Carbohydrate Active Enzymes In Food Industry

Karbohidrat merupakan hidrat dari karbon

Di selai ada:

* Glukosa
* Fruktosa
* Sakarosa
* Pektin

Di buah-buahan ada:

* Glukosa
* Fruktosa
* Sakarosa
* Selulosa
* Pektin
* Pati

Di susu ada:

* Laktosa

Di makanan pokok seperti nasi, kentang ada:

* Rafinosa
* Pati
* Selulosa
* Pektin

Kata Wikipedia: Karbohidrat adalah biomolekul yang terdiri dari karbon, hidrogen, dan oksigen, dimana biasanya rasio hidrogen dan oksigennya 2:1 dengan pengecualian

Struktur Karbohidrat:

* Glukosa: C6H12O6. Atom karbon nomor 1 dari kanan
* Fruktosa: C6H12O6. Cincin segi 5 tp nomor karbonnya ada 6
* Sakarosa: C12H22O11. Ikatan dari 2 monosakarida yang dihubungkan dengan ikatan glikosida
* Rafinosa: C18H32O16.

Klasifikasi Karbohidrat:

1. Berdasarkan jumlah monomernya:

* Monosakarida: 1 subunit contohnya glukosa dan fruktosa
* Oligosakarida: 2-20 subunit contohnya disakarida (sakarosa, laktosa), trisakarida (rafinosa)
* Polisakarida: lebih dari 20 subunit contohnya pati, selulosa, pektin. Ada yang terdiri dari 1 jenis monosakarida saja, ada juga yg terdiri dari campuran

Peran Karbohidrat di produk makanan:

* Sweetener: gula → yang digunakan adalah senyawa sukrosa
* Humectant (mengikat air/menjaga konsentrasi kandungan air): di selai
* Energy supplier: karbohidrat adalah sumber energi yang paling sederhana dan paling efektif terutama dari pati
* Tekstur: membentuk tekstur makanan seperti thickener, gelling
* Color: berperan dalam proses browning (maillard: melibatkan protein atau asam amino, karamelisasi: reaksinya hanya gula dan panas)

MONOSAKARIDA

Ada beberapa jenis:

* Glukosa
* Fruktosa
* Galaktosa
* Mannosa
* Arabinosa
* Xylosa
* Ribosa

Berdasarkan strukturnya, karbohidrat monosakarida bisa dibagi menjadi:

1. Aldose atau ketosa
2. Pyranosa atau furanosa
3. Heksosa atau pentose
4. Alpha ata beta anomer

Aldosa atau Ketosa

* Aldosa: dari nama aldehida. Struktur oksigennya akan hadir di monosakarida dalam bentuk aldehid (COH). Punya gugus aldehid. Karbon 1. Contoh: glukosa.
* Ketosa: oksigennya dalam bentuk keton. Ikatan ganda oksigen lalu diapit dengan 2 karbon. Punya gugus keton. Karbon 2. Contoh: fruktosa.

Pyranosa atau Furanosa

* Pyranosa: cincin segi 6. glucopyranosa
* Furanosa: cincin segi 5. Glucofuranosa

Pentosa atau Heksosa

* Pentosa: 5-C atom. Contohnya xylosa
* Heksosa: 6-C atom. Contohnya glukosa

Alpha atau Beta

* Alpha-D-glucose: gugus OH di karbon nomor 1 ke bawah (arah sama)
* Beta-D-glucosa: gugus OH di karbon nomor 1 ke atas (arah beda)

Open Form (Struktur Terbuka)

Pada saat struktur terbuka, gugus hidroksil di ujung pereduksi akan menjadi oksigen (O). Dalam kondisi tebuka, monosakarida/gula sangat reaktif terutama untuk reaksi maillard dan karamelisasi

Karbohidrat memiliki sifat mereduksi

Gugus karbonil (C=O) di suatu monosakarida bisa mereduksi ion2 seperti tembaga menjadi tembaga oksida. Ini adalah konsep yang umum digunakan di dunia industry pangan atau di dunia riset karena dari sifat ini bisa digunakan untuk memkuantifikasi jumlah karbohidrat yang ada di makanan karena tembaga oksida tersebut memberikan warna biru.

Ujung Pereduksi

Ujung pereduksi pasti cuma ada 1. Dalam kondisi terbuka dia karbonil, kalo tertutup dia hidroksil. Ujung pereduksi ini akan membentuk ikatan glikosidik. Seberapa panjang rantai karbohidratnya, ujung pereduksi itu pasti cuma ada 1 yaitu di ujung dimana di monosakarida terakhir yang tidak ada ikatan glikosidiknya lagi karena di subunit yg lain semua sudah terpakai untuk membentuk ikatan glikosidik

Gula pereduksi contohnya sukrosa. Ujung pereduksinya sukrosa di karbon nomor 2.

Hidrolisis Karbohidrat

* Ikatan glikosidiknya terpotong
* Bisa terjadi karena secara enzim (invertase) atau kimia (kondisi asam atau suhu tinggi)
* Contoh: sakarosa akan terhidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa

Ujung pereduksi bisa digunakan untuk mengkuantifikasi bagaimana enzim bisa memotong polisakarida.

Dextrose Equivalent (DE)

* Cara menghitung tingkat karbohidrat sudah seberapa persen terhidrolisis
* Dextrose: glukosa
* Cara menghitungnya: jumlah ujung pereduksi dibagi jumlah subunit glukosa dikali 100%

Oligosakarida Pada Pangan

* Non digestable oligosaccharides

1. Tidak bisa terdegradasi oleh pencernaan
2. Bisa berperan sebagai prebiotic
3. Dapat menyebabkan flatulensi (kembung)
4. Contoh: rafinosa, glukooligosakarida, fruktooligosakarida

* Berperan sebagai bahan makanan: cyclodextrins bisa menstabilkan komponen hidrofobik di emulsi
* Berperan sebagai pemanis: disakarida, malto-oligosakarida

Polisakarida

* Degree of polymerization (DP): subunit polisakaridanya
* Contoh: karagenan, pektin, pati, agar, selulosa

Klasifikasi Polisakarida

1. Homoglycan (1 jenis monosakarida):

* Linear: amilosa
* Branched: amilopektin

1. Heteroglycan (2 atau lebih jenis monosakarida):

* Linear
* Branched

Peran Polisakarida di Tanaman

1. Sebagai tempat penyimpanan energi, contoh: pati di kentang
2. Sebagai struktur dinding sel tanaman terutama selulosa

Peran Polisakarida di Hewan:

1. Sebagai pembentuk pengikat jaringan, contohnya kitin
2. Kalo di bakteri: digunakan untuk membentuk biofilm
3. Kalo di sistem biologis: polisakarida bisa berikatan dengan molekul organik seperti protein (namanya: glycoprotein) dan lemak (namanya: glycolipid)

Salah satu sifat polisakarida yang umum digunakan untuk industri pangan adalah polisakarida dapat mempengaruhi viskositas. Viskositas adalah bagaimana suatu larutan bisa menahan aliran

Faktor2 yang membuat polisakarida bisa mempengaruhi viskositas

1. Konformasi: alfa atau beta. Polisakarida yg memiliki ikata glikosida dari anomer alfa: strukturnya lebih fleksibel. Kalo anomer beta: strukturnya lebih kaku. Anomer beta lebih meningkatkan viskositas dibandingkan anomer alfa
2. Jumlah percabangan: asumsikan DPnya sama → kalo linear (kaku seperti beta linked) akan meningkatkan viskositas lebih baik daripada yg bercabang
3. DP: semakin panjang DP, semakin meningkatkan viskositas
4. Muatan: yg bermuatan meningkatkan viskositas lebih baik daripada yg tidak bermuatan

Semakin besar luasnya, semakin baik meningkatkan viskositas

Polisakarida bisa membentuk gel (jaringan 3D dimana polisakarida bisa memerangkap air di tengah)

Starch and HFCS Production

STARCH

* Polisakarida yang terdiri dari glukosa yang saling berikatan dengan ikatan alfa 1,4 glikosidik
* Terdiri dari 2 jenis polisakarida: amilosa yg linear dan amilopektin yg bercabang
* Berfungsi sebagai sumber energi
* Kalo di hewan ada glikogen untuk menyimpan energi
* Beberapa pati tidak bisa dicerna oleh manusia: resistance starch
* Di alam: dalam bentuk granula
* Setiap sumber pati memiliki ukuran granula yang berbeda beda. Ini yang memberikan struktur yg unik ke masing2 sumber pati
* Modifikasi ukuran granul = modifikasi sifatnya

Pati bisa mengalami likuifikasi (liquefaction). Kalo panaskan granula pati, ukuran granul akan mengembang sampai ke viskositas maksimum. Setelah itu granula akan pecah. Ketika dipanaskan terus menerus maka didapatkan rantai amilosa dan amilopektin yang independen dan tidak dalam bentuk granula lagi.

Retrogradasi: sudah pecahin granula dan dapat amilosa dan amilopektin yg independen tp klo didiemin gitu aja, suhunya menurun, maka rantai2 itu akan berinteraksi satu sama lain dan viskositasnya akan naik lagi. Pati yg mengalami retrogradasi disebut resistance starch (fiber)

HFCS production: caranya mendegradasi pati menjadi monomer2nya. Pati cukup kompleks shg butuh beberapa enzim untuk mendegradasi pati. Contohnya:

1. Glucoamylase (amyloglucosidase): bekerja dari ujung rantai bebas. Memotong ikatan 1,4 glikosidik satu per satu shg didapatkan glukosa. Dia juga bisa motong ikatan 1,6 glikosidik yg bercabang tp kerjanya lambat
2. Isoamylase: memotong cabang (ikatan 1,6) dengan cepat
3. Alfa amylase: motong ikatan 1,4 tp cara kerjanya random di tengah
4. Beta amylase: kerjanya dari ujung tapi motong ikatan 1,4nya setiap 2 subunit shg didapatkan maltose

Produksi HFCS

* Biorefinery
* Menggunakan pati jagung karena murah
* Pati didegradasi jadi glukosa dan dikonversi oleh enzim menjadi fruktosa
* Fruktosa lebih manis dari glukosa

Major Steps:

Kulit jagung → pati → glukosa → fruktosa

First Step: Wet Milling (penggilingan basah)

Corn kernels → corn starch

1. Jagung dibersihkan dan direndam dengan air
2. Air akan dipisahkan
3. Jagung yg basah akan digiling
4. Pemisahan dengan sentrifugasi
5. Pencucian
6. Produk sampingnya adalah germ (kulit ari) dan protein jagung spt gluten untuk makan ternak
7. Produk utama: pati

Second Step: sakarifikasi

Corn starch → glukosa

1. Likuifikasi: memecah granula pati dengan suhu 80-115 C selama 1-30 menit. Ditambahkan enzim amilase yg termostabil untuk mempercepat waktu
2. Sakarifikasi: untuk dapet monosakarida dengan suhu 55-60 C selama 40-90 jam, bergantung pada glucoamylase. Lama karena enzim mendegradasi satu per satu
3. Pembersihan melalui absorbsi dengan karbon untuk membuang pengotor organik dan ion exchange untuk membuang pengotor inorganic
4. Proses lain yg masih banyak
5. Dapet glukosa

Third Step: glucose conversion

Glucose → fructose

1. Ada enzim glucose-isomerase yg akan mengubah glukosa menjadi fruktosa
2. Glucose-isomerase memiliki suhu optimum 60-80 C, pH 7,5-8,5
3. Reaksinya bolak balik (reversible) jd tidak akan dapat 100% fruktosa
4. Ratio glukosa dan fruktosa = 50:50 memberikan rasa manis yg lebih intens. Ini yg dinamakan HFCS

Pectin In Food Industry

Pectin adalah polisakarida yang biasa ada di struktur tanaman (lamella tengah: bagian dari dinding sel tanaman, dinding sel primer dan sekunder tanaman)

Komersial pektin

Berasal dari: appel pomace, kulit jeruk

Manfaat: minuman buah, konsentrat jus, pembentukan selai, dressing (mayones), yogurt

Struktur Pektin

* DP: 200-500 unit (tidak sepanjang pati)
* Rantai utama memiliki struktur monomernya adalah dari gula asam galakturonat
* Ada 2 golongan: smooth region karena cuma rantai linear contohnya polygalacturonan, dan hairy region (rhamonoglacturonan I dan II)

RG I

* Ada 2 monosakarida: rhamnosa dan asam galakturonan
* Memiliki rantai utama berupa ikatan selang seling antara galacturonic acid (hitam) dan rhamnosa (putih)
* Bisa memiliki cabang berupa polisakarida yg isinya arabinose (arabinan), polisakarida galactan, dan polisakarida arabinogalactan (gabungan antara arabinose dan galaktosa)

RG II

* Rantai utamanya adalah galacturonic acid saja
* Galacturonic acidnya bisa bercabang yg campuran (rhamnosa, arabinose atau galaktosa)

Galacturonic acid masuk ke dalam kelompok uronic acid. Mreka adalah kelompok monosakarida yang memiliki muatan. Ciri khasnya punya gugus karboksil (COOH).

* Galacturonic acid: ditemukan di pektin
* Glucuronic acid: strukturnya mirip glukosa cuma bedanya ada COOH, ditemukan di gum Arabic
* Manuronic acid (mirip manosa) dan guluronic acid: ditemukan di alginate

Kelebihan uronic acid: ikatan glikosidanya relative lebih kuat karena mereka lebih stabil terhadap panas dibandingkan dengan polisakarida non galacturonic acid

Gugus COOH, hidrogennya bisa disubtisusi dengan methyl disebut dengan metilasi sehingga strukturnya disebut COOCH3, tujuannya untuk bikin lebih kompleks dan rumit jd lebih tahan serangan.

Methyl-esterification

* Degree of methyl esterification (DM) adalah seberapa termetilasi struktur polygalacturonan ini.
* HM pectin: >50%
* LM pectin: <50%

Effect of pH

* pH 7 gugus karboksil akan bermuatan negative (COO-)
* pH 3 gugus karboksil akan netral/tidak bermuatan

kenapa kita harus tau pektin bermuatan atau tidak? krn konsep alginat. pektin bisa membentuk gel (egg-box model).

kalo lagi bermuatan negati (COO-) lalu ada ion Ca2+ trs ada 2 rantai pektin yg berbeda. 1 rantainya berikatan dengan kalsium dan rantai satunya berikatan dengan kalsium juga. pasti akan terbentuk egg box model. struktur kompleks ini membuat pektin bisa merangkap air jadi gel. ini hanya bisa terjadi jika strukturnya COOH

ada hubungannya juga dengan sifat metilasi pektin

kalo misalnya pektinnya high methylated akan sulit membentuk egg box model. HM pektin jd LM pektin → buang metilnya dengan menggunakan enzim PME. enzim PME akan membuang metil dari COOCH3 jadi COOH. Cara kerjanya: hanya bisa membuang metil kalo dia mendeteksi adanya galacturonic acid yg tidak termetilasi

PME bisa berasal dari fungi, pH 4.5, dan memiliki sifat non processive (random)

PME berasal dari tanaman, cara kerjanya processive

PME penting untuk industri jus krn ada cloud stability

ini efek dari PME yg berasal dari buah itu sendiri

si PME akan membuang metil dari pektin struktur buah itu sehingga jadi bermuatan. kalo di jus ada ion kalsium, dia kan membentuk gel dan pektin akan menjadi berat lalu akan mengendap di bawah semua (sedimentasi). ini ga mau terjadi.

yang dilakukan:

1. inaktivasi PME si buah itu sendiri dengan cara pasteurisasi tapi negatifnya beberapa vitamin ada yg hilang
2. menggunakan enzim lain seperti polygalacturonase yg mendegradasi pektinnya tapi seratnya ikut terdegradasi
3. tambahkan inhibitor PME contohnya oligogalacturonida tapi mahal, dan industri pangan ogah untuk nambah zat aditif

Breaking down pectins

pektin kompleks maka perlu enzim lebih banyak

1. smooth region

* pectin methyl esterase: membuang methyl
* pectin acetyl esterase akan membuat pektin ada perlindungan, membuang acetyl
* polygalacturonase: memotong tengah strukturnya rantai homogalacturonan (ikatan 1,4 glikosida), hanya bisa bekerja ke galacturonic acid yg methylnya udh dibuang
* pectinlyase: memotong tengah strukturnya rantai homogalacturonan (ikatan 1,4 glikosida), dia ga peduli galacturonic acid telah termetilasi, kerjanya lebih lambat dari polygalacturonase

2. hairy region

* Rhamnogalacturonan-hydrolase: mendegradasi RG1, memotong disebelah rhamnos
* RG-lyase: mendegradasi RG1, yg dicari adalah galacturonic acid
* kalo ada cabang, buang cabangnya dulu baru bisa mendegradasi rantai utamanya.

Polygalacturonase

* kerjanya memotong ikatan beta1,4
* hanya bisa aktif ke pektin yg tidak terlalu termetilasi
* endo: kerjanya motong di tengah rantai
* exo: kerjanya motong di ujung rantai
* sumber: fungi, bakteri, tanaman
* pH: 4-5.5

Aplikasi pektinase:

1. produksi jus: membuat jus yang lebih bening
2. vegetable/fruits: membuat tekstur
3. ekstraksi minyak terutama minyak dari buah2an (olive oil), mendegradasi polisakarida dari buahnya shg minyak gampang keluar
4. pakan hewan: fiber tidak terlalu tinggi, karbohidrat lebih mudah diserap oleh hewan
5. biofuel dan biochemical: pektin mendegradasi limbah2 agrikultur

Schematic overview of apple juice technology

Saat produksi jus apel, pektinase ditambahkan di tahap crushing untuk membantu melunakan badan buah sehingga energi yg diperlukan untuk crushing tidak terlalu tinggi. lalu dipress dan dapetin sari yang *curd* kemudian hasil press akan dipasteurisasi lalu akan ada tahap pasteurisasi. setelah itu ada tahap reaksi dan ada penambahan pektinase lagi karena hasil jus kan masih kasar/butek dan perlu diultrafiltrasi yang filternya ukurannya kecil2 dan bisa mampet. lalu dikonsentratkan dan jusnya disimpan.

Galactomannan

* polisakarida yang rantai utamanya adalah manosa dengan rantai samping berupa galaktosa
* sebagai thickener

Struktur galactomannan

* rantai manosa panjang dan beberapa manosanya ada yg ikatan 1,6 berikatan dengan galaktosa

tipe galactomanan berdasarkan distribusi galaktosa

1. uniform: sebaran galaktosanya seragam
2. random: tidak mengikuti pola
3. block: beberapa region memiliki gugus samping galaktosa tp ada daerah yg tidak punya gugus samping, hanya di daerah tertentu. sekalinya ada, galaktosanya urut

bagaimana galactomannan bisa meningkatkan viskositas?

subunit manosa yg tidak memiliki gugus samping, dia akan berinteraksi dengan subunit manosa lain dari rantai galactomannan yg lain. tapi kalo punya gugus samping, dia tidak bisa berinteraksi. jadi semakin banyak gugus samping, semakin tidak dapat meningkatkan viskositas.

Lactose

* disakarida (galaktosa dan glukosa)
* 2-8% berat susu

Lactase

* meningkatkan rasa manis
* meningkatkan solubilitas: membentuk crystal pada es krim
* membentuk fermentasi
* enhanced digestibility
* digunakan untuk mengukur konsentrasi laktosa

cellobiose dehydrogenase

* memecah dinding sel tanaman
* mendegradasi laktosa
* laktosa akan dikonversi menjadi lactone lalu lactone bisa teroksidasi secara spontan menjadi glyoxylate dan NADH
* digunakan juga untuk analisis

enzim yang merepotkan: PME krn bisa membuat jus jadi cloudy