

Bài 4: Enzyme

- 4.1. Khái niệm chung
- 4.2. Cấu tạo hóa học của enzyme
- 4.3. Tính chất của enzyme
- 4.4. Cơ chế tác dụng của enzyme
- 4.5. Các yếu tố ảnh hưởng đến vận tốc phản ứng enzyme
- 4.6. Cách gọi tên và phân loại enzyme

1. Khái niệm chung

Enzyme = chất xúc tác sinh học có bản chất protein, có khả năng xúc tác đặc hiệu cho các phản ứng hóa học nhất định

Bản chất protein của enzyme

- M = 20000 – 1000000 → không đi qua các màng bán thấm
 - Hòa tan trong nước, dd muối loãng, dd hữu cơ có cực, không hòa tan trong các dung môi không phân cực
 - Enzyme bị biến tính và mất khả năng xúc tác do t⁰ cao, acid / kiềm mạnh, muối kim loại nặng
 - Điện ly lưỡng cực → phân tách bằng pp điện di
- ⇒ Bản chất hóa học của enzyme là protein.

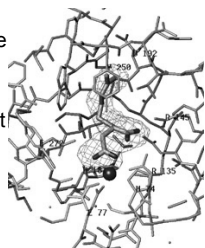
2. Cấu tạo hóa học của enzyme

- Enzyme được chia thành 2 loại:
 - **Enzyme 1 cấu tử:** protein đơn giản.
 - **Enzyme 2 cấu tử:**
 - Phần protein (feron, apoenzyme): qđ tính đặc hiệu và ↑ hoạt tính xúc tác của enzyme
 - Phần phi protein (nhóm ngoại agon, prostetic): qđ kiểu phản ứng enzyme xúc tác *Khi nhóm ngoại tồn tại và xúc tác độc lập* → gọi là *coenzyme*.

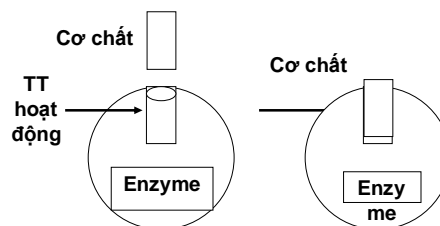
Trung tâm hoạt động của enzyme

Trung tâm hoạt động của enzyme = phần phân tử trong cấu trúc của enzyme mà tại đó enzyme + cơ chất → sản phẩm

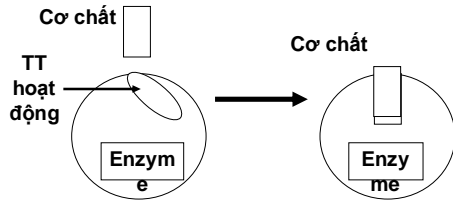
- Ở enzyme 1 cấu tử: trung tâm hoạt động = các nhóm định chức của acidamin (SH của Cys, OH của Ser, Tyr, nhóm ε-NH₂ của Lys, COOH của Glu, Asp, vòng imidazol của His, indol của Trp)
- Ở enzyme 2 cấu tử, trung tâm hoạt động = nhóm ngoại (vitamin, ion kim loại) + các nhóm định chức



Mô hình “Chìa và khóa” của Fisher về sự ăn khớp của enzyme và cơ chất (Năm 1894)



Mô hình “Khớp cảm ứng” của Koshland về sự ăn khớp của Enzyme và cơ chất (Năm 1958)

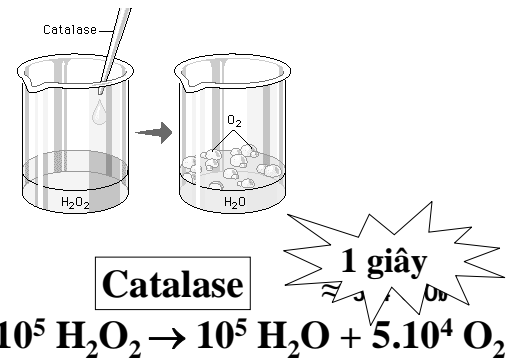


3. Tính chất của enzyme

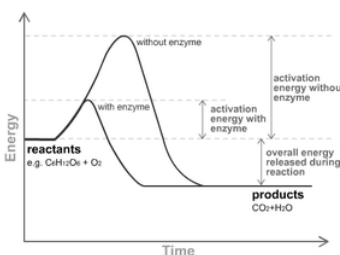
- Cường lực xúc tác
- Tính đặc hiệu của enzyme

Cường lực xúc tác

- Enzyme có cường lực xúc tác mạnh hơn nhiều so với xúc tác thông thường:
 - Trong 1 phút:
 - 1 mol Fe^{3+} xúc tác phân ly 10^{-6} mol H_2O_2
 - 1 phân tử catalaza có 1 nguyên tử Fe xúc tác phân ly $5 \cdot 10^{-6}$ mol H_2O_2
 - 1g pepxin trong 2 giờ thủy phân 5kg Protein trứng luộc ở nhiệt độ bình thường
 - 1 phân tử β -amilaza sau 1 giây có thể phân giải 4000 liên kết glucosid trong phân tử tinh bột.



Enzyme làm giảm năng lượng hoạt hóa



Năng lượng hoạt hóa là mức năng lượng cần thiết để chuyển các phân tử chất tham gia phản ứng từ trạng thái bình thường sang trạng thái hoạt động để phản ứng xảy ra.

Enzyme làm giảm năng lượng hoạt hóa

Phản ứng xúc tác	Saccharose + H_2O → glucose + fructose (calo/mol)	$\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2}\text{O}_2$ (calo/mol)
Không xúc tác	32.000	18.000
Xúc tác vô cơ	25.000 (H^+)	11.700 (Pt)
Enzyme	9.400 (saccharase)	5.500 (catalase)

Tính đặc hiệu của enzyme

- Tính đặc hiệu cao của enzyme = khả năng xúc tác cho sự chuyển hóa một hay một số chất nhất định theo một kiểu phản ứng nhất định → tác dụng có tính chọn lựa cao
- Bao gồm:
 - Đặc hiệu kiểu phản ứng
 - Đặc hiệu cơ chất

Đặc hiệu kiểu phản ứng

- Đặc hiệu kiểu phản ứng thể hiện ở chỗ mỗi enzyme chỉ có thể xúc tác cho một kiểu phản ứng chuyển hóa một chất nhất định:
 - Oxy hoá nhờ oxydaza:

$$\text{RCHCOOH} + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{RCOCO}_2\text{H} + \text{NH}_3$$
 - Khử cacboxyl nhờ decarboxylaza:

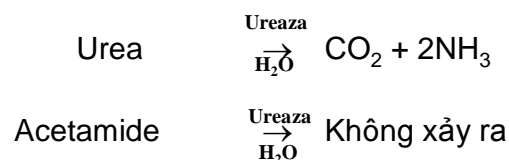
$$\text{RCHCOOH} \rightarrow \text{RCH}_2\text{NH}_2 + \text{CO}_2$$

Đặc hiệu cơ chất

- Cơ chất là chất có khả năng kết hợp vào trung tâm hoạt động của enzyme và bị chuyển hóa dưới tác dụng của enzyme
- Mức độ đặc hiệu của các enzyme không giống nhau, người ta thường phân biệt thành các mức sau:
 - Đặc hiệu tuyệt đối:
 - Đặc hiệu tương đối:
 - Đặc hiệu nhóm:
 - Đặc hiệu quang học (đặc hiệu lập thể)

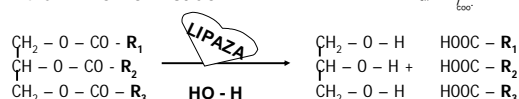
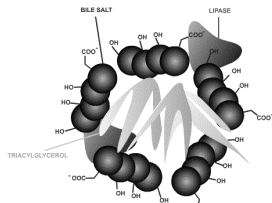
Đặc hiệu tuyệt đối

- Enzyme chỉ tác dụng trên một cơ chất nhất định và hầu như không có tác dụng với chất nào khác:



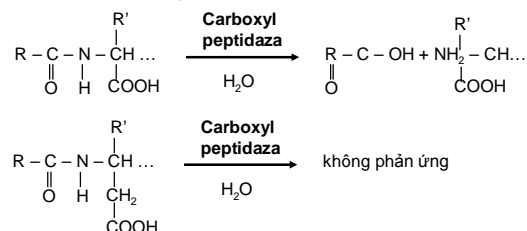
Đặc hiệu tương đối

- Enzyme có khả năng tác dụng lên một kiểu liên kết hóa học nhất định trong phân tử cơ chất mà không phụ thuộc vào cấu tạo của các phần tham gia tạo thành mối liên kết đó



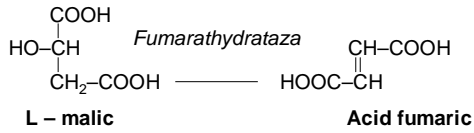
Đặc hiệu nhóm

- Enzyme có khả năng tác dụng lên một kiểu liên kết hóa học nhất định với điều kiện một trong hai phần tham gia tạo thành liên kết phải có cấu tạo xác định:

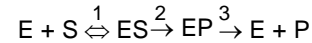


Đặc hiệu quang học (đặc hiệu lập thể)

➤ Enzyme chỉ tác dụng một trong hai dạng đồng phân quang học của các chất:



4. Cơ chế tác dụng của enzyme

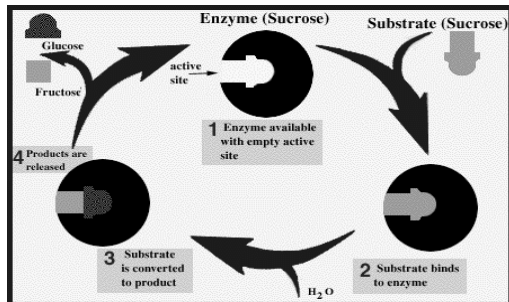


(E: enzyme, S: cơ chất, P: sản phẩm, ES: phức hợp trung gian enzyme-cơ chất)

➤ 3 giai đoạn:

- Gđ 1: E + S bằng lk yếu → phức enzyme- cơ chất (ES) không bền (xây ra rất nhanh, NL hoạt hóa thấp)
- Gđ 2: biến đổi S → sự kéo căng và phá vỡ các liên kết đồng hóa trị tham gia phản ứng
- Gđ 3: tạo thành P và E được giải phóng ra dưới dạng tự do.

4. Cơ chế tác dụng của enzyme



5. Các yếu tố ảnh hưởng đến vận tốc phản ứng enzyme

- Nồng độ enzyme
- Nồng độ cơ chất (mô hình Michaelis – Menten)
- Ảnh hưởng của các chất kìm hãm
- Các chất hoạt hóa
- Nhiệt độ
- pH môi trường

Ảnh hưởng của nồng độ enzyme

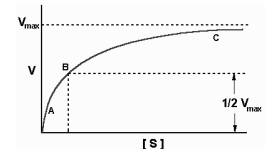
- Trong điều kiện thừa cơ chất, vận tốc phản ứng phụ thuộc tuyến tính vào nồng độ enzyme: $v = k[E]$, với $k = \text{const}$
- Nhưng khi nồng độ enzyme quá lớn thì vận tốc phản ứng sẽ tăng chậm lại.

Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất (mô hình Michaelis – Menten)

➤ Phương trình Michaelis – Menten:

v: vận tốc phản ứng, v_{max} : vận tốc cực đại của phản ứng, [S]: nồng độ cơ chất, K_m : hằng số Michaelis

- $[S] \ll K_m$: $v \sim [S]$
- $[S] \gg K_m$: $v = v_{\text{max}}$
- $[S] = K_m$: $v = v_{\text{max}}/2$



Ảnh hưởng của các chất kìm hãm

- Chất kìm hãm hay còn gọi là chất ức chế là những chất mà khi kết hợp với enzyme sẽ làm giảm hoạt tính của enzyme mà nguyên nhân trực tiếp là làm giảm ái lực giữa enzyme với cơ chất.
- Sự ức chế enzyme là những ức chế đặc hiệu và đặc trưng riêng cho từng enzyme.

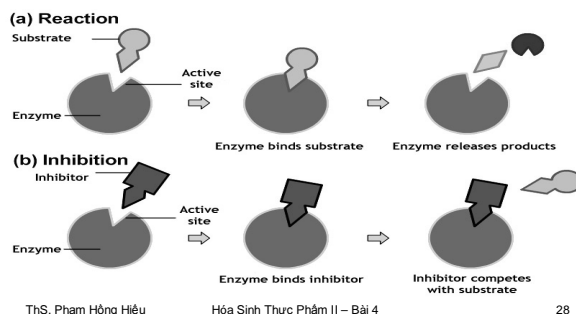
Ảnh hưởng của các chất kìm hãm

- Dựa vào các hình thức ức chế đặc hiệu, người ta chia thành 2 nhóm chính:
 - Ức chế không thuận nghịch: enzyme và chất ức chế được liên kết với nhau bằng liên kết đồng hóa trị và gây nên sự thay đổi cấu hình có hoạt tính của enzyme
 - Ức chế thuận nghịch: giữa enzyme và chất ức chế được liên kết với nhau bằng liên kết thứ yếu nào đó tạo nên thể cân bằng thuận nghịch. Sau khi chất ức chế bị loại trừ, hoạt tính enzyme lại được hồi phục.

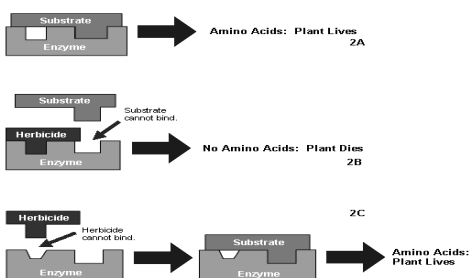
Ảnh hưởng của các chất kìm hãm

- Tùy theo đặc điểm của mối quan hệ giữa enzyme và cơ chất, có 2 loại:
 - Ức chế cạnh tranh
 - Ức chế không cạnh tranh

Ức chế cạnh tranh: chất ức chế có cấu trúc tương tự như cơ chất → kết hợp ngay vào trung tâm hoạt động của enzyme, chiếm chỗ cơ chất → phụ thuộc vào tỷ lệ $[S]/[I]$ → ↓ tác động ức chế bằng cách ↑ nồng độ cơ chất



Ức chế không cạnh tranh: chất ức chế gắn vào vị trí khác với vị trí gắn cơ chất trên phân tử enzyme → có cấu tạo khác với cơ chất và có thể kìm hãm nhiều loại enzyme khác nhau



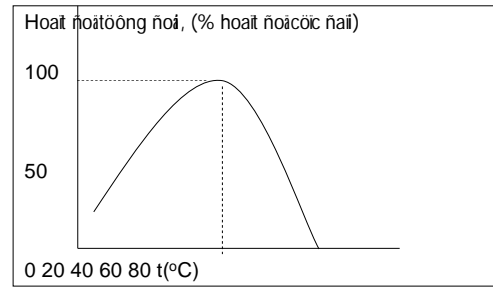
Ảnh hưởng của các chất hoạt hóa

- Chất hoạt hóa là những chất có khả năng làm tăng hoạt tính xúc tác của enzyme.
- Chất hoạt hóa có thể là các anion, các ion kim loại nằm ở ô thứ 11 đến ô thứ 55 của bảng tuần hoàn Mendeleev hoặc những chất hữu cơ có cấu tạo phức tạp hơn làm nhiệm vụ chuyển nhóm, chuyển hydro hoặc những chất có khả năng phá vỡ một số liên kết trong phân tử tiền enzyme hoặc các chất có tác dụng phục hồi những nhóm chức của trung tâm hoạt động của enzyme.
- Tuy nhiên, tác dụng hoạt hóa chỉ giới hạn ở những nồng độ xác định, vượt quá giới hạn này có thể làm giảm hoạt độ của enzyme

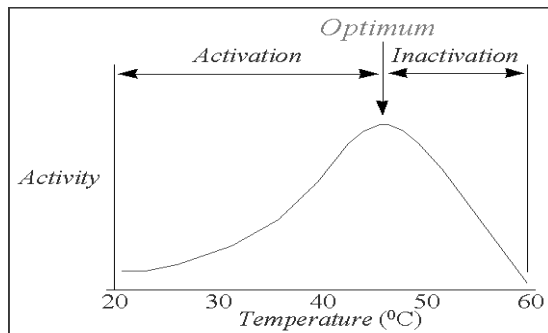
Ảnh hưởng của nhiệt độ

- Vượt quá phạm vi nào đó của nhiệt độ, các phản ứng do enzyme xúc tác sẽ bị ảnh hưởng do biến tính của enzyme.
- Nhiệt độ ứng với hoạt độ enzyme cao nhất gọi là nhiệt độ tối ưu của enzyme (t_{opt}) ~ 40 – 50°C, thay đổi tùy theo cơ chất, pH môi trường, thời gian phản ứng...
- Nhiệt độ mà enzyme bị mất hoàn toàn hoạt tính xúc tác gọi là nhiệt độ tới hạn ~ 70°C. Ở nhiệt độ tới hạn, enzyme bị biến tính, ít khi có khả năng hồi phục lại được hoạt độ. Ngược lại, ở nhiệt độ dưới 0°C, hoạt độ enzyme tuy bị giảm nhưng lại có thể tăng lên khi đưa về nhiệt độ bình thường
- Độ bền nhiệt của enzyme thường tăng lên khi có cơ chất, coenzyme, Ca^{2+} ...

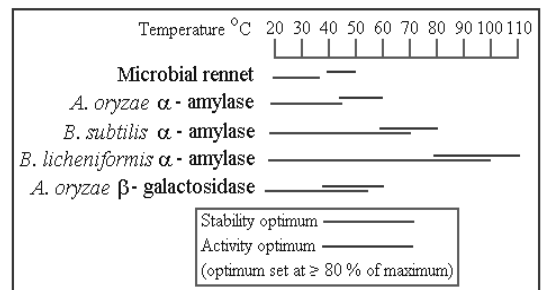
Ảnh hưởng của nhiệt độ



Ảnh hưởng của nhiệt độ



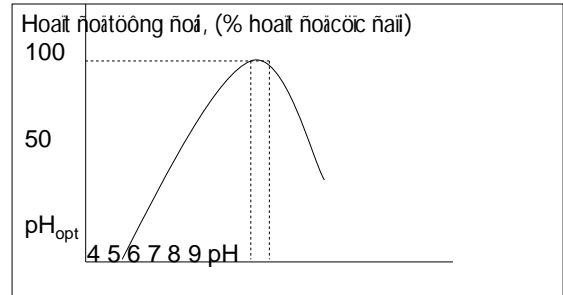
Ảnh hưởng của nhiệt độ



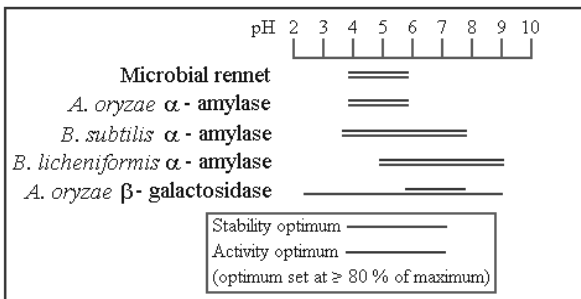
Ảnh hưởng của pH

- Đa số enzyme bền khi pH = 5–9, độ bền của enzyme cũng có thể tăng lên khi có cơ chất, coenzyme, Ca^{2+} ...
- Mỗi enzyme đều có một pH thích hợp gọi là pH_{opt} ~ 7, nhưng có enzyme có pH_{opt} rất thấp (pepsin, proteinaza acid của VSV...) hoặc khá cao (subtilizin, $pH_{opt} > 10$).
- pH_{opt} của một enzyme cũng không cố định mà phụ thuộc vào nhiều yếu tố như cơ chất, tính chất dung dịch đệm, nhiệt độ...

Ảnh hưởng của pH



Ảnh hưởng của pH



ThS. Phạm Hồng Hiếu

Hóa Sinh Thực Phẩm II – Bài 4

37

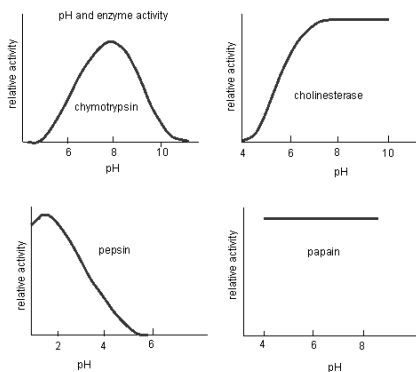
Ảnh hưởng của pH

Enzyme	Nguồn gốc	pH _{opt}
Pepsin	Dịch vị	1,8
Trypsin	Dịch tụy	8
Chymotrypsin	Dịch tụy	8,1 - 8,6
Amylase	Nước bọt, dịch tụy	7,0
Lipase	Dịch tụy	7,0 – 7,5
Phosphatase acid	Tuyến tiền liệt	5,0 – 5,6
Phosphatase kiềm	Xương, gan	8,6 – 9,1

ThS. Phạm Hồng Hiếu

Hóa Sinh Thực Phẩm II – Bài 4

38



ThS. Phạm Hồng Hiếu

Hóa Sinh Thực Phẩm II – Bài 4

39

SỰ KHÁC NHAU GIỮA ENZYM VÀ CÁC XÚC TÁC KHÁC

Đặc điểm	Chất xúc tác hóa học	Chất xúc tác sinh học (enzyme)
Bản chất hóa học	Phân tử nhỏ gồm vài nguyên tố (Pt, HCl...)	Đại phân tử protein
Tăng tốc độ phản ứng	$10^2 - 10^6$ lần	$10^6 - 10^{11}$ lần
Các điều kiện: Nhiệt độ thích hợp pH thích hợp nhất Áp suất	Cao (100°C) Acid hoặc kiềm mạnh Cao (vài atm)	Thấp (36 – 45°C) pH sinh lý Áp suất khí quyển (1 atm)
Thay đổi cấu trúc	Không	Có thay đổi, nhưng trở lại cấu trúc ban đầu
Tính đặc hiệu	Thấp (ví dụ H ⁺ thủy phân glucozide, peptide)	Cao (mỗi phản ứng cần enzyme tương ứng)

ThS. Phạm Hồng Hiếu

Hóa Sinh Thực Phẩm II – Bài 4

40

6. Cách gọi tên và phân loại enzyme

➤ Cách gọi tên:

- Tên thông dụng: pepxin, tripxin, kimotripxin
- Tên quốc tế: thường gồm 2 phần:
 - Phần thứ nhất là tên cơ chất (nếu phản ứng lưỡng phân thì phần thứ nhất là tên gọi của 2 cơ chất viết cách nhau bằng hai chấm).
 - Phần thứ hai: tên phản ứng mà enzyme xúc tác cộng thêm

ThS. Phạm Hồng Hiếu

Hóa Sinh Thực Phẩm II – Bài 4

41

6. Cách gọi tên và phân loại enzyme

➤ Phân loại: theo kiểu phản ứng do enzym xúc tác, bao gồm 6 nhóm chính:

- Oxydoreductaza (enzyme oxy hóa khử)
- Tranferaza (enzyme chuyển vị)
- Hydrolaza (enzyme thủy phân)
- Liaza (enzyme phân cắt)
- Izomeaza (enzyme đồng phân hóa)
- Ligaza (enzyme tổng hợp)

ThS. Phạm Hồng Hiếu

Hóa Sinh Thực Phẩm II – Bài 4

42

7. Phương pháp xác định độ hoạt động của enzyme

➤ 3 nhóm phương pháp xác định như sau:

Nhóm	Các thông số cố định	Các thông số thay đổi
1	Thời gian Nồng độ enzyme	Biến thiên của S và P
2	Lượng S mất đi (hay lượng P tạo thành) Nồng độ enzyme	Thời gian
3	Thời gian Lượng S mất đi (hay P tạo thành)	Nồng độ E

Các đơn vị của hoạt độ

- Đơn vị quốc tế (UI) là lượng enzyme có khả năng xúc tác làm chuyển hóa được 1 micromol cơ chất sau 1 phút ở điều kiện tiêu chuẩn: 1 UI = 1 μ mol cơ chất/phút
- Đơn vị Katal (Kat) là lượng enzyme có khả năng xúc tác làm chuyển hóa được 1 mol cơ chất sau 1 giây ở điều kiện tiêu chuẩn: 1 Kat = 1 mol cơ chất/s
→ Đổi đơn vị: 1 UI = 16,67 nKat (nanokatal)
- Hoạt độ riêng của một chế phẩm enzyme là số đơn vị UI (hay Kat) ứng với một mililit dung dịch (nếu là chế phẩm dạng dung dịch) hay 1 miligram protein (nếu là bột khô) của chế phẩm.
- Hoạt độ riêng phân tử là số phân tử cơ chất chuyển hóa bởi 1 phân tử enzyme trong một đơn vị thời gian

8. Ứng dụng của enzyme

- Với những tính chất ưu việt kể trên của enzyme ngày càng được ứng dụng rộng rãi và có hiệu quả cao trong mọi ngành khoa học kỹ thuật khác nhau như: y dược, thú y, chăn nuôi trồng trọt và đặc biệt là trong công nghiệp thực phẩm sản xuất các loại sản phẩm như: nước mắm, bia, rượu, tương, trà...
- Tiêu biểu:
 - Protease
 - Amylase
 - Pectinase
 - Cellulase

Enzyme protease

- Protease là nhóm enzyme thủy phân protein thành các sản phẩm đơn giản hơn peptid mạch ngắn, pepton, acid amin...
- Protease ứng dụng trong sản xuất nước chấm, nước mắm, tương, chao...
- Protease ứng dụng trong công nghệ thực phẩm làm mềm thịt như enzyme: bromelin, papain...
- Protease còn ứng dụng trong công nghệ thuộc da, làm mềm da, làm sạch lông, bóng da...

Enzyme protease

- Protease còn ứng dụng trong hương liệu mỹ phẩm. người ta trộn một lượng nhỏ enzyme protease và kem thoa, kem cạo râu, dầu gội, dầu bôi tóc, kem giặt... để làm cho da, tóc mềm mại, tẩy bỏ dễ dàng lớp tế bào già...
- Xà phòng, kem giặt có enzyme sẽ dễ dàng tẩy các chất bẩn đặc biệt ứng dụng giặt sạch các vết máu, sữa trên vải...
- Trong công nghiệp sản xuất sữa các protease như renin, pepsin có thể làm đông tụ sữa được dùng trong sản xuất phomai, sữa đông tụ.
- Trong y học, protease dùng để sản xuất môi trường dinh dưỡng nuôi vi sinh vật, sản xuất huyết thanh miễn dịch...

Enzyme amylase

- Amylase là enzyme thủy phân tinh bột được ứng dụng khá rộng rãi trong các ngành công nghiệp.
- Amylase ứng dụng trong công nghiệp sản xuất rượu, bia (giai đoạn đường hoá), sản xuất mạch nha, mật, đường glucose... từ tinh bột từ cơm rượu.
- Amylase còn ứng dụng trong sản xuất bánh mì làm cho bánh mì nở xốp thơm ngon hơn.
- Trong công nghiệp dệt, chế phẩm amylase để rũ hồ vải (tẩy lớp hồ bột trên mặt để vải mịn, mềm, dễ tẩy trắng, dễ bắt màu khi nhuộm...)

Enzyme pectinase

- Pectinase là enzyme thủy phân pectin có tác dụng làm trong các loại nước giải khát, nước quả, rượu vang...giúp cho quá trình lọc được dễ dàng hơn.
- Pectinase cũng được dùng trong sản xuất các sản phẩm từ quả, nước quả cô đặc, mứt đông do tính tạo keo của nó khi có đường, sản xuất café và café hoà tan

Enzyme cenlullase

- Cenlullase là enzyme thủy phân cenlulose thành các đường đơn giản để tiêu hoá hơn.
- Thêm chế phẩm enzyme cenlullase và thức ăn giàu cenlulose của động vật, thậm chí của người, sẽ làm thực phẩm mềm ra dễ tiêu hoá hơn ... do vậy tăng chất lượng và độ hấp thu của thức ăn này.
- Cenlullase làm tăng hiệu suất trích ly của các chất khác từ nguyên liệu thực vật.
- Cenlullase được ứng dụng trong thủy phân gỗ và các phế liệu của công nghiệp thành dịch đường làm thức ăn cho gia súc.