 6.6. Θερμική σταθερότητα της α-αμυλάσης. (▲) Βακτηριακή αμυλάση. (■) Αμυλάση βλαστημένου σίτου. (●) Μυκητιακή αμυλάση.

Εφαρμογές των ενζύμων στην τεχνολογία των τροφίμων



Αμυλάσες στην αρτοποιία

Δεξτρίνοποίηση του αμύλου από τη α-αμυλάση: πρώτο στάδιο αρτοποιητικής επεξεργασίας, κατάλυση **δεξτρίνοποίησης** των αμυλοκόκκων που έχουν καταστραφεί κατά τη μηχανική επεξεργασία (παράγονται κατά το άλεσμα). Το ποσοστό κατεστραμμένων αμυλοκόκκων προσδιορίζει και το **βαθμό δεξτρίνοποίησης** (έλεγχος της πορείας της άλεσης).

Πίνακας 6.2. Επίδραση των κατεστραμμένων αμυλοκόκκων στην παραγωγή μαλτόζης

Άλεση (ώρες)	Κατεστραμμένοι αμυλόκοκκοι (%)	Τιμές μαλτόζης (mg/10g)
0	7,0	289
5	8,5	324
10	9,9	362
20	14,9	416

Στάδιο ψησίματος: ζελατινοποίηση (διόγκωση και διάρρηξη αμυλοκόκκων στους 50 °C παρουσία νερού). Δραστική α-αμυλάση σε αυτό το στάδιο σημαίνει υπερευστοποίηση του αμύλου και παραγωγή άρτου με μαλακή υφή και κολλώδη ψίχα (ανεπιθύμητο) ⇒ χρήση θερμοευαίσθητων αμυλασών από μύκητες για έλεγχο.

Στα κέικ, επιθυμητή η κολλώδης κρούστα ⇒ χρήση θερμοάντοχης βακτηριακής α-αμυλάσης.

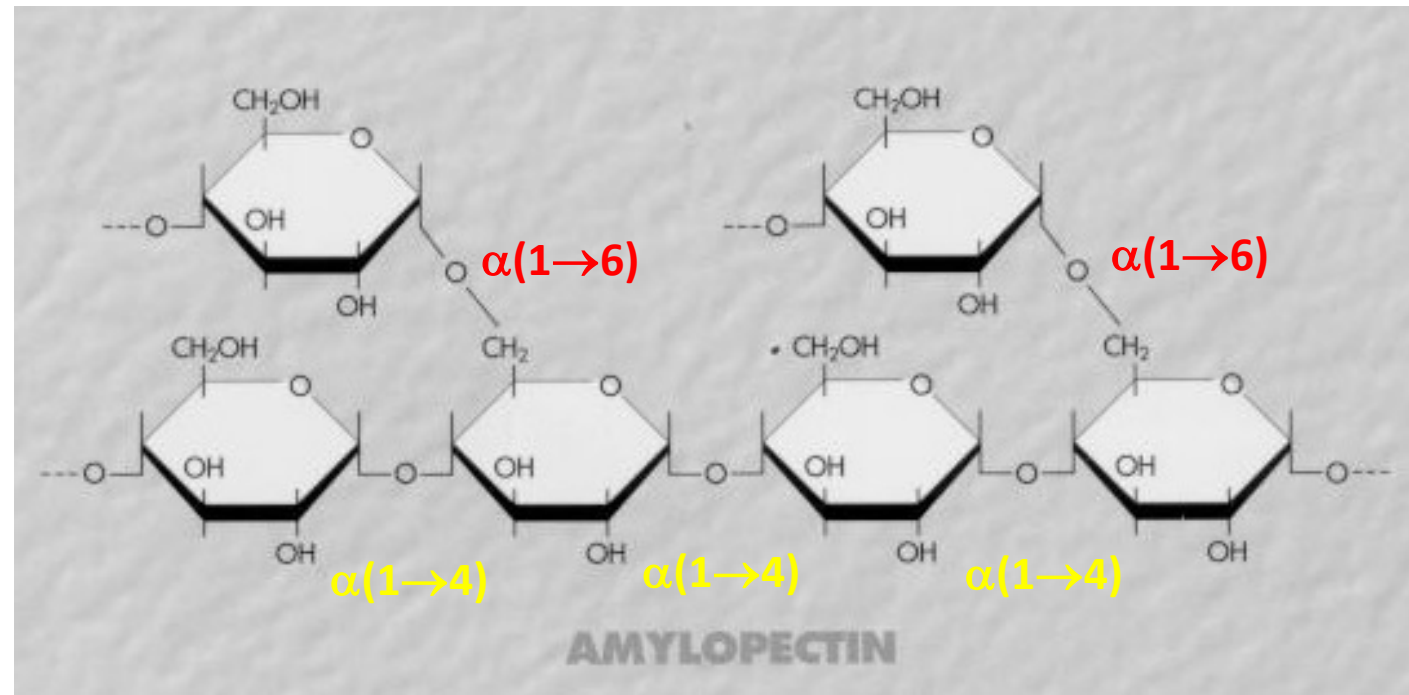
Ελάττωση της ενεργότητας των αμυλασών με χρήση χαμηλού pH

- ↳ Βέλτιστο pH 5-6, σε pH 3,3-4 περιορισμός ενεργότητας α-αμυλασών
- ↳ Παρασκευή ψωμιού από σίκαλη (πλούσια σε θερμοάντοχες α-αμυλάσες, οι οποίες εάν δεν αδρανοποιηθούν θα δώσουν ψωμί με κολλώδη ψίχα
- ↳ Μείωση του pH του ζυμαριού με προσθήκη οργανικών οξέων (π.χ. κιτρικό, τρυγικό) περιορίζει τη δράση των αμυλασών

Αμυλάσες στη ρευστοποίηση του αμύλου (αμυλοσιρόπι)

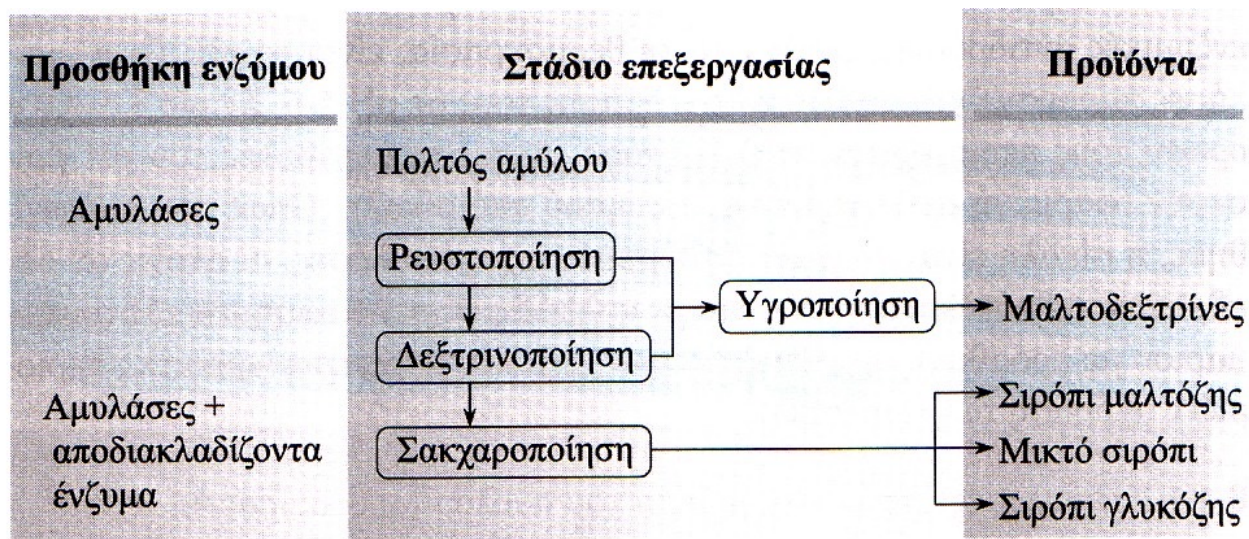
Υδρόλυση αμύλου παρουσία ανόργανων οξέων για παραγωγή σιροπιών γλυκόζης.

- ✓ Προτιμάται από τις βιομηχανίες η ενζυμική κατάλυση για οικονομικούς λόγους και λόγω καλύτερων τελικών προϊόντων.
- ✓ Ο βαθμός μετατροπής εκφράζεται ως **ισοδύναμη δεξτρόζη** και δηλώνει την % μέγιστη υδρόλυση αμύλου που μπορεί να συμβεί.
- ✓ Κύρια ένζυμα: α- και β-αμυλάση.
- ✓ α-αμυλάση: διασπά τον α-1,4 γλυκοζιτικό δεσμό στο μέσον της αλυσίδας (ενδοαμυλάση). Προέλευση από *Bacillus subtilis* (82°C), τελευταία από *B. licheniformis* (καλύτερη ενεργότητα).
- ✓ β-αμυλάση: διασπά τον α-1,4 γλυκοζιτικό δεσμό στο μη ανάγον άκρο (γλυκοαμυλάση, εξωαμυλάση).



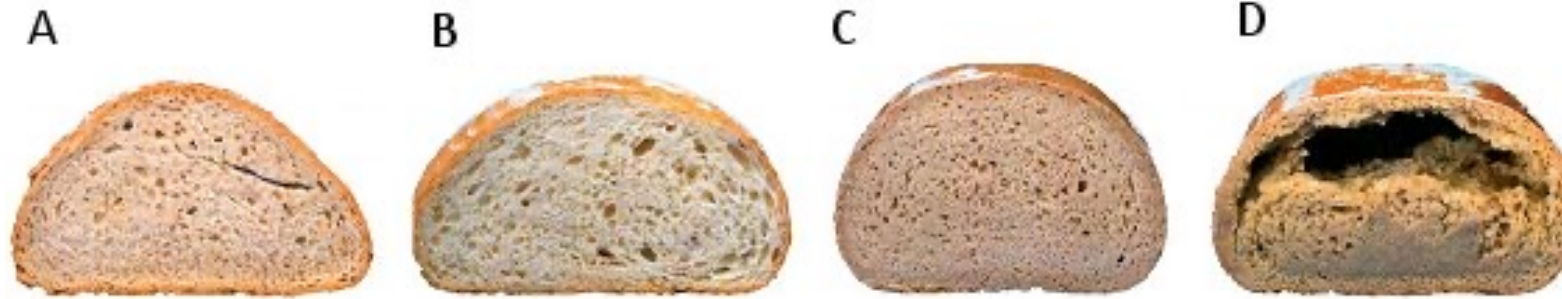
Αμυλάσες στη ρευστοποίηση του αμύλου (αμυλοσιρόπι)

Με τη χρήση διαφορετικών μειγμάτων αμυλασών μπορεί να παραχθεί αμυλοσιρόπι με διαφορετική περιεκτικότητα σε δεξτρίνη, μαλτόζη και γλυκόζη.



Σχήμα 6.7. Πορεία ενζυμικής αποικοδόμησης του αμύλου.

Παραδείγματα αποτυχημένης αρτοποιίας



A) **Αλεύρι σίτου με ανεπάρκεια ενζύμου:** πολύ λίγο άμυλο αποικοδομείται κατά τη διάρκεια του ψησίματος, οπότε η ζύμη είναι πολύ σφιχτή και η ψίχα αφήνει μια εντύπωση όταν μασιέται ότι είναι πολύ σφιχτή και ξηρή. Επιπλέον, είναι άγευστο και δεν φαίνεται φρέσκο.

B) **Αλεύρι σίτου πλούσιο σε ένζυμα:** Πολύ μεγάλη αποδόμηση του αμύλου → υπερβολικά μαλακή ζύμη, το ψωμί εμφανίζει πολύ μικρή συνοχή. Λόγω της ανεπαρκούς ικανότητας για συγκράτηση αερίων από τη μαλακή ζύμη, οι πόροι είναι πολύ ακανόνιστοι και είναι δύσκολο να εφαρμοστεί στρώση στις φέτες (το ψωμί διαλύεται).

Γ) **Αλεύρι σίκαλης με έλλειψη ενζύμου:** αν υπάρχει έλλειψη ενζύμων ή η ζύμη είναι πολύ όξινη, αποικοδομείται πολύ λίγο άμυλο. Η ζύμη γίνεται πολύ σφιχτή και το ψωμί που προκύπτει μοιάζει υγρό.

Δ) **Αλεύρι σίκαλης πλούσιο σε ένζυμα:** υπερβολική αποικοδόμηση αμύλου λόγω πολύ ενζύμου ή πολύ λίγης οξίνισης, απελευθερώνεται υπερβολικό διοξείδιο του άνθρακα σε μια πολύ μαλακή ζύμη. Σχηματίζονται κοιλότητες, το ψωμί στερείται ελαστικότητας και τείνει να σχηματίζει υγρές μάζες.

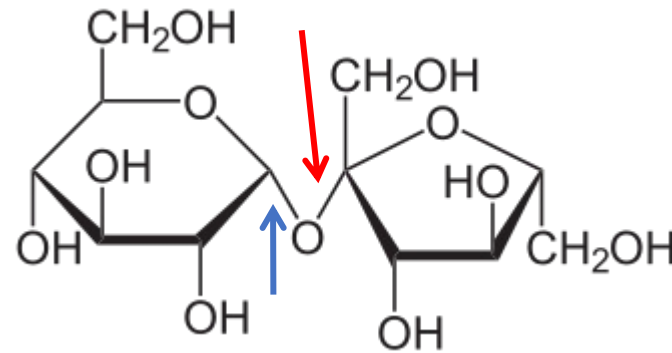
Χρήση ιμβερτάσης στη ζαχαροπλαστική

Υδρόλυση σακχαρόζης σε γλυκόζη και φρουκτόζη: πιο γλυκά από την αρχική σακχαρόζη, μεγαλύτερη διαλυτότητα, μειωμένη κρυστάλλωση

Δύο ένζυμα για την υδρόλυση:

Γλυκοϋδρολάση του D-γλυκοζίτη

Φρουκτοϋδρολάση της β-D-φρουκτοφουρανόζης



Εμπορική παρασκευή ιμβερτάσης: από ζύμες αρτοποιίας, ζυθοποιίας και μύκητες.

Χρήση: παρασκευή σιροπιών, τεχνητού μελιού, δημιουργία κρεμώδους μαλακού κέντρου στις καραμέλες, σε προϊόντα σοκολατοποιίας. Η ιμβερτάση προστίθεται στο εσωτερικό τμήμα για να δώσει μαλακό και γλυκό κέντρο.

Χρήση λακτάσης (β-D-γαλακτοζιδάση) στη γαλακτοκομία

Μείωση της περιεχόμενης **λακτόζης** στο γάλα, διότι χαρακτηρίζεται από:

1. Χαμηλή γλυκύτητα
2. Περιορισμένη διαλυτότητα
3. Μειωμένη ανεκτικότητα

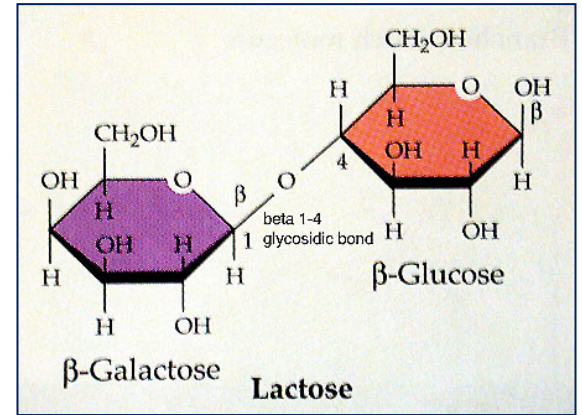
Απομάκρυνση λακτόζης με φυσική υπερδιήθηση και χρησιμοποίηση λακτάσης

Λακτάση: υδρόλυση της λακτόζης σε γλυκόζη και γαλακτόζη

Πηγές λακτάσης: *Saccharomyces lactis* (πλέον χρησιμοποιούμενη, βέλτιστο pH 6,6-6,7)
Aspergillus niger (βέλτιστο pH 3,5-4,5)

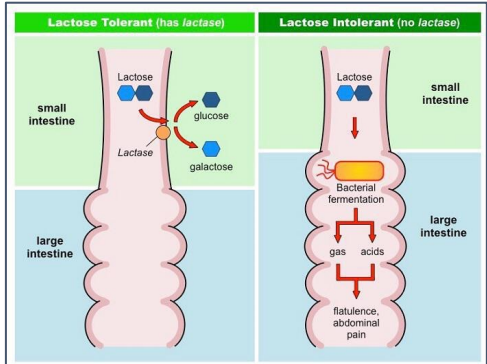
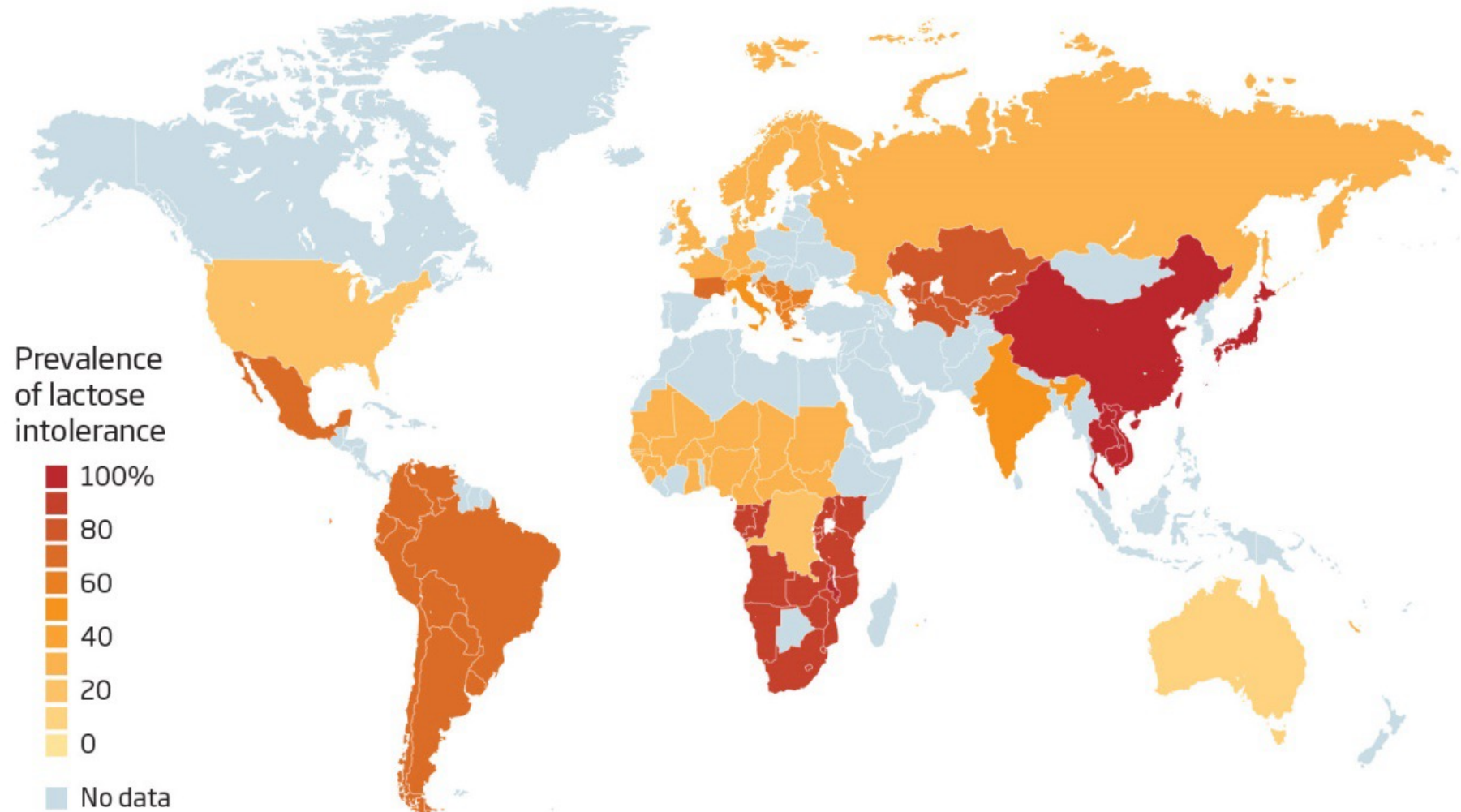
Η λακτάση προστίθεται στον περιέκτη (συσκευασία) του γάλακτος πριν προστεθεί το γάλα

Χρήση: παρασκευή Cottage & Cheddar, γιαουρτιού χαμηλής περιεκτικότητας σε λακτόζη, παραγωγή ορού χωρίς λακτόζη για την παρασκευή γλυκισμάτων, προϊόντων αρτοποιίας και σιροπιών



Lactose breakdown

Only one-third of adults can digest milk. The rest stop making the enzyme needed to process milk sugar



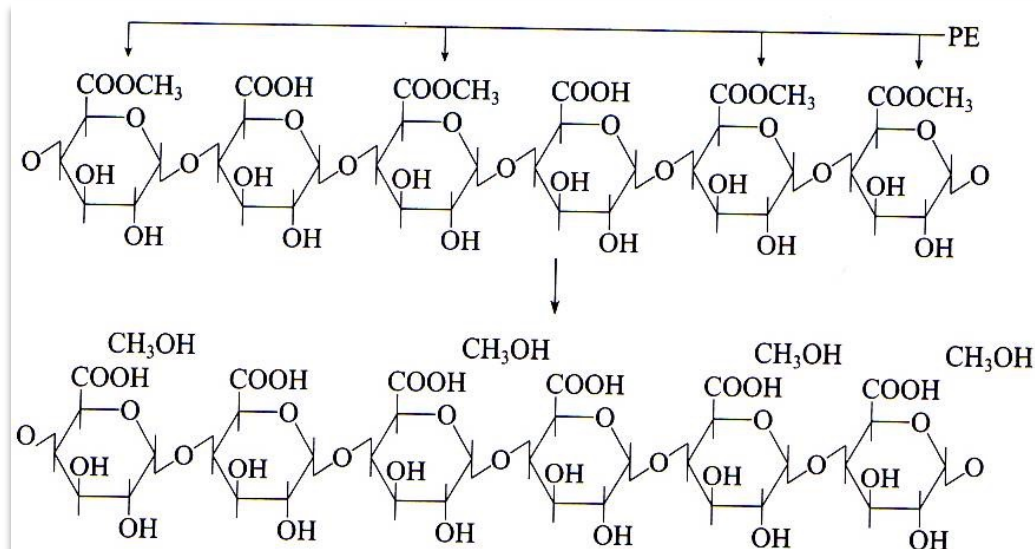
SOURCE: UNIVERSITY OF READING, 2013

Χρήση πηκτινασών στην οινοποίηση και βιομηχανία χυμού φρούτων

Η θολερότητα σε χυμούς φρούτων και κρασιά, οφείλεται στην παρουσία πηκτικών ουσιών και ιδιαίτερα της πηκτίνης. Διαύγηση μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση μίγματος **πηκτινασών** (ενζυμικό μείγμα): 1) πηκτινικές εστεράσες, 2) πολυγαλακτουρονάσες, 3) πηκτινικές λυάσες

Πηγή: μύκητες γένους *Aspergillus*

Πηκτινικές εστεράσες: προσβάλλουν εστέρες πηκτίνης και δίνουν ελεύθερες καρβοξυλικές ομάδες και μεθανόλη.

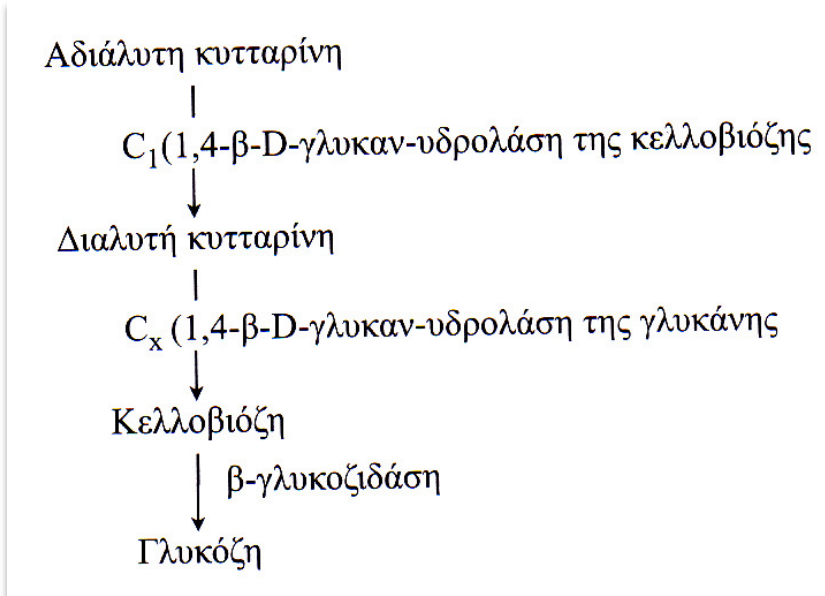


Σχήμα 6.9. Δράση πηκτινικής εστεράσης σε μόριο πηκτίνης.

Η πηκτίνη μετετρέπεται σε πολυγαλακτουρονικό ή πηκτινικό οξύ.

Κυτταρινάσες

Μείγμα ενζύμων που προσβάλλει τους β-1,4 γλυκοζιδικούς δεσμούς της κυτταρίνης:



Πηγή: βακτήρια και μύκητες (κύρια πηγή)

Η υδρόλυση είναι περιορισμένη.

Χρήσεις: στη διαύγαση του χυμού των κίτρων και άλλων φρούτων στους οποίους ο σχηματισμός νεφελώματος οφείλεται στην κυτταρίνη

Στην κατεργασία λαχανικών πριν υποστούν αφυδάτωση-κατά την ενυδάτωση τα λαχανικά ανακτούν το αρχικό τους μέγεθος.

Ημικυτταρινάσες

Χρησιμοποιούνται για την καταστροφή των κόμμεων στη βιομηχανία του καφέ.

Τα κόμμεα προκαλούν ζελατινοποίηση στα υγρά συμπυκνώματα του καφέ κατά την παρασκευή στιγμιαίου καφέ.

Υδρολυτικά Ένζυμα *(υδατάνθρακες)*

Αμυλάσες, Ιμβερτάση, Λακτάση, Πηκτινάσες, Κυτταρινάσες, Ημικυτταρινάσες

Πρωτεολυτικά Ένζυμα

Πρωτεάσες

Λιπολυτικά Ένζυμα

Λιπάσες

Οξειδοαναγωγικά Ένζυμα

Οξειδοαναγωγάσες

Πρωτεολυτικά ένζυμα (πρωτεάσες=πρωτεΐνάσες=πεπτιδάσες)

Υδρόλυση **πεπτιδικών δεσμών** (ενδοπεπτιδάσες, εξωπεπτιδάσες, αμινοπεπτιδάσες, καρβοξυπεπτιδάσες)

Πρωτεΐνάσες στην αρτοποιία

Η έμμεση δράση των α-αμυλασών παράγει CO₂ το οποίο εγκλωβίζεται στο πλέγμα **γλουτένης** ⇒ διόγκωση του ψωμιού

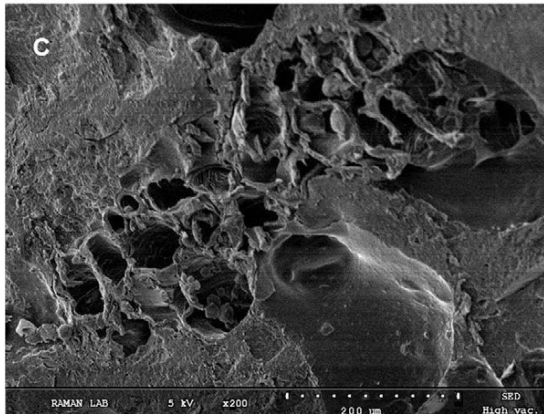
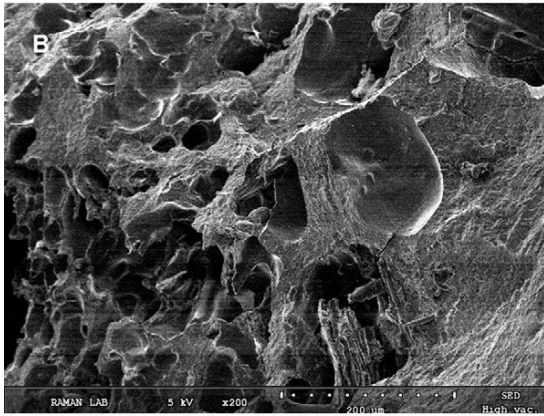
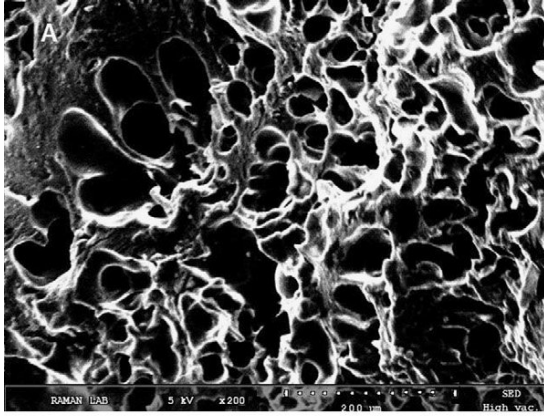
Γλουτένη

- ⇒ Σύμπλεγμα πρωτεϊνών – γέφυρες S
- ⇒ Ενυδάτωση γλιαδίνης και γλουτενίνης
- ⇒ Υπεύθυνη για της ρεολογικές (ιξωδοελαστικές) ιδιότητες των αλεύρων («δύναμη»)
- ⇒ Εκτεταμένο σύστημα γεφυρών S → καλής ποιότητας αλεύρι

Τα πρωτεολυτικά ένζυμα καθορίζουν τις ιδιότητες της γλουτένης → ιδιότητες άρτου



Scanning Electron Microscopy (SEM)



Δίκτυα γλουτένης

α) Gluten 100% control

b) Gluten + 5% gliadin

c) Gluten + 10% gliadin

Πρωτεΐνες στην αρτοποιία

Σε σημεία κοντά στις γέφυρες S

Μειώνουν το ιξώδες του ζυμαριού οπότε και το χρόνο ζυμώματος (παραγωγή & κατακράτηση αέρα στο ζυμάρι)

Τροποποίηση δύναμης αλεύρων

Αναγωγικοί παράγοντες

Η κυστεΐνη και γλουταθειόνη αλεύρων (αναγωγή δισουλφιδίων) μειώνουν τη «δύναμη» (μειώνουν το ιξώδες του ζυμαριού) των αλεύρων.

Στα δυνατά άλευρα (Αμερική, Καναδάς) είναι απαραίτητη η προσθήκη εξωγενών πρωτεασών

Ελληνικό αλεύρι: χαμηλή δύναμη & πλούσιο σε πρωτεάσες ⇒ μερική ή ολική καταστροφή της γλουτένης, ρωγμές στην επιφάνεια κολλώδης ψίχα, διόγκωση. Η θερμική κατεργασία βελτιώνει την ποιότητα γλουτένης, αλλά αδρανοποιεί τις αμυλάσες ⇒ προσθήκη εξωγενών παρασκευασμάτων

Καθορισμένη σχέση αμυλασών-πρωτεασών ανά τύπο αλεύρου στη βιομηχανία



reducing the bulk fermentation at room temperature from 2 hours, down to 45 min made a huge impact on the crumb structure



Πρωτεΐνες και τρυφεροποίηση του κρέατος

Χρήση παπαΐνης από τους Ινδιάνους του Μεξικό εδώ και 400 χρόνια!
1949, εμπορική χρήση στις ΗΠΑ.

Ωρίμανση: 4 εβδομάδες στους 0-4 °C, δράση ενδογενών καθεψινών, περιορισμένη υδρόλυση των σαρκοπλασματικών πρωτεϊνών ⇒ πρόδρομες ενώσεις γεύσης και αρώματος

Γρήγορη τρυφεροποίηση: χρήση διαφορετικών πρωτεασών φυτικής, ζωικής και μικροβιακής προέλευσης. Επιτάχυνση και έλεγχος του φαινομένου.

Εξωγενείς πρωτεάσες: Θρυψίνη, βρωμελαΐνη, φυκίνη, ροζύμη P-11 (από *Aspergillus flavus*, *A. oryzae*)

Πορεία πρωτεόλυσης: Διάλυση του σαρκοπλάσματος, διάσπαση των νουκλεοτιδίων και μετατροπή τους σε αμμωνία, ανόργανο P, ριβόζη, ξανθίνη και υποξανθίνη

Τα φυτικά ένζυμα υδρολύουν έντονα το κολλαγόνο, το φαινόμενο γίνεται εντονότερο με θέρμανση κατά το μαγείρεμα.

Πρωτεΐνάσες και τρυφεροποίηση του κρέατος

Παπαΐνη: Σουλφυδριλική πρωτεΐνάση, άριστο pH 7, απώλεια ενεργότητας 20 % μετά από θέρμανση στους 70 °C για 30'. Υδρολύει ελαστίνες, κολλαγόνο και πρωτεΐνες του μυϊκού ιστού

Η ακτινομυοσίνη και μυοσίνη υδρολύονται αργά, η ακτίνη γρήγορα
Συνδυασμός παπαΐνης-ακτινίνης (από τα ακτινίδια) προκαλεί εντονότερη τρυφεροποίηση

Τρόποι διοχέτευσης πρωτεασών

Ανάγκη για ομοιόμορφη κατανομή: ψεκασμός με σκόνη, εμφάνιση, έγχυση στο αγγειακό σύστημα πριν τη σφαγή-πιθανή υπερτρυφεροποίηση τοπικά, ανεπιθύμητες γεύση και οσμή-ανάγκη για εξειδικευμένες και καθαρές πρωτεάσες σε κατάλληλες ποσότητες.

Έγχυση πρωτεασών στο φρέσκο, κατεψυγμένο ή αφυδατωμένο κρέας από πολλές βελόνες-περιορίζει υπερτρυφεροποίηση.

Υπερβολική αποικοδόμηση πρωτεϊνών → ανάπτυξη μικροοργανισμών (δυσάρεστες οσμές)

Πρωτεΐνες στην τυροκομία

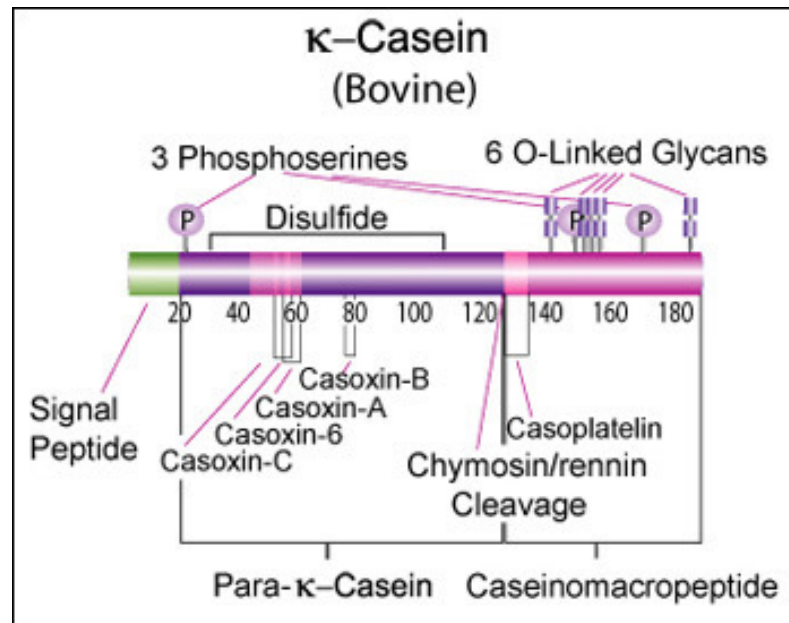
Υδρολυτική δραστηριότητα που εξαρτάται από την μικροχλωρίδα των τυριών

👉 Παραγωγή τυριών, ο ρόλος της χυμοσίνης

Χυμοσίνη: στο στόμαχο νεαρών μοσχαριών (πυτιά), υδρολυτική πορεία σε τρεις φάσεις

A. Υδρόλυση κ-καζεΐνης στο Phe¹⁰⁵-Met¹⁰⁶

Δίνει την αδιάλυτη και υδρόφοβη παρα-κ-καζεΐνη και ένα διαλυτό γλυκομακροπροπεπίδιο



B. Η αδιάλυτη παρα-κ-καζεΐνη σχηματίζει τυρόπηγμα (πρόδρομο τυριού) από τη συνένωση των καζεϊνικών μικκυλίων με Ca^{2+} → βασική πρώτη ύλη για την κατασκευή τυριών

Γ. Γενική υδρόλυση των πρωτεϊνών του γάλατος (α_s και β καζεΐνες) από τη χυμοσίνη

Πρωτεΐνάσες στην τυροκομία

- Φυτικής προέλευσης από τους καρπούς της *Withania coagulans*
- Βακτήρια (*Bacillus subtilis*)
- Μύκητες (*Rhizomucor miehei*, *Rhizomucor pucillus*, *Endothia parasitica*)

Προσπάθεια επιτάχυνσης της ωρίμανσης

- Πλέον μακροχρόνιο στάδιο, δίνει γεύση, άρωμα, υφή
- Ύπαρξη πολλών εμπορικών ενζυμικών παρασκευασμάτων

Τύπος τυριού	Προστιθέμενα ένζυμα		
	Τύπος	Πηγή	Στάδια προσθήκης ενζύμων
Cheddar	Όξινες και ουδέτερες πρωτεΐνάσες, πεπτιδάσες, λιπάσες, καρβοξυλάσες	Διάφορα εμπορικά παρασκευάσματα ζωϊκής ή μικροβιακής προελεύσεως	Τυρόπηγμα
Cheddar Romano Parmesan	Λιπάση, πρωτεΐνάση	Στομάχια αμνών	Γάλα και τυρόπηγμα
Gouda	Πρωτεΐνάση	<i>Aspergillus oryzae</i>	Γάλα ή τυρόπηγμα
Edam Cheddar	Πρωτεΐνάση και πεπτιδάση	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Γάλα
Rossiiskii	Πρωτεΐνάση	Παγκρεατίνη	Γάλα
Mozzarella	Λιπάσες, εστεράσες (σε μικροκάψουλες)	Στομάχια μοσχαριών	Γάλα
Μπλε τυριά	Λιπάση	<i>Aspergillus</i> sp.	Τυρόπηγμα
Φέτα	Πρωτεΐνάση	<i>B. subtilis</i>	Γάλα

Πρωτεΐνάσες στην παρασκευή μπύρας

Χρήση για την αντιμετώπιση της μη βιολογικής θολερότητας ιδιαιτέρως σε χαμηλές θερμοκρασίες (10°C).

Δύο στάδια οδηγούν στην εμφάνιση θολερότητας:

1. Πολυμερισμός μορίων τανίνης μαζί με ανθοκυανίνες, καφεϊκό και γαλλικό οξύ σε δραστικά πολυμερή
2. Αντίδραση δραστικών πολυμερών και πεπτιδίων

Αρχικά χαλαρή συνένωση με δεσμούς υδρογόνου (υδροξύλια τανίνης με καρβοξύλια των πρωτεϊνών). Ακολουθεί σχηματισμός ομοιοπολικού δεσμού.

Καθοριστικός παράγοντας για το μέγεθος του συσσωματώματος είναι το μέγεθος του πολυπεπτιδίου. Ελάττωση του μεγέθους του αυξάνει το χρόνο που τα συσσωματώματα εμφανίζουν σαν θολερότητα.

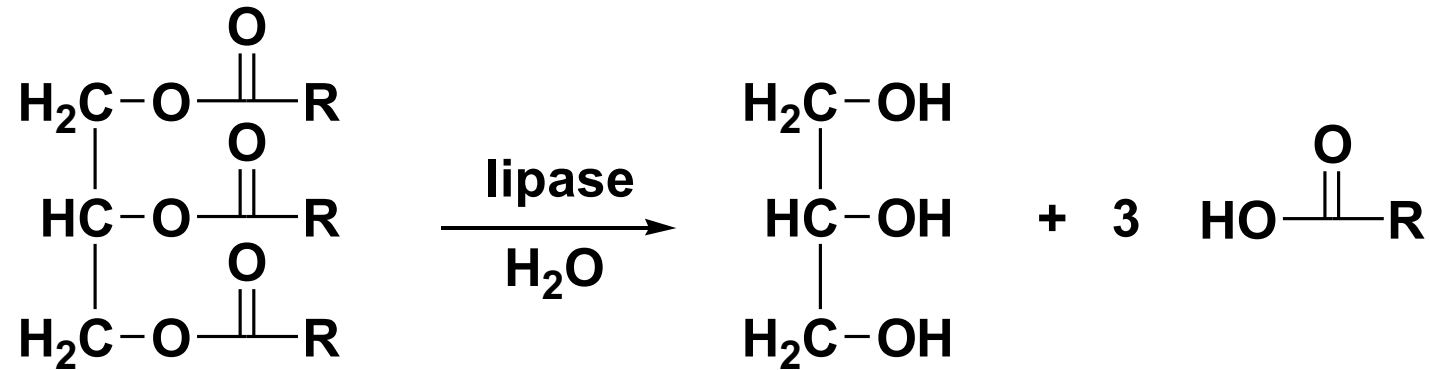
Χρήση παπαΐνης, πεψίνης, φυκίνης, βρωμελαΐνης και βακτηριακών πρωτεασών. Συνδυασμός παπαΐνης (θερμοάντοχη στο στάδιο παστεριοποίησης) με άλλες πρωτεΐνάσες.

Ανάγκη για ελεγχόμενη και περιορισμένη δράση-τα πολυπεπτίδια συγκρατούν CO₂, δίνουν χαρακτηριστικό αφρό.

Λιπολυτικά ένζυμα (λιπάσες)

Απαντούν σε ζώα, φυτά και μικροοργανισμούς. Υδρόλυση λιπών και ελαίων (μόνο, δι και τριγλυκεριδίων). Πολύπλοκη αντίδραση, συμβαίνει στην διεπιφάνεια λίπους-νερού.

1, 3 και 2-λιπάσες



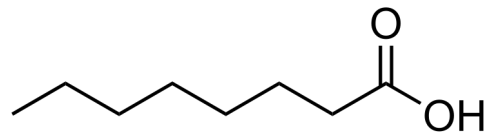
Λιπάσες στην τυροκομία και επεξεργασία λιπών.

Λιπάσες στην τυροκομία

Παραγωγή ελευθέρων λιπαρών οξέων που συμβάλλουν στο άρωμα και γεύση του τελικού προϊόντος. Χρήση διαφορετικών παρασκευασμάτων λιπασών ζωικής προέλευσης (από αδένες προβάτων, αγελάδων, αιγών) τα οποία προσθέτονται στο γάλα και δίνουν γεύση στα τυριά.

Οι λιπάσες από ζώα έχουν ειδικότητα σε μικρά λιπαρά οξέα (λιγότερο από 10 άνθρακες)
Η υδρόλυση των μικρών λιπαρών οξέων είναι επιθυμητή και δίνει ωραίο άρωμα και γεύση. Οι μικροβιακές λιπάσες έχουν μικρότερη ειδικότητα και αν υδρολύσουν μεγαλύτερα λιπαρά οξέα η παραγόμενη γεύση μπορεί να είναι σαπωνώδης, ταγγή.

Ο μύκητας *Penicillium roqueforti* παράγει λιπάση που υδρολύει το λίπος παράγοντας λιπαρά οξέα μικρής αλυσίδας, κυρίως το καπρυλικό οξύ που προσδίδει πιπεράτη γεύση στα τυριά αυτά. Τα παραγόμενα λιπαρά οξέα μεταβολίζονται από λιπολυτικούς οργανισμούς σε μεθυλοκετόνες, ενώσεις που επίσης προσδίδουν άρωμα και γεύση στα τυριά που ωριμάζουν με μύκητες.



Καπροϊκό (C6), καπρικό (C10) και καπρυλικό οξύ (C8): 15 % συνολικού λίπους γάλακτος αιγός.

Λιπάσες στην επεξεργασία λιπών

1. Παραγωγή λιπαρών οξέων μετά από ενζυμική υδρόλυση των λιπών

Λιπάση μύκητος *Candida cylindracea*: υδρολύει το ελαιόλαδο απελευθερώνοντας λιπαρά οξέα με καλλίτερο χρώμα και οσμή από τα συνθετικώς παραγόμενα.

2. Σύνθεση λιπιδίων με αναστροφή της υδρόλυσης

Χρήση της λιπάσης από το μύκητα *Rhizopus arrhizus* με εξειδίκευση στη σύνθεση εστέρων με λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας. Παραγωγή εξειδικευμένων προϊόντων.

3. Ενζυμική τροποποίηση λιπιδίων με διεστεροποίηση

Τροποποίηση της σύστασης και φυσικών ιδιοτήτων μείγματος τριγλυκεριδίων. Αντικατάσταση των λιπαρών οξέων ενός τριγλυκεριδίου με άλλα που είναι παρόντα στο μέσο αντίδρασης. Προκύπτει νέο τριγλυκερίδιο με διαφορετική σύνθεση λιπαρών οξέων, πχ παραγωγή συνθετικού βουτύρου κακάο (Κεφ. 3).

Chang et al. (1990) *Journal of the American Oil Chemists' Society* 67:832-834

Οξειδοαναγωγάσες

Λιποξυγονάσες και παρασκευή άρτου

Υπάρχουν στο σπέρμα του σιταριού και το αλεύρι της σόγιας
Υπεύθυνες για την καταστροφή των φυτικών χρωστικών (οξείδωση καροτενίων και ακορέστων λιπαρών οξέων). Επιθυμητές για τη λεύκανση αλεύρων για παρασκευή άρτου με άσπρη ψίχα.
Επιθυμητό κίτρινο χρώμα στα ζυμαρικά.

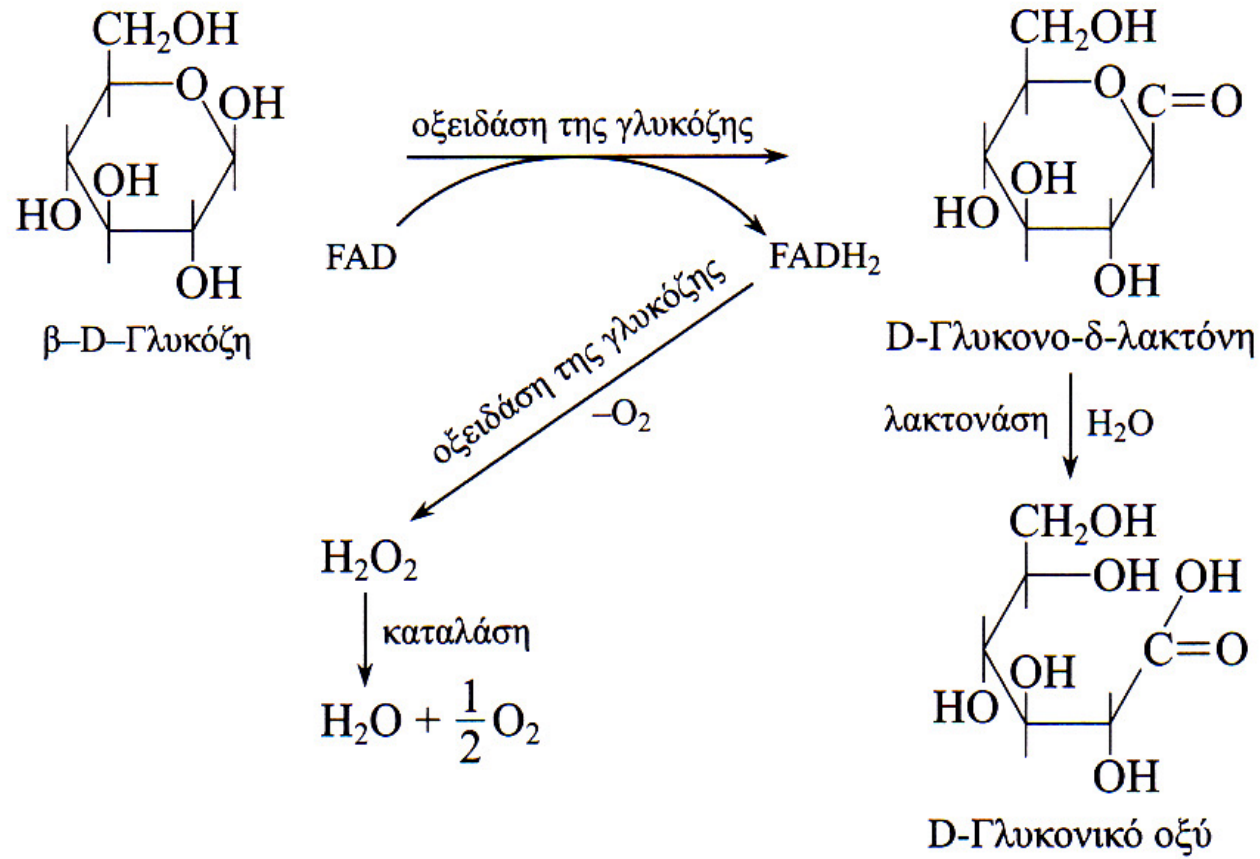
Προσθήκη τους στο αλεύρι βελτιώνει ρεολογικές ιδιότητες γλουτένης (οξείδωση ελευθέρων – SH σε δισουλφιδικούς δεσμούς με βελτιωμένη ποιότητα).

Οξειδάση της γλυκόζης

Απομάκρυνση υπολειμμάτων γλυκόζης και οξυγόνου από πχ αλβουμίνη αυγού και σκόνη αυγού (αποφυγή αντιδράσεων Μεγιάρ).

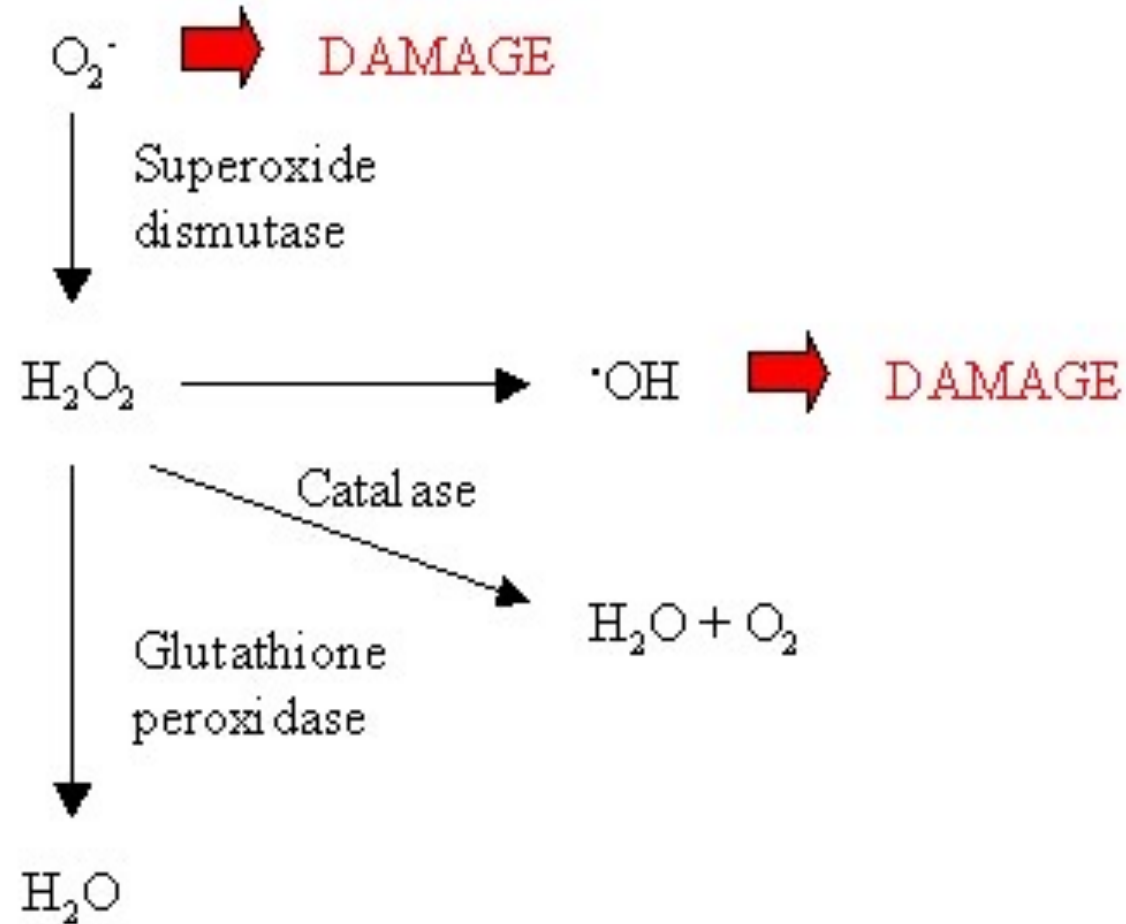
Απομάκρυνση οξυγόνου από μπύρα, κρασιά φρουτοχυμούς, μαγιονέζα (αποφυγή ενζυμικού μαυρίσματος, οξειδωτικής τάγγισης).

Το εμπορικό παρασκεύασμα του ενζύμου περιέχει επιπλέον καταλάση και λακτονάση.



Σχήμα 6.13. Δράση οξειδάσης της γλυκόζης

Καταλάση



Συμμετέχει στην προστασία των λαχανικών κατά την αποθήκευσή τους

Χρησιμοποιείται για την διάσπαση του υπεροξειδίου όταν αυτό υπάρχει ως συντηρητικό (πχ κατεργασία γάλακτος προς τυροκόμηση)

Ακίνητοποιημένα ένζυμα

Καθήλωση σε στερεό μέσο όπως:

Ιοντοανταλλακτικές ρητίνες.

Προσρόφηση (πχ ενεργοποιημένη επιφάνεια κεραμικού).

Εγκλωβισμός σε πολυμερές (πχ πολυακρυλαμίδιο).

Περιτύλιξη σε μεμβράνες που κατακρατούν το ένζυμο, επιτρέπουν τη δίοδο υποστρωμάτων-προϊόντων.

Πλεονεκτήματα

Επαναχρησιμοποίηση του ενζύμου (κόστος).

Σταθερότητα σε μεταβολές pH, θερμοκρασίας.

Συνεχής παραγωγή των προϊόντων της ενζυμικής δράσης.

Ακριβής έλεγχος του τέλους της αντίδρασης.

Αποφυγή μόλυνσης του προϊόντος.

Μειονεκτήματα

Μικρότερη και ελλατούμενη ενεργότητα (ή δραστικότητα) του ενζύμου

Κόστος φορέα και αντιδραστηρίων ακινητοποίησης.

Ακίνητοποιημένα ένζυμα

Εφαρμογές

Διαύγαση της μπύρας με χρήση καθηλωμένων πρωτεασών (παπαΐνη, φυκίνη).

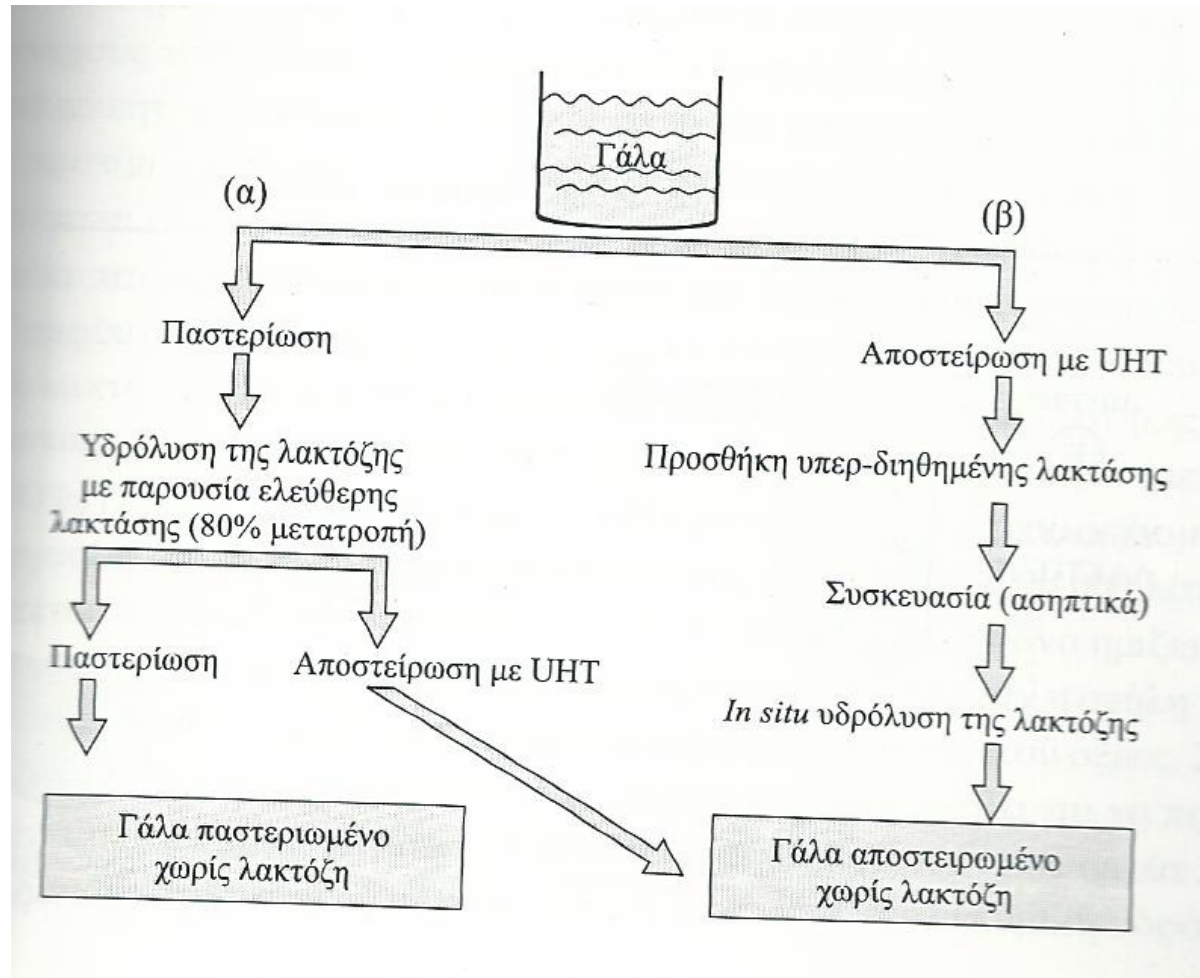
Παραγωγή σιροπιού φρουκτόζης από ισομεράση της γλυκόζης
Μεγάλη εμπορική επιτυχία. Το προϊόν προστίθεται στην Κόκα-Κόλα.

Παραγωγή μείγματος γλυκόζης-γαλακτόζης από υδρόλυση της λακτόζης τυρογάλακτος από ακίνητοποιημένη λακτάση.

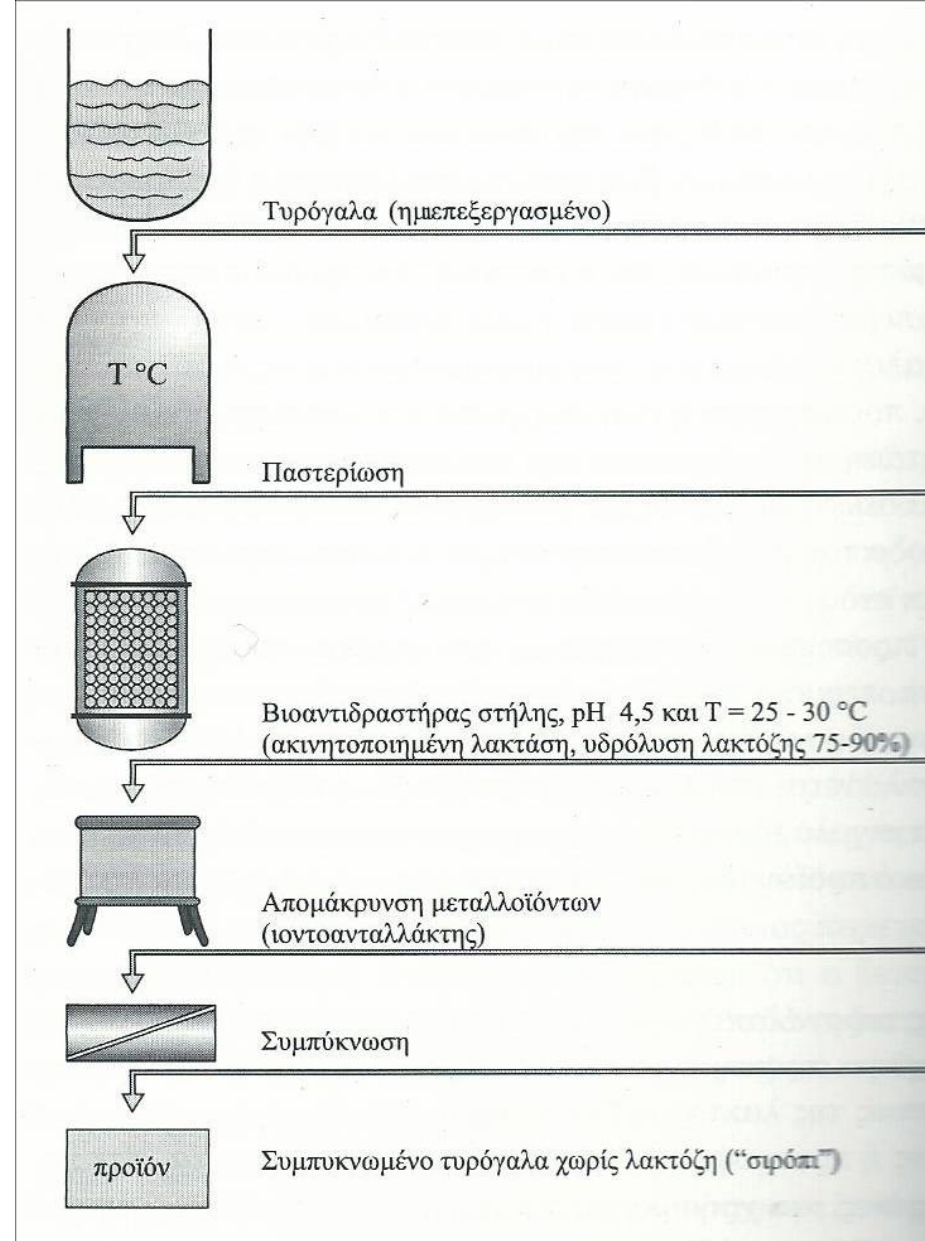
Το προϊόν χρησιμοποιείται σαν γλυκαντική ουσία στην αρτοποιία, ζαχαροπλαστική κλπ
Αξιοποίηση τυρογάλακτος χωρίς η λακτόζη να δημιουργεί προβλήματα πέψης.

Χρήση ακίνητοποιημένης πυτιάς για παρασκευή τυριών,
υδρόλυση του αμύλου σε γλυκόζη από ακίνητοποιημένη αμυλάση.

Παραγωγή τροφίμων υψηλής ποιότητας με χαμηλό κόστος.

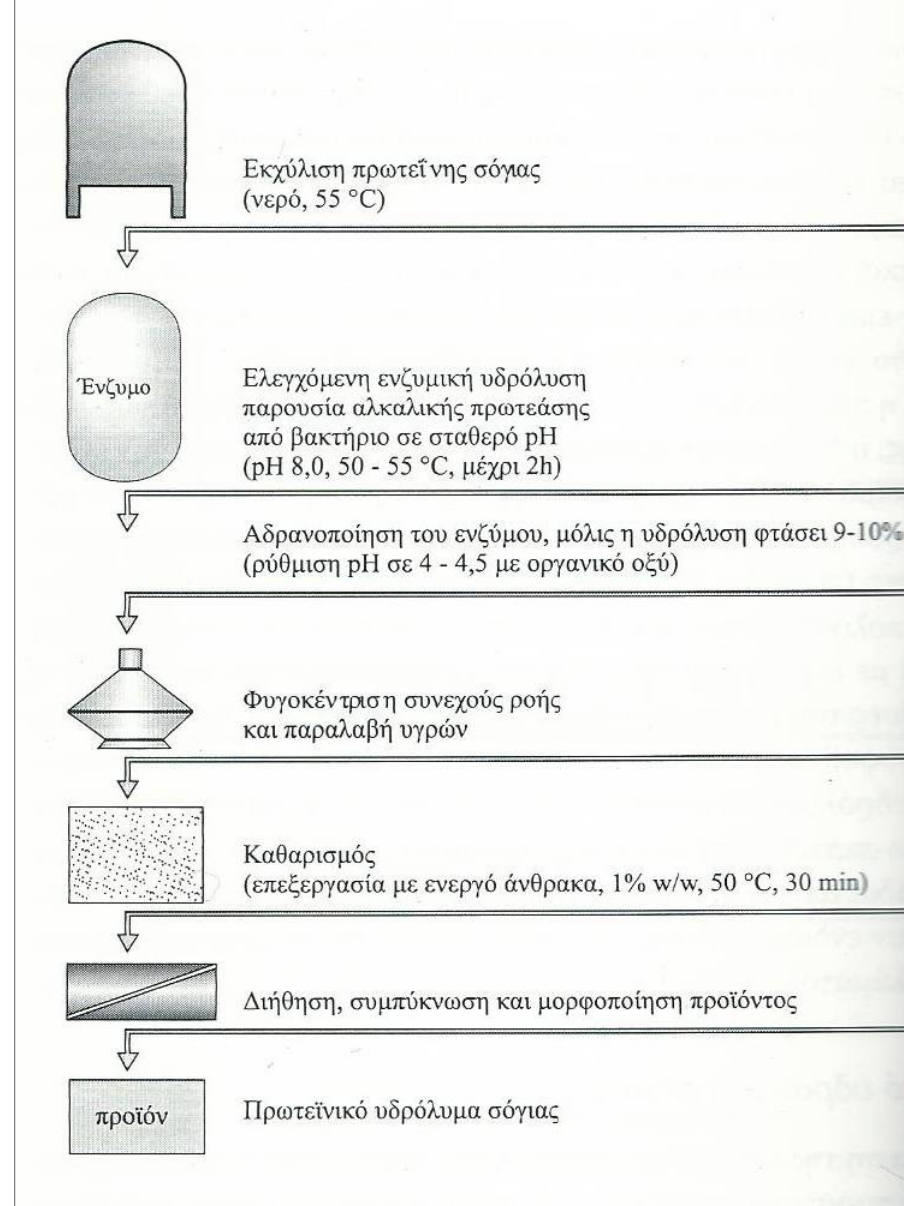


Παρασκευή γάλακτος χωρίς λακτόζη χρησιμοποιώντας ελεύθερη λακτάση.



Παρασκευή συμπυκνωμένου τυρογάλακτος χωρίς λακτόζη χρησιμοποιώντας ακίνητοποιημένη λακτάση.

Ι. Κλώνης, Ενζυμική Βιοτεχνολογία, Ηράκλειο 2010



Παρασκευή πρωτεϊνικού διαλύματος σόγιας
χρησιμοποιώντας διαλυτή πρωτεάση.
Ι. Κλώνης, Ενζυμική Βιοτεχνολογία, Ηράκλειο 2010