

ENZYMATICKÁ ANALÝZA V MRAZIARENSKOM PRIEMYSLE

IMRICH STEIN

Keď si uvedomíme, že potraviny, či už rastlinného alebo živočíšneho pôvodu, sú produktami procesov, ktorých priebeh katalyzujú enzýmy, dochádzame k poznatku, že medzi enzýmami a potravinami panuje zvláštny vzťah. Mnohé enzýmy, ktoré sú aktívne v živej tkani, na poli, v zvieracom organizme, zostávajú i po ich spracovaní, v surovinách a výrobkoch potravinárskeho priemyslu. Spôsobujú v nich zmeny, z ktorých niektoré sú pre kvalitu výrobku žiaduce, keďže ho zlepšujú, iné nežiaduce, lebo ho kazia. Medzi úlohy potravinárskej technológie patrí podporiť pôsobenie tých enzýmov, ktoré výrobky skvalitňujú a potlačiť pôsobenie tých fermentov, ktoré skracujú trvanlivosť výrobku zhoršením jeho kvality.

Jeden z priemyselných spôsobov regulácie činnosti enzýmov je zmrazovanie. Zmrazením sa má stabilizovať na obmedzený čas určitá kvalita potravín, a skladovaním pri nízkej teplote majú sa po dlhšiu dobu zachovať ich organoleptické a kulinárske vlastnosti.

Kvalita potravných článkov skladovaných pri nízkych teplotách však neostáva stabilná. Mení sa, zhoršuje sa. Mení sa reakciami, ktoré katalyzujú natívne enzýmy kontaminujúcej mikroflóry, pokiaľ neboli pred skladovaním inaktívované. Zmena kvality je zapríčinená rozličnými intermediárnymi a konečnými produktami chemických reakcií, ktorých zmes vyvoláva subjektívny pocit pachuti a objektívne zmeny organoleptické. Subjektívny posudok možno u niektorých potravín podoprieť stanovením zlúčenín, ktorých množstvo a vlastnosti sú typické pre zhoršenie kvality (vysokomolekulárne aldehydy, ketóny, nenasýtené mastné kyseliny, úbytok kyseliny askorbovej u ovocia a zeleniny, amoniak, amíny a i. u mäsa a pod.).

Množstvo látok ovplyvňujúcich kvalitu závisí vo veľkej miere od množstva aktívnych enzýmov, resp. od aktivity sústav enzýmov urýchľujúcich reakcie, ktorými tieto produkty vznikajú. Medzi množstvom aktívnych enzýmov, ktoré pôsobia v skladovaných potravinách a medzi ich kvalitou panuje veľmi úzky vzťah.

Zatiaľ poznáme asi 700 rôznych druhov enzýmov, ktorých špecifická je katalyzovať určité biochemické reakcie, ktoré by sa teda mohli zúčastniť na pochodoch ovplyvňujúcich kvalitu u mrazených potravín. Ich počet nie je zďaleka vyčerpaný. (Neustále sa objavujú ďalšie enzýmy katalyzujúce najrôznejšie zmeny).

Sledovať pôsobenie tak veľkého počtu enzýmov v mrazených výrobkoch bolo by skutočne veľmi ťažkou úlohou. Preto je účelné zamerať sa na pôsobenie tých enzýmov, ktoré signifikantne ovplyvňujú kvalitu mrazených potravín počas ich skladovania pri nízkych teplotách.

Skutočnosť, že tento veľký počet enzýmov katalyzuje v podstate len malý počet typov chemických reakcií usnadňuje výber tých enzýmov, ktoré najviac ovplyvňujú kvalitu výrobku.

Podľa typov reakcií, ktoré enzýmy katalyzujú, možno tieto biokatalyzátory zhruba rozdeliť (podľa medzinárodného triedenia) na:

1. hydrolázy, transferázy a oxydoreduktázy,
2. lyázy a syntetázy,
3. izomerázy a racemázy.

Z nich sú pre nás najvýznamnejšie hydrolázy.

Hydrolázy katalyzujú hydrolytické reakcie, pri ktorých najdôležitejšiu úlohu hrá voda, resp. molekuly vody. Ich pôsobenie pozostáva z urýchlenia (aktívovania) účinku vody a to tým, že rozkladajú molekuly substrátu a ich časť prenesú na $-OH$ skupinu vody. Preto hydrolázy sa považujú v podstate za transferázy, ktoré svojím pôsobením prenášajú rôzne molekulové skupiny ako metyl-, acetyl-, glykozy-, amino- a adenyl- skupinu. Oxydoreduktázy transferujú vodíkový atóm, resp. elektrónové dvojice.

Voda hrá význačnú úlohu pri konzervovaní. Väčšina potravín, ktorých kvalitu chceme zachovať zmrazením, obsahuje relatívne veľké množstvo vody, poťazne bunecnej šťavy. Pri znižovaní teploty bunecného obsahu dochádza postupne k vymrazeniu vody, t. j. k jej premene zo skupenstva kvapalného do skupenstva pevného za súčasného koncentrovania tekutého bunecného obsahu. Zmenou teploty prostredia, zmenší sa pohyb molekúl enzýmu a substrátu, spomalí sa priebeh enzymatických reakcií a dochádza k relatívnemu stabilizovaniu stavu panujúceho v momente zásahu nízkou teplotou.

Konzervovanie zmrazením zakladá sa v podstate na stabilizácii intracelulárnych stavov premenou kvapalnej fázy vody na skupenstvo pevné.

Medzi teplotou zmrazenia a medzi obsahom tekutej vody je úzka súvislosť. Tak vieme, že napr. pri teplote $-1,5$ až $-2^{\circ}C$ je z celkového obsahu vody 30 % v skupenstve pevnom, pri teplote $-5^{\circ}C$ je približne 70 % a pri teplote $-25^{\circ}C$ až $-30^{\circ}C$ asi 90 až 91 % vody premenených do skupenstva pevného.

Najvýznamnejšou vlastnosťou enzýmov je ich citlivosť, labilita proti vonkajším vplyvom, najmä proti pH, cudzím látkam, teplote a obzvlášť vode. Vonkajším výrazom týchto vplyvov je inhibícia t. j. spomalenie priebehu reakcií katalyzovaných enzýmami, až do prakticky úplného zastavenia priebehu.

Znižovaním teploty (zmenšením obsahu kvapalnej vody) menia sa postupne enzýmy aktívne v enzýmy inaktívne. Inhibícia je reverzibilná. Čím nižšia je teplota, tým väčšie množstvá enzýmov prechádzajú do inaktívneho stavu, tým pomalšie prebiehajú nimi katalyzované reakcie, tým dlhšie ich možno skladovať.

Znížením teploty zmrazenia sa predlžuje doba skladovateľnosti napr. hovädzieho mäsa takto: $-7^{\circ}C$ — 3 mesiace; $-12^{\circ}C$ 6 až 9 mesiacov; $-18^{\circ}C$ — 12 až 15 mesiacov a pri $-20^{\circ}C$ — na 20 mesiacov.

Zvýšením teploty, následkom zvýšenia obsahu kvapalnej vody mení sa primeraná časť inaktívnych enzýmov na enzýmy aktívne. Väčšie množstvá aktívnych enzýmov urýchľujú priebeh nimi katalyzovaných reakcií, množstvo reakč-

ných produktov ovplyvňujúcich kvalitu sa zväčší, doba skladovania produktu sa musí skrátiť, aby nedošlo k úplnému znehodnoteniu tovaru. Pri opakovanom zmrazení a rozmrazení býva aktivita enzýmov obyčajne väčšia než bola pred rozmrazením. Kvalita výrobku sa opakovaným zmrazením zhoršuje rýchlejšie, než by sa dalo predpokladať.

Kvalita mrazených výrobkov je z hľadiska rozvoja mraziarenského priemyslu, u nás i vo svete — veľmi vážny problém. Zlá kvalita veľmi ľahko vedie k strate dôvery k týmto výrobkom. V dejinách mraziarenského priemyslu, nášho i svetového, boli také epochy, ktoré silne otriasli dôverou k výrobkom tohto priemyslu. Príčinou bola neznalosť podmienok skladovania zmrazeného tovaru a chybná manipulácia s hotovými výrobkami.

Pri zvyčajne používaných teplotách zmrazenia a skladovania, t. j. pri teplotách -17°C a -18°C mení sa kvalita mrazených výrobkov. Hĺbka zmeny závisí od doby a teploty skladovania. Problém ako dlho možno skladovať mrazené výrobky a pri akej teplote, aby zmeny kvality neboli pozorovateľné konzumentom, nie je ešte doriešený.

Pri distribúcii mrazených výrobkov dochádza často k porušeniu tepelného režimu. Teplota klesne z -18°C na -12°C až -6°C a ešte vyššie, aby potom prípadne opäť vystúpila na pôvodnú teplotu. Pritom výrobky sú väčšej teplote vystavené rôzne dlhú dobu.

Takéto zmeny môžu podstatne ovplyvniť kvalitu a trvanlivosť výrobkov mraziarenského priemyslu, ktoré z fabriky vyšli v bezchybnom stave, ale nakoniec zhoršená kvalita predsa sa len pripisuje chybám výroby. Preto sa tomuto problému vo výrobnej praxi i vo výskume na celom svete venuje veľká pozornosť.

Aj náš VÚM sa medzi inými úlohami zamerail na výskum vplyvu nízkych teplôt a doby skladovania na enzymatické procesy, ktoré môžu ovplyvniť kvalitu zmrazovaných výrobkov. Zameraili sme sa na vypracovanie rýchlych analytických metód, ktoré by sme mohli používať na jednoduché a rýchle zistenie zmeny kvality mrazených výrobkov, na vypracovanie skúšobných metód, ktoré by sa mohli použiť na orientáciu, resp. na zistenie doby a teploty skladovania bez ujmy na kvalite.

Na indikáciu zmien použili sme natívne enzýmy, resp. sústavy enzýmov spracovaných surovín (mäsa, hrachu). Sledovali sme sústavu enzýmov proteolytických, glykolitických a lipolytických ako sa menia pod vplyvom nízkych teplôt z aktívnych enzýmov na enzýmy inaktívne. Súčasne sme sledovali aj mechanizmus ich pôsobenia pri nízkych teplotách.

Zistili sme, že mechanizmus pôsobenia enzýmov sa nízkym teplotami nemení. Mení sa len rýchlosť ich pôsobenia.

Nízke teploty inhibujú, spomaľujú rýchlosť pôsobenia natívnych enzýmov a ich premenu v enzýmy inaktívne. Proces premeny je reverzibilný, zníženie aktivity je úmerné zníženiu teploty resp. obsahu nevymrznutej (kvapalnej) vody.

Premena aktívnych enzýmov na enzýmy inaktívne prebieha v závislosti od teploty (alebo obsahu tekutej vody) podľa určitých pravidiel. Tieto pravidlá podarilo sa nám objaviť. Závislosť inhibície (premeny E_a na E) od teploty je lineárna a jej hodnotu možno vyjadriť rovnicou priamky.

Čím silnejšia je inhibícia aktivity natívnych enzýmov, tým dlhšia môže byť doba skladovania mrazeného výrobku, bez ujmy na jeho kvalite. Inhibícia a doba

skladovateľnosti sú analogické pojmy. Koeficient inhibície je totožný s logaritmom doby skladovania vyjadreným v dňoch alebo v mesiacoch.

Na podklade týchto poznatkov vypracovali sme analytický postup pre stanovenie doby skladovateľnosti mäsa v závislosti od teploty resp. stanovenia teploty potrebnej pre skladovanie tovaru na určitú dobu.

Z aktivity charakteristických enzýmov možno usudzovať na vznik a hromadenie sa produktov nimi katalyzovaných reakcií v mrazených produktoch počas skladovania. Ale ako ďaleko ovplyvňujú reakčné produkty enzymatickej katalýzy organoleptické vlastnosti produktov, zatiaľ nie je dostatočne prebádané. Hromadia sa síce dôkazy o tom, že napr. lipáza a lipoxydáza sa zúčastňujú na tvorbe veľmi intenzívne pôsobiacich karbonylových zlúčenín (vysokomolekulárnych aldehydov a ketónov) ovplyvňujúcich organoleptické vlastnosti, ale zatiaľ jednoznačné dôkazy o tom neboli predložené.

Súvislosť medzi aktivitou natívnych enzýmov a chuťovými aromatickými zmenami mrazených výrobkov nie je do detailu známa. Na zmenu kvality z výsledkov enzymatickej analýzy možno usudzovať len špekulatívne.

Na tomto poli možno očakávať od enzymatickej analytiky v krátkej budúcnosti zaujímavé poznatky. Preto je žiadúce enzymatickej analytike a mraziarstvu venovať zvýšenú pozornosť.