6.BÖLÜM: ENZİMLER

- Enzimler çoğu besinlerin küçük (eser) bileşenleri olmalarına rağmen önemli bir rol oynarlar.
- Besinlerde doğal olarak mevcut olan enzimler bazı durumlarda istenilen fakat bazende sebzelerin sararması gibi istenmeyen değişikliklere yol açarlar, bundan dolayı da inaktive edilmeleri gerekir.
- Pastörize sütte yapılan fosfat testi ile fosfatazı peynir üretiminde kullanılan süt için bir koagülant olan rennini örnek olarak verilebilir.

- Gıda bilimlerinde enzimlerin incelenmesinin biyokimyada incelenmesinden farklı gıda alanında çoğunlukla dekompozisyon, hidroliz ve oksidasyon reaksiyonları ile ilgilenirken biyokimyada daha çok senteze dayalı mekanizmalar üzerinde durulur.
- Enzimlerin besinlerin işlenmesinde kullanımları üzerine geniş bir liste Tablo 6.1 de verilmiştir.

Tablo 6.1. Gıda teknolojisinde kullanılan ve potansiyeli olan enzimler

Enzim	Besin	Amaç veya Etkisi*
Amilazlar	Fırınlananlar	Maya fermentasyonu için şeker içeriğinin artışı
	Bira Yapımı	Fermentasyon için nişastanın maltoza dönüşümü, nişasta bulanıklığının giderilmesi
	Tahıllar	Nişastanın şekere, dekstrinlere dönüşümü, su absorpsiyonunun artışı
	Çukulata-Kakao	Akışkanlığın artırılması için nişastanın sıvılaştırılması
	Şekerleme	Şeker kırıntılarından şekerin geri kazanılması
	Meyva suyu	Parlama özelliklerini artırmak için nişastanın uzaklaştırılması
	Pelteler	Parlama özelliklerini artırmak için nişastanın uzaklaştırılması

Enzim	Besin	Amaç veya Etkisi
	Şuruplar ve şekerler	Nişastanın düşük molekül ağırlıklı dekstrinlere dönüşümü
	Pektin	Elma "pomace" dan pektinin hazırlanmasında bir yardımcı
	Sebzeler	Bezelyelerin yumuşatılmasında olduğu gibi nişastanın hidrolizi
Sellülaz	Bira Yapımı	Kompleks karbohidrat hücre duvarlarının hidrolizi
	Kahve	Çekirdeklerin kurutulması sırasında sellülozun hidrolizi
	Meyvalar	Domateslerin, kayısıların kabuklarının soyulması, armutların taneciklerinin giderilmesi
Dekstran-Sükraz	Şeker şurupları	Şurubun yoğunlaştırılması (kalınlaştırılması)
	Dondurma	Yoğunlaştırıcı(kalınlaştırıcı) ajan olarak dekstranın ilavesi
İnvertaz	Yapay bal	Sakkarozun glukoz ve fruktoza dönüşümü
	Şekerleme	Çukulata kaplı, yumuşak kremalı şekerlemelerin üretimi
Laktaz	Dondurma	Pürüzlü, kumlu yapıya neden olan laktoz kristallerinin oluşumunu önlemek
	Besinler	Laktozun galaktoz ve glukoza dönüşümü
	Süt	Laktozun uzaklaştırılması ile dondurulmuş sütte süt proteinlerinin stabilizasyonu
Tannaz	Bira Yapımı	Polifenolik bileşiklerin uzak-laştırılması
Pentozanaz	Öğütme	Buğday unundan nişastanın geri kazanılması
Naringinaz	Turunçgiller	Turunçgil pektininin acısını giderme, narenjin glukozidinin hidrolizi ile suyunu elde etme

Enzim	Besin	Amaç veya Etkisi
Pektik enzimler (Faydalı)	Çukulata-Kakao	Kakaonun fermentasyonu sırasında hidrolitik aktivite
	Kahve	Çekirdeklerin fermentasyonu sırasında jelatin kılıfın hidrolizi
	Meyvalar	Yumuşatma
	Meyva suyu	Pres meyva sularının verimini artırmak, homojenliğini sağlamak, yoğunlaştırma prosesini geliştirmek
	Zeytin	Yağın ekstraksiyonu
	Şarap	Berraklaştırma
(Zararlı)	Naranciye suyu	Pektik maddelerin bozunması ve ayrılması
	Meyvalar	Aşırı yumuşatıcı etki
Proteazlar (Faydalı)	Fırınlananlar	Hamurlarda yumuşatıcı etki, karıştırma zamanında kısalma hamurun kabarmasını artırma. Tahılda yapı, somun hacmini geliştirme. β-Amilazın serbest hale geçmesi
	Tahıllar	Kurutma hızını artırmak için proteinleri modifiye etme, ürünün işleme özelliklerini geliştirme, miso ve tofu üretimi
	Peynir	Kazein koagülasyonu, peyni- rin yıllandırılması sırasında karakteristik aromalar
	Bira yapımı	Fermentasyon sırasında tat ve besin değerini geliştirme. Berraklaştırma ve filtrasyona yardımı, soğuğa dayanıklılık.
	Çukulata-Kakao	Fermentasyon sırasında çekirdekleri işlemek
	Yumurta ve Yumurta ürünleri	Kurutma özelliklerini geliştirmek
	Besinler	Besinlere dönüşüm için atık ürünlerin işlenmesinde kullanım

Enzim	Besin	Amaç ve Etki
	Süt	Soya fasulyesi sütünün hazırlanmasında
	Et ve Balık	Yumuşatma, kemiklerden ve balık çöplerinden proteinlerin geri kazanılması, yağların serbest hale geçmesi
	Protein hidrolizatları	Soya sosu ve tamar sosu gibi yemeğe lezzet veren soslarda, özel dietlerde, bulyon kurutulmuş çorba ve etsuyunda, işlenmiş etlerde
	Şaraplar	Berraklaştırma
(Zararlı)	Yumurtalar	Taze ve kurutulmuş bütün yumurtanın kabuk ömrü
	Yengeç, Istakoz	Eğer hızla inaktive edilmemişse aşırı yumuşama
	Un	Eğer çok aktif ise yapı ve somun hacmi üzerine etki
Lipazlar (Faydalı)	Peynir	Yıllanma, olgunlaşma ve genel aroma özellikleri
	Yağlar	Lipitlerin gliserin ve yağ asitlerine dönüşümü
	Süt	Sütlü çikolatada kullanmak üzere aromalı sütün üretimi
(Zararlı)	Tahıllar	Yulaf keklerinin aşırı kararması, buğday kepeğinin kahverengi renginin değişmesi
	Süt ve Mandra ürünleri	Hidrolitik ekşilik
	Yağlar	Hidrolitik ekşilik
Fosfatazlar	Bebek mamaları	Kullanılabilir fosfat artışı
	Bira Yapımı	Fosfat bileşiklerinin hidrolizi
	Süt	Pastörizasyonun etkinliğinin tayini
Nükleazlar	Tatlandırıcılar	Nükleotid ve nükleozitlerin üretimi
Peroksidazlar (Faydalı)	Sebzeler	Beyazlatma etkinliğinin tayini
	Glukoz tayinleri	Glukoz oksidaz ile kombinasyonda
(Zararlı)	Sebzeler	Kötü tat

Enzim	Besin	Amaç ve Etki
	Meyvalar	Kararma
Katalaz	Süt	Soğuk pastörizasyonda H_2O_2 nin bozulması
	Ürünlerin değişikliği	Glukoz ve/veya O_2'i kararma ve/veya oksidasyonu önlemek için uzaklaştırmak, Glukoz ile bağlantılı kullanma
Glukoz oksidaz	Ürünlerin değişikliği	Şarap,süt tozu, et, balık, meyva suları, kurutulmuş yumurta, karbonatlı içecekler, peynir, bira gibi ürünlerden oksidasyon ve kararmayı önlemek için glukoz ve/veya O_2'i uzaklaştırmak. Katalazla birlikte kullanılır.
	Glukoz tayini	Glukozun spesifik tayini. Peroksidaz ile birlikte kullanılır.
Polifenol oksidaz (Faydalı)	Çay, kahve, tütün	Olgunlaşma, fermentasyon ve/veya yıllandırma prosesleri sırasında kararmanın önlenmesi
(Zararlı)	Meyvalar,sebzeler	Kararma, kötü tat oluşumu, vitamin kaybı
Lipoksigenaz	Sebzeler	Esansiyel yağ asitleri ve A vitamininin yıkılımı, kötü tat oluşumu
Askorbik asit oksidaz	Sebze ve meyvalar	C vitamininin yıkılımı
Tiaminaz	Et, balık	Tiamin yıkımı

*) Principles of Enzymology for Food Sciences(ed.Whitaker,R.), Marcel Dekker, 1972'den alınmıştır.

6.2. Yapı ve Fonksiyonları

- Enzimler katalitik özellikleri olan proteinlerdir.
- Katalitik özellikler oldukça spesifiktir ve bu da enzimlerin analizlerinde kullanımına imkan sağlar.
- Bazı enzimler yalnız proteinlerden oluşurken çoğu enzimler ilaveten karbohidratları, lipidleri, metalleri, fosfatları ve diğer bazı organik grupları (prostetik grupları) içerirler (***Proteid***).
- Proteid yapısındaki enzime ***Haloenzim***, yalnız protein kısmına ***Apoenzim*** ve proteinik olmayan diğer kısmına ise ***Kofaktör*** adı verilir.
- Enzimatik reaksiyonda dönüşüme uğratılan maddeye ise ***Substrat*** denir.

- Koenzimler, prostetik gruplar ve bazı metal iyonları çerçeve isim olarak kofaktörler adı altında toplanmaktadırlar.
- ***Koenzimler***, enzim aktivitesi için zorunlu organik maddeler olup molekül kütleleri 300-500 arsında değişir ve çözeltide serbest halde bulunurlar.
- Metal iyonları (*aktivatörler*), genellikle çözeltide serbest dolaşırlar ve enzim aktivitesini artırıcı etkileri vardır.

- Prostetik gruplar, enzim aktivitesi için zorunlu gruplar olup protein molekülüne kovalent bağlıdırlar ve yalnız bağlı oldukları enzim ile çalışırlar.
- Prostetik gruplar organik veya anorganik (*metaloenzimler*) olabilirler.
- Bazen kimyasal reaksiyonlar, pH değişimleri veya kuvvetli şelat yapıcı reaktifler yardımıyla protein molekülünden koparılabilirler.
- Enzimatik reaksiyon hızını azaltan maddelere ***inhibitör*** adı verilir.

- Enzim molekülünün belirli bir bölgesinde üç boyutlu yapıda birbirine yakın konumda olan fonksiyonel yan grup taşıyan belirli amino asitlerin oluşturduğu ve enzimin katalitik potansiyelinden sorumlu bir merkez vardır ki buna ***aktif merkez*** denir.
- Substrat ve koenzim bu merkeze hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler, iyonik bağlar ile bağlanır.
- Denatürasyon sonucu konformasyon bozulur, aminoasit dizisi aynen kalmasına rağmen katalitik aktivite kaybolur.

- Proteinlerin özellikle biyolojik bakımdan çok önemli bir grubu olan enzimler eskiden ***ferment*** olarak adlandırılmıştır.
- Enzimler canlı organizmadaki tüm reaksiyonların çok yumuşak koşullarda (vücut sıcaklığı, nötral pH vb.) gerçekleşmesini sağlayan ve bu reaksiyonları koordine eden spesifik katalizörlerdir.
- Enzimlerin büyük çoğunluğu yalnız tek bir substrata karşı aktivite gösterir ve bu substratı dönüşüme uğratırlar (***substrat spesifikliği***).

- Bu durum özellikle gıda analizlerinde çoğu kez hiçbir ayırma ve fraksiyonlama işlemine gerek kalmadan besin maddesinin direkt numune kullanılabilmesi gibi bir avantaj sağladığından enzimatik analiz birim fiyatı pahalı olmasına rağmen önemli ölçüde zaman kazandırdığından enzimatik analizin diğer analiz yöntemlerine tercih edilir sonucunu doğurur.
- Enzimler ortamdaki maddelerden yalnız biri ile reaksiyon vermekle kalmaz teorik olarak oluşabilecek ürünlerden de sadece birinin oluşumunu katalizler (***Etki spesifikliği***).

6.3 Enzim Aktivitesi ve Enzim Kinetiği

Enzim aktivitesini enzim kinetiğinden ayrı düşünebilmek mümkün değildir. Çünkü, aktivite tayini enzimatik reaksiyon hızı tayininden başka birşey değildir. Bir enzimatik reaksiyonu en basit şekli ile şu şekilde gösterebiliriz(Michaelis-Menten Teorisi).

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

Burada; E, S, ES ve P sırasıyla enzim, substrat, enzim-substrat ara kompleksi ve ürünü sembolize etmektedir. İlk basamak bir denge

reaksiyonudur. İkinci basamak ise gerçek dönüşümün olduğu basamaktır ve hız belirleyicidir.

$$ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

$$V = k_2(ES)$$

Eşitliğinde görüldüğü gibi reaksiyon hızı (ES) konsantrosyonu ile orantılıdır. Enzim konsantrasyonunu sabit tutup substrat konsantrasyonunu sürekli arttırırsak enzimin substrata doyduğu, başka bir deyimle ortamdaki enzim moleküllerinin pratikçe tamamının substrat ile kompleksleştiği değere ulaşılır. Böylece reaksiyon hızı da max. değerine[$V_m=k_2(E_0)$] ulaşmış olur(Şekil 6.1). Son eşitlikte(ES) yerine sürekli haller kuralına göre V_m, (S) ve hız sabitleri cinsinden değeri konulursa reaksiyon hızı için

$$V = \frac{V_m (S)}{K_m + (S)}$$

ifadesi bulunur. Burada V:reak.hızı, $V_m = k_{+2}(E_o)$:reaksiyonun max.hzı, (S) ve (E_o) başlangıçtaki substrat ve enzim konsantrasyonları, K_m:Michaelis Sabitidir.

Şekil 6.1 Enzimatik reaksiyon hızının substrat konsantrasyonuna bağımlı değişimi

Düşük substrat konsantrasyonlarında reaksiyon hızı substrat konsantrasyonu ile orantılıdır ve reaksiyon substrat konsantrasyonuna göre 1.mertebedendir. Substrat konsantrasyonu arttıkça reaksiyon karışık mertebe reaksiyonu karakteri kazanır. Enzimatik reaksiyon ortaklarının zamana bağlı değişimi Şekil 6.2'de gösterilmiştir.

Şekil 6.2 Enzimatik reaksiyon ortaklarının zamana bağımlı değişimi

Enzimatik reaksiyon hızının max. hızın yarısına ulaştığı andaki substrat konsantrasyonu Michaelis Sabitidir(K_m). Bu sabit, enzimin substrata ilgisinin ölçüsüdür ve bu ilgi K_m ile ters orantılıdır. Eşitlik $v = V_{max}./2$ için düzenlenirse;

$$K_m = (S)$$

bulunur.

6.3. Enzim Aktivite Birimleri

Uluslararası Birim:

- Standart koşullar altında (uygun en iyisi doygun ortam) dakikada 1 µmol substratı dönüşüme uğratan enzimin aktivitesidir.

Spesifik Aktivite:

- 1 mg enzim tarafından dakikada dönüşüme uğratılan sustratın µmol olarak miktarıdır.

Katalitik Merkez Aktivitesi:

- Bir katalitik merkez tarafından dakikada dönüşüme uğratılan substrat molekülü sayısıdır.

Moleküler Aktivite:

- Bir enzim molekülü tarafından dakikada dönüşüme uğratılan substrat moleküllerinin sayısıdır (moleküler aktivite "***Turnover sayısı***" olarak da tanımlanmaktadır).
- Yukarıda belirtilen enzim aktivite birimlerinden hiçbiri Uluslararası birimler sistemine (***SI sistemi***) uymamaktadır. Bilindiği gibi **SI birim sisteminde** madde miktarı **mol**, zaman birimi ise **saniye**dir. Bu birimlere göre üretilecek enzim aktivite birimi "***katal***" dır.

Katal:

- Saniyede 1 mol substratı dönüşüme uğratan enzimin aktivitesidir. Katal çok büyük bir birimdir (***1 Kat = 6.10^7 U***). Bu nedenle pratikte katal yerine ***mikrokatal*** (µkat) veya ***nanokatal*** (nkat) birimleri kullanılır.

6.4. Aktivite Tayin Yöntemleri

- Enzim aktivitesinin tayini aslında enzimatik reaksiyonun hızının tayini ile eş anlamlıdır.
- Bu nedenle genelde reaksiyon hızı tayini için kullanılan yöntemler aktivite tayini için de kullanılabilirler.
- Absorpsiyon, fotometri, titrimetri, florimetri, polarimetri, kalorimetri, radyometri, viskozimetri, kondüktometri vb.

6.4 Enzimlerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması

Tablo 6.2 Enzimlerin sınıflandırılması(ana sınıf ve birinci alt sınıf)

1. Oxidoreduktazlar(redox reaksiyonlarını katalizlerler)		
1.1	CH - OH	gurubuna etkiyenler
1.2	C - O	gurubuna etkiyenler
1.3	C - CH	gurubuna etkiyenler
1.4	CH - NH_2	gurubuna etkiyenler
1.5	CH - NH	gurubuna etkiyenler
2. Transferazlar (Fonksiyonel grupların transferinden görev alırlar)		
2.1	C_1 -	guruplarını transfer edenler
2.2		Karbonil guruplarını transfer edenler
2.3		Açil guruplarını transfer edenler
2.4		Glikozil- guruplarını transfer edenler
2.5		N- içeren gurupları transfer edenler
2.6		Fosfat guruplarını transfer edenler
2.7		S- içeren gurupları transfer edenler
3. Hidrolazlar (hidroliz reaksiyonlarını katalizlerler)		
3.1		Esterleri hidrolizleyenler
3.2		Glikozid bağlarını hidrolizleyenler
3.4		Peptid bağlarını hidrolizleyenler
3.5		Diğer C-N bağlarını hidrolizleyenler
3.6		Asit anhidritlerini hidrolizleyenler
4. Liyazlar (çift bağa katılma ve çift bağ oluşturan reaksiyonları katalizlerler)		
4.1	C - C	-Liyazlar
4.2	C - O	-Liyazlar
4.3	C - N	-Liyazlar
5. İzomerazlar (izomerleşme reaksiyonlarını katalizlerler)		
5.1		Resamezlar
5.3		Intramoleküler oxidoreduktazlar
5.4		Intramoleküler transferazlar
6. Ligazlar "sentetazlar" (sentez reaksiyonlarını katalizlerler)		
6.1	C - O	bağını oluşturanlar
6.2	C - S	bağını oluşturanlar
6.3	C - N	bağını oluşturanlar
6.4	C - C	bağını oluşturanlar

6.5. Enzimlerin Gıda teknolojisinde Kullanımı

- Gıda teknolojisinde enzimlerden yararlanılması ekmek, peynir ve şarap yapımı kadar eskidir.
- Enzimler gıdaların bileşiminde bulunabileceği gibi, mikrobiyal faaliyet sırasında da oluşabilir veya saf enzim praperatları şeklinde kullanılırlar.

6.5.1. Oksidoredüktazlar

- Bu gruba giren enzimlerden gıda teknolojisinde uygulama alanı bulan başlıca üç enzim vardır:
- Glukozoksidaz, katalaz ve lipoksigenaz.

6.5.1.1. Glukozoksidaz (GOD):

- Çeşitli mantar türlerinden elde edilen bu enzim aşağıdaki reaksiyona göre glukozu oksitler ve hem glukoz hem de oksijenin ortamdan uzaklaştırılmasına yarar.

$$\text{Glukoz} + O_2 \xrightarrow{\text{GOD}} \text{Glukonolakton} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{o-Dianisidin} \xrightarrow{\text{POD}} \text{ox.Dianisidin} + H_2O$$

GOD; Yumurtalı kuru gıdalardan ve patatesli mamüllerden glukoz uzaklaştırılmasında kullanılır.

- Böylece Mailard reaksiyonu önlenir.
- Ayrıca kapalı ambalaj sistemlerinde oksijenin uzaklaştırılması yağ oksidasyonunu baskı altında tutar ve narenciye suları, bira ve şarabın dayanıklılığını artırır.

6.5.1.2. Katalaz:

- Hidrojen peroksitin bozunmasını katalizlerler.

$$2H_2O_2 \leftrightarrow 2H_20 + O_2$$

- Besinlerin GOD ile muamelesini ve bazı konserve işlemleri sırasında açığa çıkan H_2O_2 katalaz ile yok edilir.
- Örneğin; özellikle peynir yapımında kullanılacak sütlerin pastörizasyonunda kullanılan H_2O_2 nin aşırısı katalaz tarafından parçalanır.

6.5.1.3. Lipoksigenaz:

- Bitkilerde bulunan bu enzim doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu katalizler.
- Besinlerde bu enzimin aktivitesi genelde istenmez.
- Fakat buğday ununa soya unu katılarak yapılan ekmeğin daha beyaz olmasında lipoksigenazın olumlu rolü vardır.

6.5.1.4. Diasetil-dehidrogenaz

- Bira fermentasyonunda oluşan diasetil lezzet bozukluğuna sebep olur.
- Bu enzim aşağıda verilen reaksiyon uyarınca diasetili butandiole dönüştürür ve lezzet bozukluğunu ortadan kaldırır.

$$H_3C\text{-}CO\text{-}CO\text{-}CH_3 + NADH + H^+ \xrightleftharpoons{\text{Enzim}} H_3C\text{-}CHOH\text{-}CHOH\text{-}CH_3 + NAD^+$$

- Saf enzim yerine koenzimi de içeren maya hücrelerinin immobilize formda kullanılması daha uygun düşmektedir.

6.5.2. Hidrolazlar

6.5.2.1. Glikozidazlar:

- Glikozidaz grubunun en önemli enzimidir.
- Nişastayı parçalayan bu enzimler iki gruba ayrılırlar:
- Spesifik olarak nişasta zincirinin dallanma noktasındaki 1,6-glikozid bağlarını ve düz zincirde glukoz birimleri arasındaki 1,4-glikozid bağlarını hidrolizleyen **endo-enzimler** ve zincir uçlarından parçalayan **ekzo-enzimler**.

α-Amilaz (α-1,4-Glukan 4-glukanohidrolaz):

- Bir endoenzim olan α-amilaz amilopektini 2-6 glukoz birimi içeren oligosakkaritlere hidrolizler.
- Bu etkiden dolayı viskozitede hızlı bir azalma olur fakat bunun yanında az miktarda monosakkarit oluşur.
- Amiloz ve amilopektim karışımı dekstrin, maltoz, glukoz ve oligosakkaritlerin bir karışımına hidrolizlenebilirler.

β-Amilaz (α-1,4-Glukan Maltohidrolaz):

- β-Amilaz, glukozidik zincirlerin indirgen olmayan ucundan ardı ardına gelen maltoz birimlerini uzaklaştıran bir ekzoenzimdir.
- Etki, β-amilaz tarafından kırılamayan α-1,6-glikozidik bağın olduğu dallanma noktasında durur.
- Oluşan ürüne ***limit dekstrin*** denir. β-amilaz, arpa maltı, buğday, tatlı patates ve soya fasulyesinde çokça bulunur.
- Enzim, ekmekcilik, biracılık ve nişastanın fermente olabilen bir şeker olan maltoza dönüştürüldüğü işletmelerde kullanılır.

Glukoamilaz (α-1,4-Glukan Glukohidrolaz):

- Substrat zincirinin ucundaki indirgen olmayan kısımdan ardışık şekilde bulunan glukoz birimlerini uzaklaştıran bir ekzoenzimdir.
- Ürün olarak yalnızca glukoz oluşur ki bu da enzimi α- ve β-amilazlardan ayıran bir özelliktir.
- α-1,4- bağlarının hidrolizine ek olarak α-1,6- noktalarına da (daha yavaş olmakla beraber) saldırır.
- Enzim bakterilerde ve küfte bulunur ve endüstriyel olarak glukoz ve mısır şuruplarının üretiminde kullanılır.

β-Galaktozidaz (β-D-Galaktozit Galaktohidrolaz):

- Bu enzim, β-D-Galaktozitler ve α-Arabinizitlerin hidrolizini katalizler. En iyi laktoz için hidroliz etkisi bilindiğinden "***Laktaz***" olarak da adlandırılır. Laktaz, hayvanlar, bakteriler, mayalar ve bitkilerde bulunur.
- İnsanda, ince barsak mukozası hücre membranlarında bulunur. Süt şekerinin sindirim sisteminde hidrolizlenemeyişi (laktaz noksanlığında) gaz sancılarına sebeb olur.
- Bu durum özellikle siyah ırkta önemli bir sorundur. 1970 li yıllardan beri süt immobilize laktaz enzim kolonlarından geçirildikten sonra ambalajlanarak laktoz intolerent kişilerin bu şikayetleri ortadan kaldırılmıştır.

α-Galaktozidaz:

- İndirgen olmayan ucundan α-galaktoz içeren di-, oligo veya polisakkaritlerden galaktozu koparır.
- Şeker (sakkaroz) üretiminde şuruptaki rafinoz (Galaktoz-glukoz-fruktoz) trisakkaridi sakarozun kristalizasyonunu kısmen engeller.
- Sakkarozun % 10 u kristallenmeden kalır. Bunu engellemek için α-galaktozidaz ile muamele çok olumlu sonuç verir ve sakkaroz verimi artar.
- Ayrıca baklagillerde bulunan stakiyoz (Gal-Gal-Glc-Fru) da gazlanmaya sebep olur. α-Galatozidaz ile muamele sonucu bu problem de çözülür.

İnvertaz:

- İnvert şeker sakarozdan hem daha tatlıdır hem de daha iyi çözünür.
- Bu sebeple sakarozun hidrolizinde invertaz enzimi kullanılır.

6.5.2.2. Pektik Enzimler:

- Pektik enzimler mikroorganizmalar ve yüksek bitkilerde bulunan pektik maddeleri parçalayan enzimlerdir.
- Salyangoz harici yüksek hayvanlarda bulunmaz.
- Bu enzimler ticari olarak meyve suyu eldesinde, filtrasyona yardımcı, berraklaştırıcı ve verimi artırıcı olarak kullanılırlar.
- Enzimler, düşük metoksil pektinler ve galakturonik asitlerin üretimi amacı ile de kullanılabilirler.
- Meyvelerde ve sebzelerde pektin enzimlerin varlığı aşırı yumuşamayla sonuçlanabilir.

Ticari Kullanım:

- Pektik enzimler şarapların ve meyve sularının berraklaştırılmasında ve meyvelerin etli kısımlarının dağılmasına yardımcı olarak kullanılırlar.
- Pektin moleküllerinin daha küçük moleküllere indirgenmesiyle, özellikle galakturonik asite, bileşikler suda çözünebilirler, süspanse edici güçlerini kaybederler, viskozite azalır ve çözünmeyen katı partiküller hızla çöker.
- Ticari besin kalitesinde pektik enzim preparasyonları birkaç farklı pektik enzim içerir.

Pektin Esteraz (Pektin Pektil-Hidrolaz):

- Bu enzim pektinden metoksil gruplarını uzaklaştırır (Enzimin, pektin metoksilaz, pektin metilesteraz ve pektin dimetilaz gibi başka adları da vardır).
- Pektin esteraz, bakteriler, mantarlar ve yüksek bitkilerde, özellikle domates ve turuçgillerin meyvelerinde bol bulunur.
- Pektin, süspansiyonda çözünmez formda tutmaya yardım eden koruyucu bir kolloiddir.

- Püre ve domates suyunun üretimi sırasında pektin estarazların yüksek düzeylerinin yok edilmesi çok önemlidir.
- Domates parçalanır parçalanmaz pektin esteraz oldukça hızlı etki edecektir.
- Aynı zamanda sıcak yıkım yöntemi olarak da adlandırılan yöntemde domates yüksek sıcaklıklarda parçalanır.
- Öyle ki pektik enzimler ani olarak yok edilirler.

Poligalakturonaz (*Poli-α-1,4-Galakturonid Glikanohidrolaz****):***

- Pektinaz olarak da bilinen bu enzim, pektik maddelerdeki glikozidik bağları hidrolizler.
- Hidroliz ekzo ve endo poligalakturonazlarca gerçekleştirilir.
- Endo poligalakturonazlar meyvelerde ve mantarların flamentlerinde bulunurken mayalarda ve bakterilerde bulunmazlar.
- Ekzo poligalaturonazlar havuç ve şeftali gibi bitkilerde ve bakterilerde bulunur.

Pektat Liyaz (*Poli-α-1,4-D-Galakturonid Liyaz****):***

- Bu enzim aynı zamanda trans eliminaz olarak da bilinir ve bir glukuronid zincirinin glikozit bağlarını glukuronid kısmının 4 ve 5. karbon pozisyonlarından hidrojenin bir trans eliminasyonu ile ayırır.
- Pektin liyazların endo tipi yalnız ***Aspergillus niger*** gibi mantarlardan elde edilirler.
- Pektik enzimin saf formunun optimum pH sı 5,1-5,2 ve izoelektrik noktası 3 ve 4 arasındadır.

6.5.2.3. Proteazlar:

- Proteolitik enzimler gıda sanayinde büyük önem taşırlar ve besin işleme proseslerinde kullanım alanı bulurlar.
- Proteolitik enzimler dört grupta incelenebilirler:
- *Asit proteazlar, serin proteazlar, sülfidril proteazlar ve metal içeren proteazlar.*

Asit Proteazlar:

- Optimum pH değerleri düşük olan enzimler grubudur.
- Pepsin, rennin (kimosin), mikrobiyal ve fungol proteazların büyük bir kısmı bu gruptandır.
- Rennin, saf enzim peynir mayasında bulunur, dana midesinin bir ekstraktıdır ve peynir yapımında koagüle edici ajan olarak binlerce yıldır kullanılmaktadır.
- Dana midesinin az bulunmasından dolayı rennet (peynir mayası) yerine peynir yapımında rennin ve pepsinin karışımı ve/veya mikrobiyal proteazlar yaygın olarak kullanılmaktadır.

- Rennin dana midesinde zimojen formda (prorennin) bulunmaktadır.
- Ham ekstrakt rennin ve prorenninin her ikisini de içerir. Prorennini rennine dönüşümü asit ilavesi veya pepsin ile katalizlenebilir.
- Buzağılar büyüdüklerinde ve sütün yanında diğer besinleri de yemeye başladıklarında mideleri rennin yerine pepsin üretmeye başlar.
- Renninin optimum pH sı 3,5 olmakla birlikte pH 5 te en kararlı formdadır ve pH 5,5-6,5 değerlerinde peynir sütünün kesilmesi gerçekleşir (Kazein çökelir).

- Pepsin pepsinojen formunda mide de özenle hazırlanır. Midenin yüksek asitliği pepsinojenin pepsine otokatalitik dönüşümüne yardım eder.
- Pepsin molekülü 321 aminoasit içeren bir polipeptid zinciridir.
- Tersiyer yapısı bir fosfat bağı ve üç disülfit köprüsü ile stabilize edilir.
- Pepsinin optimum pH sı 2 dir ve enzim pH 2-5 aralığında stabildir.
- Daha yüksek pH değerlerinde enzim hızla denatüre olur ve aktivitesini kaybeder.
- Pepsin, öncelikle fenilalanil, tirozin veya triptofanil gruplarına spesifiktir.

- Asit proteazların peynir yapımında rennin yerine kullanımı ya peynirin olgunlaşması sırasında oluşan acı peptidler ya da peynir suyunda başlangıçta hızla gerçekleşen hodrolizin neden olduğu aşırı protein kayıplarına bağlıdır.
- Asit proteazlar aynı zamanda yumuşak peynirlerden bir tür, mavi peynirlerin olgunlaşma prosedürlerinde önemli rol oynar.
- Asit proteazları üreten küfler ya peynirin yüzeyinde büyür ya da peynirin içinde her tarafında büyüyebilir.

Serin Proteazlar:

- Bu grup kimotripsin, tripsin, elastaz, trombin ve subtilisini kapsar.
- İsimleri aktif merkezlerinde serin kalıntısı içermelerinden dolayı verilmiştir.
- Ham endo proteazlardır ve ince bağırsakta etki gösteren pankreatik enzimlerdir.
- Zimojen formda üretilirler ve proteoliz ile aktif forma dönüşürler.

SH-Proteazlar:

- Bu enzimlerin çoğu bitkisel kaynaklıdırlar ve gıda sanayinde çok yaygın kullanılırlar.
- **Papain**, papaya ağacının (Carca papaya) yaprak, meyve ve gövdesinde bulunan bir enzimdir.
- **Bromelin**, ananas meyvesinden ve bitkinin saplarından elde edilir. Saplar preslenir ve enzim, suyundan aseton ile çöktürülür.

- ***Fisin***, tropikal incir ağacının öz suyundan elde edilir. Enzim homojen olmayıp en az üç farklı proteolitik bileşenden oluşur.
- Bitki enzimlerinin aktif merkezleri, aktiviteleri için zorunlu olan bir histidin ve bir sistein grubu içerir.
- Optimum pH ları 6-7,5 aralığında olan enzimler 60-80°C aralığında sıcaklığa dayanıklıdırlar.

Sülfidril proteazların ticari kullanımı:

- Biranın soğuğa dayanıklılığı ve stabilizasyonu, etin yumuşatılması gibi alanlardadır.
- Arpanın mayalanması, malt oluşumundan sonra kalan, bağıl olarak büyük protein parçaları düşük sıcaklıklarda bira depolanmasında bulanıklılığa neden olabilir.
- Kontrollü proteoliz bu bileşiklerin moleküler ağırlığını yeterince azaltır öyle ki çözeltide kalırlar.
- Etin yumuşatılması ise kesimden sonra et parçalanmadan önce ve küçük parçalara ayrıldıktan sonra enzim çözeltisinin enjeksiyonu ile gerçekleştirilir.

Metal İçeren Proteazlar:

- Bu enzimler aktiviteleri için bir metale gereksinim duyarlar ve metallerle şelat yapan bileşikler tarafından inhibe edilirler.
- Bunlar serbest α-karboksil grubu taşıyan peptid zincirinin sonundan amonoasitleri uzaklaştıran karboksipeptidaz A (peptidil-L-aminoasit hidrolaz) ve karboksipeptidaz B (peptidil-L-Lisin hidrolaz) gibi ekzopeptidazlardır.
- Amino peptidazlar peptid zincirinin serbest α-amino ucundan aminoasitleri uzaklaştırır.

Proteazların uygulama alanları:

- Gıda sanayinde uygulama alanı bulan proteolitik enzimlerin büyük çoğunluğu endopeptidazlardır.
- Bu enzimler hayvansal, bitkisel veya mikrobiyal kaynaklı olabilirler.
- Tablo 6.2 de çeşitli proteazların optimum pH ları ve uygulama alanları verilmiştir.

Tablo 6.2. Gıda teknolojisinde kullanılan proteolitik enzimler

Enzim	Kaynak	Opt.pH	Uygulama Alanı
Pepsin	Sığır ve domuz mide sûm.derisi	2	sindirime yardımcı
Rennin(kimosin)	Dana midesi sûmûksû derisi	6-7	peynir üretimi
Pankreatin	Pankreas	9.0	sindirime yardımcı
Papain	Papaya kavunu	7-8	etin gevrekleştirilmesi, biranın soğuğa dayanıklı kılınması
Fisin	İncir	7-8	" " "
Bromelin	Ananas	7-8	" " "
Pronaz	*Streptom.griseus*		amino asit üretimi
Subtilisin	*Bac.subtilis*	7-11	protein hidrolizatı
Termolisin	*Bac.thermoproteo-lyticus*	6-9	protein hidrolizatı
Mantar proteazları	*Asp.oryzae*	3-10	protein hidrolizatı
Proteinaz	*Mucor pusillus*	3,5-4,5	peynir üretimi

6.5.2.4. Esterazlar:

- Çeşitli tiplerde ester bağlarının hidrolizinde görev alırlar. Oluşan ürünler asit ve alkoldür.
- Trigliseritleri hidrolizleyen lipazlar, fosfolipidleri hidrolizleyen fosfolipazlar, kolesterol esterlerini hidrolizleyen kolesterol esteraz bu gruptandır.
- Karboksil esterazlar, tributirin gibi trigliseritleri hidrolizleyen enzimlerdir.
- Lipazlar yalnız emülsiyonların su-lipit ara yüzeylerinde etki ederlerken, bu enzimler çözünür substratları hidrolizlerler.
- Lipaz aktivitesi bundan dolayı pastörize edilmemiş homojenize sütte daha fazladır.

- Lipazlar mikroorganizma (bakteri, küf) ve bitkilerden üretilirken hayvanlarda, özellikle pankreaslarda, aynı zamanda sütte de bulunur.
- Lipazlar ekşimeye neden olan serbest yağ asitlerinin oluşumuna yol açtıklarından besinlerin bozulmasına sebep olurlar.
- Bazı durumlarda ise lipazların etkisi istenir ve özellikle üretirler.
- Lezzet verme ve vermeme arasındaki sınır aslında çok dar bir aralıktır. Örneğin sütte süt yağının hidrolizi hiç hoş olmayan bir tada yol açarken, peynirde süt yağının hidrolizi arzu edilen bir aromaya sebep olur.

- Tohumlarda lipazlar, eğer ısı ile bozunmaları sağlanmazsa yağ hidrolizine sebep olurlar.
- Bu tür bozulma problemleri ile zamanla tahıllar ve unda da karşılaşılır.
- Buğday ve diğer tahıllardaki lipaz aktivitesi tohumun su içeriğine oldukça bağlıdır.
- Örneğin buğdayda lipaz aktivitesi % 15,1 nem durumunda, % 8,8 nem durumuna göre beş kez daha yüksektir.

- Lipazlar pozisyonel spesifikliklerine göre gruplara ayrılabilirler.
- Primer ester pozisyonlarındaki bağların tercihen hidrolizlenmesi mono ve diglisertleri oluşturur.

- Peynirlerde lipazın derecesi, peynirin dinlenmesi ile artar. Çoğu durumlarda lipoliz lipolitik enzimlerin ilavesi ile artırılır.
- Bu enzimler danaların ve kuzuların dillerinin altında yerleşmiş olan bezlerden elde edilirler.
- Bazı lipolitik enzimler tarafından oluşan belirli asitler için spesifikler gösterilmiştir.
- Pankreatik lipaz ve asit lipazı geniş spektrumlu enzimler ve yağlarda bulunan yağ asitlerinin herhangi biri için spesifiklik göstermezler.
- Bu durumda gliseritlerden serbest hale geçen yağ asitleri orijinal yağda bulundukları oranla hemen hemen aynı oranda bulunurlar.

6.6. İmmobilize Enzimler

- Enzimlerin gıda sanayinde kullanımlarına ilişkin son gelişmelerin en önemlilerinden birisi, bunların suda çözünmeyen inert taşıyıcılar üzerine tutturulmasıdır.
- Bu şekilde enzimle aktivitelerini korurlar ve reaksiyon karışımına kolaylıkla ilave edilebildikleri gibi ortamdan uzaklaştırılabilirler de.
- Bunun yanında sürekli proseslerde kullanıma da imkan sağlar.
- Enzimlerin immobilizasyonuna ilişkin çeşitli yöntemler mevcuttur (Şekil 6.1).

- İmmobilizasyon yöntemleri, bentonit ve silika gibi metal oksitler ve silisli materyaller, cam, organik polimerler üzerine adsorpsiyon, doğal ve sentetik (PAA gibi) polimerlerde tutuklama, polimer membranlarda mikrokapsulasyon, adsorpsiyon, çapraz bağlama kombinasyonu, kopolimerizasyon ve organik polimerlere kimyasal bağlama gibi yöntemlerdir.

- Enzimlerin immobilizasyonu ile stabiliteleri muhtemelen değişir ve taşıyıcıya bağlama yöntemi de aynı zamanda kararlılığın derecesini etkiler.
- İmmobilize enzimler iki reaktör sisteminde, karıştırmalı tank reaktörde bach sistem (kesikli sistem) ve sürekli akış kolon reaktörlerinde kullanılabilir.
- İmmobilize enzimin karakteristik özellikleri muhtemelen orijinal enzime göre farklılıklar gösterecektir.
- Optimum pH taşıyıcının yüzey yükünden etkilenebilir. K_m artar veya azalabilir.
- Termal kararlılık çoğunlukla artarken azaldığı durumlarla da karşılaşılabilir.

- Gıda sanayinde immobilize enzimlerin en önemli uygulamalarından biri ***Streptomyce***'lerden elde edilen immobilize glukoz isomeraz ile yüksek fruktoz konsantrasyonlu mısır şurubunun üretilmesidir.
- Bu proseste enzim DEAE-selüloz gibi çözünmez bir taşıyıcıya bağlanır ve bir karışım ile sıkıştırılmış lif filtresinin üzeri kaplanır.
- Filtre içinden mısır şurubu akan bir reaktör olarak görev yapar.
- Bu prosesten % 71 katı içeriği olan şurup elde edilir.
- Bunda % 42 fruktoz, % 50 glukoz içeriği vardır. Fermente olabilen, kristallenme eğilimi azaltılmış oldukça tatlandırıcı tozdur.

- Ayrıca (A.A'lerin) rasemik karşımlarının amino açilaz konjuguatları kullanılarak resolusyonu (çözünürlüğü) ve glukozun fruktoza dönüşümü için glukoz izomerazın kullanımı örnek verilebilir.
- İnvertaz, β-galaktozidaz, amilaz ve proteazların büyük ticari skalada kullanımı henüz yoktur.
- Yakın gelecekte immobilize enzimlerin gıda alanında kullanımının hızla yayılacağı umulmaktadır.

Şekil 6.1. Enzimlerin İmmobilizasyon Yöntemleri

6.7. Enzimlerin Gıda Analizlerinde Kullanımı

- Gıdaların bileşimi enzimler yardımı ile çok çabuk ve spesifik olarak tayin edilebilirler (Tablo 6.3).
- Enzimatik reaksiyona katılan substratlar veya oluşan ürünlerden birinin fotometrik veya elektrometrik tayini tercih edilir.
- Fakat bazı durumlarda bu amaca ancak dolaylı yoldan ulaşılabilir ve indikatör reaksiyonlardan yararlanılır.

$$A + B \xrightleftharpoons{\text{Enzim-I}} C + P \text{ (Asıl reaksiyon)}$$

$$C + D \xrightleftharpoons{\text{Enzim-II}} E + F \text{ (İndikatör reaksiyon)}$$

- Enzim-II nin aktivitesi Enzim-I den en az 10 kat yüksek olmalıdır.
- Bir gıda maddesindeki A bileşeni D, E veya F üzerinden dolaylı olarak ölçülebilir.
- Bazı durumlarda tek bir indikatör reaksiyon ile karışımdaki bir çok madde sırasıyla tayin edilebilmektedir.
- Örneğin; glukoz, laktoz ve sakarozu peroksidaz tarafından katalizlenen indikatör reaksiyonu yardımı ile ya yana tayin etmek mümkündür (Şekil 6.2).

$$(1)\ \text{Glukoz} \xrightarrow[\text{Hegzokinaz}]{\text{ATP} \rightarrow \text{ADP}} \text{Glukoz-6-fosfat}$$

$$(2)\ \text{Glukoz-6-fosfat} + \text{NADP}^+ \xrightarrow{\text{G6P-DH}} \text{6-Fosfoglukonat} + \text{NADPH} + \text{H}^+$$

$$(3)\ \text{Laktoz} \xrightarrow{\beta\text{-Galaktosidaz}} \text{Glukoz} + \text{Galaktoz}$$

$$(4)\ \text{Sakkaroz} \xrightarrow{\beta\text{-Fruktosidaz}} \text{Glukoz} + \text{Fruktoz}$$

- İlk olarak (1) reaksiyonu ile glukoz fosfatlanır. 2. reaksiyon indikatör reaksiyondur ve $NADP^+$ indirgenir ve 340 nm de absorbans ölçülerek glukoz tayin edilir.
- (3) Reaksiyonu ile açığa çıkan glukoz dolayısıyla laktoz (1) ve (2) reaksiyonları sonucu, (4) reaksiyonu ile açığa çıkan glukoz dolayısıyla yine (1) ve (2) reaksiyonları sonucu tayin edilebilecektir.

Şekil 6.2. Glukoz, laktoz ve sakarozun birbiri yanında enzimatik analizi

- Enzimatik analiz ile gıda bileşenlerinin tayininde iki ayrı yöntem uygulanır:
- *Konsantrasyon tayini ve kinetik yöntem*.
- İki yöntem arasındaki fark konsantrasyon tayini yönteminde besin maddesindeki substrat konsantrasyonu reaksiyon başlangıcında reaksiyonu katalizleyen enzimin Michealis sabitinin büyük olması zorunludur.
- Gıdalara uygulanan bazı enzimatik reaksiyonlar Tablo 6.3 de verilmiştir.

Tablo 6.3. Gıdalardaki bazı maddelerin enzimatik analiz reaksiyonları

Madde	Ana reaksiyon	İndikatör reaksiyonu
Glukoz	$\text{Glukoz} + O_2 \xrightleftharpoons{GOD} \text{Glukonolakton} + H_2O_2$	
		$H_2O_2 + \text{o-Dianisidin} \xrightleftharpoons{POD} \text{Ox. o-Dianisidin}$
	veya	
	$\text{Glukoz} + ATP \xrightleftharpoons{HK} \text{Glukoz-6P}$	
		$\text{Glukoz-6P-NADP}^+ \xrightleftharpoons{G6P\text{-}DH} \text{6-Fosfoglukonat} + NADPH + H^+$

Fruktoz Fruktoz+ATP $\xrightleftharpoons{HK}$ Fruktoz-6P

Fruktoz-6P $\xrightleftharpoons{\text{Glukoz-P-izomeraz}}$ Galaktoz-6P

Galaktoz Galaktoz+NAD^+ $\xrightleftharpoons{\text{Galaktoz-DH}}$ Galaktonik asit+NADH+H^+

Sorbitol Sorbitol+NAD^+ $\xrightleftharpoons{\text{Sorbitol-DH}}$ Fruktoz+NADH+H^+ (Tayin fruktoz gibi)

Maltoz Maltoz+H_2O $\xrightleftharpoons{\text{α-Glukosidaz}}$ 2 Glukoz(Tayin glukoz gibi)

Nişasta Nişasta+H_2O $\xrightleftharpoons{\text{Amiloglukosidaz}}$ n Glukoz(Tayin glukoz gibi)

Etanol Etanol+NAD^+ $\xrightleftharpoons{\text{Alkol-DH}}$ Asetaldehid+NADH+H^+

GOD: Glukoz oksidaz, POD: Peroksidaz, G6P-DH: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, LDH: Laktat dehidrogenaz.