



دانشگاه بیرجند
دانشکده علوم

پایان نامه:

جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد شیمی آلی

عنوان:

سنتز آنزیمی تعدادی از مشتقات کومارین با استفاده از کاتالیزور زیستی لکاز

استاد راهنما:

سرکار خانم دکتر قدسیه باقرزاده

استاد مشاور:

جناب آقای دکتر محمدعلی فرامرزی

نگارش:

مهدی مقربی منظری

سال تحصیلی ۹۰ - ۱۳۸۹



صورتجلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

فرم شماره ۱۰

با تأییدات خداوند متعال جلسه دفاع از پایان نامه تحصیلی کارشناسی ارشد آقای مهدی مقربی منظری دانشجوی کارشناسی ارشد رشته: شیمی به شماره دانشجویی: ۸۸۲۳۱۲۸۰۴۹ گرایش: شیمی آلی دانشکده: علوم تحت عنوان: " سنتز آنزیمی تعدادی از مشتقات کومارین با استفاده از کاتالیزور زیستی لکاز " به ارزش: ۶ واحد در ساعت: ۱۲ ظهر روز: چهارشنبه مورخ: ۹۰/۷/۱۳ با حضور اعضای محترم جلسه دفاع و نماینده تحصیلات تکمیلی به شرح ذیل تشکیل گردید:

سمت	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
استاد راهنمای اول	دکتر قدسیه باقرزاده	استادیار	
استاد راهنمای دوم			
استاد مشاور اول	دکتر محمدعلی فرامرزی	دانشیار	
استاد مشاور دوم			
داور اول	دکتر محمدعلی ناصری	استادیار	
داور دوم	دکتر محمد ملکانه	دانشیار	
نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر ابراهیم قیامتی	دانشیار	

نتیجه ارزیابی دفاع که منوط به ارائه اصلاحات پیشنهادی توسط هیئت داوران حداکثر ظرف مدت یکماه پس از تاریخ دفاع می باشد، به شرح زیر مورد تأیید قرار گرفت:

قبول (با درجه: عالی و امتیاز: ۲۰) دفاع مجدد غیر قابل قبول

۱- عالی (۲۰-۱۹) ۲- بسیار خوب (۱۸/۹۹-۱۸) ۳- خوب (۱۷/۹۹-۱۶) ۴- قابل قبول (۱۵/۹۹-۱۴)

(بدیهی است عواقب آموزشی ناشی از عدم ارائه به موقع اصلاحات مزبور به عهده دانشجو می باشد)

تقدیم به

پدر و مادرم

سپاس‌گزاری

اکنون که با یاری خداوند این پایان‌نامه به اتمام رسیده است، بر خود لازم می‌دانم از تمامی اساتید و بزرگوارانی که در اجرای این پروژه مرا یاری نموده‌اند نهایت تشکر و قدردانی را داشته باشم. همواره سپاس‌گزار استاد راهنمایم سرکار خانم دکتر باقرزاده خواهم بود. از زحمات جناب آقای دکتر فرامرزی که به عنوان استاد مشاور مرا در انجام این پروژه تحقیقاتی یاری نموده‌اند سپاس فراوان دارم. از اساتید گرانقدر جناب آقای دکتر ناصری و جناب آقای دکتر ملکانه که داوری این پایان‌نامه را بر عهده داشتند کمال امتنان و تشکر را دارم. از حضور استاد محترم جناب آقای دکتر قیامتی به عنوان نماینده تحصیلات تکمیلی در جلسه دفاع تشکر می‌نمایم.

و

در پایان از خانواده عزیزم بخاطر زحمات بی‌دریغ و همکاری‌شان در تمام مدت تحصیلاتم بسیار سپاس‌گزارم.

پیشگفتار

آنزیم‌ها، پروتئین‌هایی هستند که قادرند موجب تسریع واکنش‌های شیمیایی شوند. در تمامی اشکال از سلول‌های زنده، انجام کلیه واکنش‌های شیمیایی به حضور آنزیم‌ها وابستگی داشته و بدون کمک آن‌ها، واکنش‌های مذکور یا با سرعت پایین انجام شده و یا ممکن است اصلاً انجام نشوند. علاوه بر پیش‌برد حیات در سلول‌های موجودات زنده، آنزیم‌ها همواره نقش مهمی را در زندگی بشر نیز ایفا کرده‌اند. انسان‌ها بدون آن که بدانند طی هزاران سال از این کاتالیزورهای طبیعی بهره گرفته‌اند. تولید سرکه، پنیر، خمیر ترش و بسیاری دیگر از مواد غذایی بدون کمک آنزیم‌ها امکان‌پذیر نبوده و همچنین صنایعی مانند نساجی و رنگ از وجود این ابزارهای زیستی بهره‌های فراوانی برده‌اند. در زمانی که تولید این ترکیبات در آزمایشگاه و واحدهای بزرگ صنعتی میسر نبود آنزیم‌ها یا توسط میکروارگانیسم‌ها در طی فرآیند تولید، سنتز می‌شدند و یا به همراه مواد اولیه وارد پروسه تولید می‌شدند. در دهه‌های پایانی قرن گذشته تولید آنزیم‌ها به شکل خالص و در مقیاس انبوه میسر گردید. دانشمندان در سال‌های اخیر این امکان را یافته‌اند که با کمک گرفتن از میکروارگانیسم‌هایی که هر یک آنزیم مشخصی را تولید می‌کنند از آن‌ها در صنایع تولیدی مختلف استفاده نمایند. برای مثال می‌توان به تولید شوینده‌ها و یا صنایع نساجی به‌کار می‌روند اشاره کرد.

زمانی که شیمی‌دانان مختلف به بررسی علم شیمی در راستای برآورده کردن نیازهای مهم صنعتی و اجتماعی پرداختند، برخی از آنها که در زمینه سنتز کار می‌کردند تلاش خود را بر کشف سنتزهایی منطبق با اصول شیمی سبز متمرکز کردند و برخی دیگر به توسعه جایگزین‌های جدید و مناسب که کارایی لازم را داشته و بدون اثرات منفی بر اکولوژی و سلامت بشر باشد پرداختند. بیوکاتالیست‌ها و بیوسنتزهای مواد شیمیایی، این پتانسیل را دارا هستند که منجر به انجام سنتزها و واکنشها، تحت شرایط سازگار با محیط زیست و همراه با دست یافتن به راندمان و گزینش‌پذیری

بالا گردند. چنین سیستم‌هایی قادرند مواد اولیه‌ی خام تجزیه‌پذیر و یا دارای ارزش اقتصادی ناچیز را به مواد شیمیایی با ارزش اقتصادی بالا تبدیل نمایند. اخیراً با توجه به محدودیت‌های زیست-محیطی که برای استفاده از حلال‌های شیمیایی بوجود آمده است توجه ویژه‌ای به استفاده از آنزیم‌ها در سنتزهای شیمیایی شده است و سبب ایجاد ارتباط تنگاتنگی بین علوم شیمی و بیوتکنولوژی شده است. لذا در راستای گسترش سنتزهای سبز در شرایط ملایم مطالعه سنتز مشتقات ۴-هیدروکسی کومارین توسط آنزیم لکاز هدف این پایان‌نامه قرار گرفت.

شاخص‌ها و اختصارات

ABTS	2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
DMP	2,6-Dimethoxyphenol
EC	Enzyme Commission
EDTA	Ethylenediamine tetra acetic acid
HBT	Hydroxybenzotriazole
K_{av}	Partition coefficient (using $V_t - V_0$)
K_D	Partition coefficient (general)
K_d	Partition coefficient (using V_i)
K_m	Michaelis constant
M_r	Molecular weight
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NMR	Nuclear magnetic resonance
TLC	Thin layer chromatography
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine
TEMPO	2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy
t_R	Retention time
Tris	Tris-(hydroxymethyl) aminomethane
V_0	Void volume
V_i	Interstitial volume
V_{max}	Maximum rate
V_R	Retention volume

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	۱-۱- آنزیم‌ها
۱	۱-۱-۱- اهمیت آنزیم‌ها
۳	۱-۲- نام‌گذاری آنزیم‌ها
۴	۱-۳- منابع آنزیم‌ها
۵	۱-۴- جداسازی و تخلیص آنزیم‌ها
۶	۱-۴-۱- خالص‌سازی پروتئین‌ها
۶	۱-۴-۲- آماده‌سازی نمونه
۱۱	۱-۴-۳- خالص‌سازی پروتئین‌ها به کمک روش‌های کروماتوگرافی
۱۲	۱-۵- سنیتیک و اکنش‌های آنزیمی
۱۶	۱-۶- فواید و معایب استفاده از کاتالیزورهای زیستی
۱۸	۲-۱- آنزیم لکاز
۱۸	۲-۱-۱- ویژگی‌های لکاز
۱۹	۲-۲-۱- تاریخچه
۲۰	۲-۳-۱- مکانیسم عملکرد لکاز
۲۲	۲-۴-۱- عملکردهای فیزیولوژیک لکاز
۲۳	۲-۵-۱- مکانیسم انتقال الکترون در لکاز
۲۶	۲-۶-۱- لکاز و واسطه‌های شیمیایی
۳۰	۲-۷-۱- اندازه‌گیری فعالیت لکاز
۳۳	۳-۱- کاربردهای لکاز

صفحه	عنوان
۳۳	۱-۳-۱- کاربردهای زیست محیطی
۳۴	۱-۳-۲- کاربرد لکاز در صنایع
۳۵	۱-۴-۱- استفاده از لکاز در سنتزهای شیمیایی
۳۵	۱-۴-۱- تبدیلات کاتالیز شده ترکیبات فنلی توسط لکاز
۳۶	۱-۴-۲- رنگدانه‌های آزو
۳۸	۱-۴-۳- تبدیلات سایر ترکیبات آلی
۴۰	۱-۴-۴- محافظت‌زدایی اکسایشی توسط لکاز
۴۱	۱-۴-۵- اتصال اکسایشی کاتالیز شده با لکاز برای سنتز ترکیبات دارویی
۴۳	۱-۴-۶- ایجاد پیوند C-C و C-N کاتالیز شده توسط لکاز
۴۵	۱-۴-۷- واکنش‌های پلیمریزاسیون اکسایشی توسط لکاز
۴۷	فصل دوم- مواد و روش‌ها
۴۸	۲-۱- مواد شیمیایی و واکنشگرها
۴۹	آنزیم لکاز
۵۰	۲-۲- دستگاه‌ها
۵۱	۲-۳- اندازه‌گیری فعالیت لکاز
۵۲	۲-۴- روش سنتز مشتقات حاصل از واکنش کومارین
۵۷	فصل سوم- بحث و نتیجه‌گیری
۷۰	ضمیمه
۸۴	منابع

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۵	جدول ۱-۱- طبقه‌بندی آنزیم‌ها بر اساس فعالیت فیزیولوژیک
۱۹	جدول ۱-۲- اسامی دسته‌ای از میکروارگانیسم‌های مولد آنزیم لکاز
۳۸	جدول ۳-۱- مثال‌هایی از تبدیلات سایر ترکیبات آلی
۴۶	جدول ۴-۱- مثال‌هایی از واکنش‌های پلیمریزاسیون
۴۸	جدول ۱-۲- فهرست مواد بکار رفته در انجام پایان‌نامه
۵۹	جدول ۱-۳- کاربرد صنعتی تعدادی از آنزیم‌ها
۶۱	جدول ۲-۳- مقدار Log P برای تعدادی از حلال‌های آلی
۶۵	جدول ۳-۳- سنتز مشتقات ۴-هیدروکسی کومارین

فهرست اشکال

صفحه	عنوان
۲	شکل ۱-۱- آنزیم‌ها از طریق تغییر مسیر واکنش آن را از مسیری
۶	شکل ۱-۲- چهار مرحله اصلی در فرآیند خالص‌سازی پروتئین‌ها
۱۰	شکل ۱-۳- سری هافمیستر که آنیون‌ها و کاتیون‌ها را بر اساس قدرت
۱۲	شکل ۱-۴- نحوه عملکرد انواع روش‌های کروماتوگرافی
۱۴	شکل ۱-۵- تغییرات V_0 در برابر $[S_0]$
۱۶	شکل ۱-۶- نمودار لینویور-برگ
۲۰	شکل ۱-۷- نحوه قرارگیری اتم‌های مس در ساختار
۲۲	شکل ۱-۸- چرخه تولید دو ملکول آب از اکسیژن ملکولی
۲۳	شکل ۱-۹- ساختار شیمیایی دو دسته از لیگنین‌ها
۲۵	شکل ۱-۱۰- مکانیسم انتقال الکترون در لکاز
۲۶	شکل ۱-۱۱- مکانیسم تخریب حدواسط محلی
۲۷	شکل ۱-۱۲- چرخه اکسایش سوبسترا
۲۸	شکل ۱-۱۳- ساختار تعدادی از واسطه‌های شیمیایی مصنوعی لکاز
۲۹	شکل ۱-۱۴- ساختار تعدادی از واسطه‌های شیمیایی طبیعی لکاز
۳۰	شکل ۱-۱۵- ساختار شیمیایی سیرینگالدازین
۳۱	شکل ۱-۱۶- ساختار شیمیایی دی‌متوکسی‌فنل و نحوه اکسیداسیون آن
۳۱	شکل ۱-۱۷- ساختار شیمیایی گایاکول و محصول حاصل از اکسیداسیون لکاز
۳۲	شکل ۱-۱۸- مکانیسم اکسیداسیون ABTS توسط لکاز

صفحه	عنوان
۳۶	شکل ۱-۱۹- تبدیلات اسید فلوریک توسط لکاز
۳۷	شکل ۱-۲۰- تاثیر لکاز بر اسید سیناپیک
۳۷	شکل ۱-۲۱- تاثیر لکاز بر رنگدانه‌های آزو
۴۱	شکل ۱-۲۲- محافظت زدایی پارامتوکسی فنیل در آمین‌ها
۴۲	شکل ۱-۲۳- اکسایش ۴-متیل-۳-هیدروکسی اسید آنترانیلیک
۴۲	شکل ۱-۲۴- سنتز ۲-آمینو-۳-هیدروژن-فنوکسازین-۳-اون‌ها
۴۳	شکل ۱-۲۵- سنتز آنالوگ‌های اسید سینابارینیک
۴۴	شکل ۱-۲۶- مثال ایجاد پیوند C-C بین هیدروکینون و (+)-کاتشین
۴۵	شکل ۱-۲۷- تولید مشتقات اسید دی‌هیدروکافئیک توسط لکاز
۵۲	شکل ۲-۱- تغییر رنگ حاصل از افزایش لکاز به محلول ABTS
۵۳	شکل ۲-۲- سیستم واکنش برای سنتز مشتقات کومارین با استفاده از لکاز
۶۲	شکل ۳-۱- محصولات حاصل از واکنش کومارین و هیدروکینون
۶۳	شکل ۳-۲- مکانیسم واکنش

خلاصه

گسترش تبدیلات کاتالیزشده آنزیمی که در آنها از اکسیژن موجود در هوای تنفسی به عنوان اکسیدان استفاده می‌شود مورد توجه مباحث موجود در شیمی سبز است و فرآیندهایی، سازگار با محیط زیست را ارائه می‌کند. همچنین این موضوع که استفاده از این آنزیم‌ها در مقادیر کاتالیزوری استفاده می‌شوند و در محیط‌های آبی عمل می‌کنند و قادرند در طی واکنش، اکسیژن را به آب تبدیل کنند بسیار مورد توجه است. مهمترین جنبه‌های استفاده از آنزیم لکاز در تصفیه پساب‌های صنعتی و بیوسنسورها و صنایع غذایی است. با این حال پایداری زیاد لکاز در محلول، شرایط ملایم واکنش و انتخاب‌پذیری آن برای سوبستراهای فنلی افق‌های جدیدی در کاربرد لکاز در سنتزهای شیمیایی ترسیم کرده است. در مطالعه حاضر، سنتز زیستی مشتقات ۴-هیدروکسی کومارین در محیط مائی مورد بررسی قرار گرفت. آنزیم لکاز در واکنش مذکور جهت اکسیداسیون هیدروکینون و تولید ترکیبات کینون در ظرف واکنش استفاده شد. در این سیستم واکنش طی کاربرد کاتالیزور زیستی، مشتقاتی از ترکیبات کومارینی حاصل گردید که راندمان تولید آن‌ها بستگی به ساختار هیدروکینون و پیریدین اولیه دارد. تمام مراحل خالص‌سازی محصولات با استفاده از ستون کروماتوگرافی سیلیکاژل انجام گرفت و شناسایی ساختار محصولات نیز توسط طیف‌های IR و CNMR و HNMR و Mass بررسی گردید.

کلمات کلیدی: لکاز، کاتالیزور زیستی، شیمی سبز، مشتقات ۴-هیدروکسی کومارین

فصل اول

مقدمه

۱-۱- آنزیم‌ها

۱-۱-۱- اهمیت آنزیم‌ها

آنزیم‌ها، ماکرومولکول‌هایی با ساختار پروتئینی هستند که برای کatalیز کردن واکنش‌های بیولوژیکی اختصاصی می‌باشند و در بین همه بیومولکول‌ها به عملکرد اختصاصی و قدرت کatalیسیکی بالا معروفند. در حضور این نوع از کatalیزورها، انرژی فعال سازی واکنش‌های زیستی به کمترین مقدار خود رسیده و در نتیجه سرعت انجام واکنش بیوشیمیایی بطور چشم‌گیری افزایش می‌یابد. باید در نظر داشت که آنزیم‌ها در انرژی آزاد واکنش تغییری ایجاد نمی‌کنند و فقط میزان انرژی فعال-سازی است که در حالت معمول و کatalیز شده متفاوت خواهد بود (شکل ۱-۱). بدون حضور آنزیم‌ها که اکثراً مولکول‌های پروتئینی هستند، (ریبوزوم‌ها که از جنس RNA هستند از این قاعده مستثنی می‌باشند) انجام واکنش‌های شیمیایی جهت ساخت مولکول‌های زیستی مورد نیاز موجود زنده (آنابولیسم) و همچنین کسب انرژی (کاتابولیسم) از مولکول‌های کوچکتر امکان‌پذیر نخواهد بود (۱،۲). به واسطه شرایط ویژه عملکرد این درشت مولکول‌ها از قبیل ملایم بودن شرایط واکنش، اختصاصی بودن جهت یک سوبسترای خاص و غیره، استفاده از آنزیم‌ها (بیوکاتالیست‌ها^۱) در سال‌های اخیر افزایش چشم‌گیری پیدا کرده است. در واقع بیوکاتالیست‌ها همان آنزیم‌های موجود در موجودات زنده هستند که قادرند در شرایط آزمایشگاهی یا برون‌تنی^۲ واکنش خاصی را کatalیز کرده و محصول مورد نظر را ایجاد نمایند.

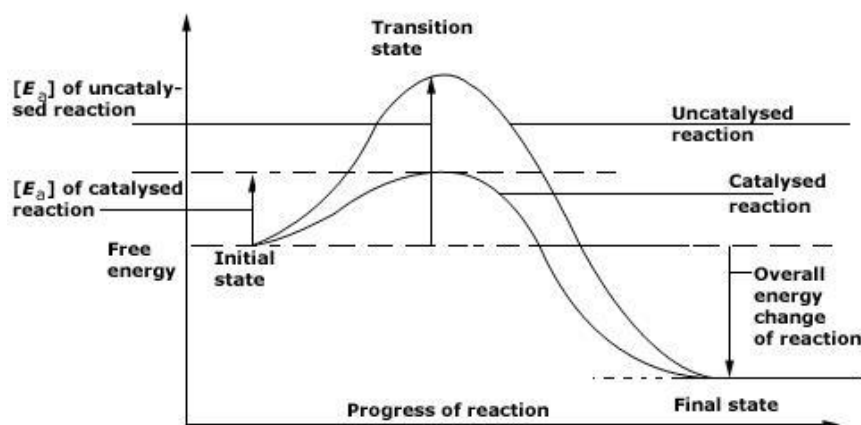
کلمه آنزیم از لغت یونانی "en" به معنای «در» "zyme" به معنای «مخمر» در سال ۱۸۷۸ و به منظور تاکید بر وجود عاملی در مخمر، غیر از خود مخمر که فرآیند تخمیری را انجام می‌دهد، اقتباس گردیده است. ترکیب شیمیایی آنزیم‌ها تا سال ۱۹۲۶ به درستی مشخص نشده بود تا این-که سامر^۳ آنزیم اوره‌آز را که درواکنش هیدرولیز اوره به آمونیاک و دی‌اکسیدکربن شرکت دارد به

1- Biocatalyst

2- *In vitro*

3- Summer

شکل متبلور بدست آورد و ثابت نمود که بلورهای مذکور ماهیت پروتئینی دارند (۱). از آن زمان به بعد مطالعات آنزیم‌شناسی مشخص کرد که اغلب آنزیم‌ها از جنس پروتئین هستند. سال‌ها است که شناخت آنزیم‌ها از لحاظ ساختمان، فعالیت کاتالیزوری، تولید، تخلیص، مکانیسم عمل و کاربرد آن-ها مورد بحث و بررسی بوده است، از دانش شناخت آنزیم‌ها، به دلیل اهمیت آن در مباحث علمی زیست‌شیمی، شیمی فیزیک، میکروبی‌شناسی، ژنتیک، گیاه‌شناسی، جانورشناسی، تغذیه داروشناسی، شناخت سموم، آسیب‌شناسی، فیزیولوژی پزشکی و بالاخره شیمی و مهندسی شیمی استفاده بسیاری شده است (۲).



شکل ۱-۱- آنزیم‌ها از طریق تغییر مسیر واکنش آن را از مسیری پیش‌می‌برند که به انرژی فعالسازی کمتری نیاز داشته باشد (۲،۴).

امروزه کاربرد آنزیم‌ها در زمینه‌های پزشکی و صنعتی به علت فعالیت کاتالیتیکی و انتخابگری بالای آنها، بسیار گسترده است. کاربرد آنزیم‌ها در صنعت به قرن بیستم مربوط می‌شود. غالب آنزیم‌هایی که در صنعت استفاده می‌شوند به گروه هیدرولازها تعلق دارند این آنزیم‌ها در محیط آبی مواد غذایی اصلی مانند چربی‌ها، پروتئین‌ها و قندها را تجزیه می‌کنند (۲). تشخیص بیماری‌ها نیز از طریق تعیین میزان آنزیم‌ها در مایعات بیولوژیکی بویژه در سرم و ادرار به علت افزایش فعالیت آنها در بدن در نتیجه بیماری‌های خاص، مورد توجه بوده‌اند (۳). از مهارکننده‌های آنزیمی به

منظور درمان بیماری‌ها و همچنین برای طراحی داروها استفاده شده است و در واقع مکانیسم بسیاری از داروها و درمان بیماری‌ها به صورتی است که یا مستقیماً روی آنزیم اثر می‌کنند و یا بطور غیرمستقیم آنزیم را تحت تاثیر قرار می‌دهند. برخی از تداخل‌های دارویی و عوارض جانبی داروها به نحوی ریشه در مهار آنزیم دارند. تعدادی از داروها آنزیم‌های کبدی را مهار و تعدادی آنها را القاء می‌کنند که این مهار و القاء منجر به افزایش یا کاهش سطح سرمی داروهای دیگر و بروز تداخل‌های دارویی می‌گردد (۴).

کاربرد دیگر آنزیم‌ها استفاده از آنها برای اندازه‌گیری انواع متابولیت‌ها می‌باشد، که در این روش آنزیم‌ها، سوبسترا را به محصول مورد نظر خود تبدیل کرده و سپس با استفاده از خواص سوبسترا و محصول میزان تبدیل تعیین می‌شود (۵). از آنزیم‌ها برای تعیین مقدار سوبستراهای ناپایدار که از روش‌های شیمیایی قابل تعیین نیستند، استفاده می‌شود. از آنزیم‌ها به عنوان دارو، امروزه برای درمان برخی از بیماری‌های خاص مانند سرطان، بیماری‌های اختلال ژنتیکی و از بین بردن سموم از خون استفاده می‌شود (۴). اندازه‌گیری آنزیم‌های در مایع آمینوتیک در دوران جنینی برای تشخیص بیماری تی‌ساکس که در نتیجه کاهش آنزیم هگزوآمینیلاز بوجود می‌آید، استفاده شده است، که با افزودن این آنزیم از یک نقص متابولیسمی جلوگیری می‌شود (۶).

۱-۱-۲- نام‌گذاری آنزیم‌ها

در گذشته اسامی آنزیم‌ها بر پایه تخصص و یا توان عملکردی آنها روی یک ماده مشخص انتخاب می‌شد. مثلاً آنزیم‌هایی که پلی‌پپتیدها را به قطعات کوچک‌تری از زنجیره‌های پپتیدی یا اسیدهای آمینه تجزیه می‌کنند، بطور کلی پروتئینازها نامیده می‌شدند. در حال حاضر نام‌گذاری طبق

سیستم نام‌گذاری بین‌المللی کمیسیون آنزیم^۱ (EC) که بخشی از واحد بین‌المللی بیوشیمی و بیولوژی مولکولی^۲ (IUBMB) است انجام می‌شود و بر این اساس به ۶ گروه اصلی تقسیم‌بندی می‌گردند که به ترتیب شامل اکسیدوردوکتازها^۳، ترانسفرازها^۴، هیدرولازها^۵، لیاها^۶، ایزومرازها^۷ و لیگازها^۸ می‌باشند (جدول ۱-۱) (۸،۷).

۱-۱-۳- منابع آنزیم‌ها

گیاهان و حیوانات به عنوان منابع سنتی آنزیم‌ها از ابتدا برای تهیه این ماکرومولکول‌های بیولوژیک مورد استفاده قرار گرفته اند، از جمله آنها می‌توان به آنزیم سیستئین پروتئیناز (فیسین) که از شیره انجیر و آنزیم لپاز و تریپسین که از حیوانات بدست می‌آیند، اشاره کرد. میکروارگانیسم‌ها در محیط کشت مناسب تعداد زیادی از آنزیم‌های مفید را می‌توانند تولید و ترشح کنند. از مزیت‌های میکروارگانیسم‌ها ترشح آنزیم به خارج از سلول و عدم نیاز به شکستن دیواره سلولی و جداسازی راحت‌تر آنزیم است (۹). در این میان بیوکاتالیست‌های تولیدشده توسط باکتری‌ها و قارچ‌ها به واسطه سهولت تولید و خالص‌سازی در سال‌های اخیر مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند و سهم عمده‌ای از تولیدات بسیاری از شرکت‌های فعال در امر بیوتکنولوژی را به خود اختصاص داده‌اند (۱۰،۱۱).

-
- 1- EC number
 - 2- International union of biochemistry and molecular biology
 - 3- Oxidoreductase
 - 4- Transferase
 - 5- Hydrolase
 - 6- Lyase
 - 7- Isomerase
 - 8- Ligase

جدول ۱-۱ - طبقه‌بندی آنزیم‌ها بر اساس فعالیت فیزیولوژیک (۲،۴،۵).

گروه	آنزیم	نوع واکنش
۱	اکسیدوردوکتازها	انتقال الکترون همانند دهیدروژنازها، اکسیدازها، پراکسیدازها
۲	ترانسفرازها	انتقال گروه‌های عاملی همانند کینازها و ترانس‌آمینازها
۳	هیدرولازها	واکنش هیدرولیز و انتقال گروه‌ها به مولکول آب مثل لیپازها، پروتئازها
۴	لیازها	افزودن یک گروه به یک باند دوگانه یا ایجاد باند دوگانه با برداشتن یک گروه مثل دکربوکسیلازها و آلدولازها
۵	ایزومرازها	تولید فرم‌های ایزومری از یک مولکول مثل اپی‌مرازها، راسمازها
۶	لیگازها	ایجاد پیوند کووالان بین کربن-کربن، کربن-اکسیژن، کربن-گوگرد و کربن-نیتروژن

به کمک انرژی

۱-۱-۴- جداسازی و تخلیص آنزیم‌ها

جداسازی هر آنزیم روش ویژه و خاصی را لازم دارد، اما تکنیک‌های محدودی برای این منظور معرفی شده و مورد بررسی قرار گرفته‌اند، علیرغم این محدودیت با بکارگیری تلفیقی از این تکنیک‌ها و بهره‌گیری از ویژگی هر یک، آنزیم‌های زیادی را استخراج و خالص کرده‌اند.