

VPLYV BLANŠIROVANIA NA AKTIVITU LIPOXYDÁZY (LIPOXYGENÁZY*) A LIPÁZY (GLYCEROL ESTER HYDROLÁZY*) ZELENÉHO HRÁŠKU

FR. KLEMPOVÁ, I. STEIN

Neblanširovaný zelený hrášok skladovaný v zmrazenom stave pri nízkej teplote rýchlejšie podlieha skaze ako hrášok blanširovaný. (1). Vznik pachuti, zmena organoleptických vlastností (2) a zmena farby hrášku (5) sú príčinou zhoršenia kvality (3, 7). Po stránke chemického zloženia je zmena kvality sprevádzaná zvýšením acidity hrachu, poťažne zvýšením čísla kyslosti, naznačujúceho vzrast titrovateľných kyselín, (5, 6, 4). Zvýšenie peroxydového čísla naznačuje vzrast obsahu peroxydov, ktoré vznikli adíciou molekulového kyslíka na nenasýtené masné kyseliny. Proces je katalyzovaný natívnym enzýmom hrachu, lipoxydázou (5). Peroxydy sú nestále medziprodukty, ktoré sa menia na karbonylové zlúčeniny s výrazne neprijemnou chuťou (9, 7, 8, 10). Chemické zmeny katalyzované neporušenou lipoxydázou a lipázou (17) sú v značnej miere spoluzodpovedné za rýchlejšie kazenie neblanširovaného hrachu (18). Blanširovaním sa aktivita spomenutých enzýmov inhibuje, katalytické pôsobenie spomalí a skladovateľnosť výrobku sa predĺži.

Vplyvu blanširovania na aktivitu lipoxydázy a lipázy venuje sa v poslednej dobe zvýšená pozornosť. Zistilo sa, že aktívna lipoxydáza ovplyvňuje nielen skladovateľnosť zmrazeného hrášku, ale aj kvalitu a stabilitu sublimačným sušením, (lyofilizáciou) konzervovaných strukovín (11) a preto sme ju sledovali.

Metódy

Blanširovanie sme uskutočnili nasledovným spôsobom:

a) Blanširovanie v laboratóriu

Hrášok sme očistili, umyli a $\frac{1}{2}$ kg sme vložili do 2 lit. vriacej vody — v ne-rezovom hrnci, prikryli a po dosiahnutí požadovanej doby blanširovania ponorili na 1 min. do 1 lit. studenej vody a rýchlo ochladili. Doby blanširovania sú uvedené v tab. 1.

* podľa IUB.

b) Prevádzkové blanširovanie

Vymlátený, očistený a na 3 veľkosti vytriedený hrášok bol dopravený vodou na odlučovač vody umiestnený nad blanšérom. Hrášok zbavený vody padal do káps automatického blanšéra, kde sa blanširoval pri 95—98 °C po dobu 3—5 min. Po uplynutí blanširovacej doby viedli sme hrášok do kaskádového chladiča, kde sa znížila jeho teplota v chladiacej vode na 25—20 °C za dobu 1—1,5 min.

Účinnosť blanširovania zisťovali sme na zmene aktivity lipoxydázy a lipázy rôznych druhov z poľa dovezeného hrášku z úrody 1963 (Kelvedon, Lincoln, Edel-perle N. Z. 57). Vzorky hrášku sme odoberali pred a po blanširovaní.

Zmenu enzymatickej aktivity zisťovali sme v extraktoch pripravených z čerstvých, blanširovaných a mrazených vzoriek hrášku. 20 g na porcelánovej miske rozotretej vzorky sme 60 min. extrahovali s 80 g vody pri 20 °C. Po odcentrifugovaní nerozpustných podielov (3000/min.) použili sme na stanovenie aktivity lipoxydázy 0,5 ml čierneho extraktu a na zistenie aktivity lipázy 3,0 ml extraktu o známom obsahu sušiny.

Aktivitu lipoxydázy sme stanovili manometrickou metódou Warburgovou podľa Süllmana (12); miesto kyseliny linolovej pot. linolénovej použili sme ľanový olej, ktorý obsahoval 82 % kyseliny linolovej a 12 % kyseliny linolénovej (č. j. = 184,85) pri 30 °C a pH 6,3, keď sme si predtým experimentálne overili, že priebeh reakcie katalyzovanej lipoxydázou sleduje chod nultej reakcie a koeficient k zo vzťahu x/t (x = aktivita enzýmu vyjadrená $\text{mm}^3 \text{O}_2$, t = doba v min.) vyjadruje priebeh s presnosťou ± 4 %. Aktivitu lipoxydázy vyjadrujeme dýchacou veličinou

$$Q\text{O}_2 = \frac{\text{mm}^3 \text{O}_2}{\text{mg enzým/hod.}}$$

kde za $\text{mm}^3 \text{O}_2$ dosadzujeme hodnotu k , miesto mg enzýmu udávame 1 mg sušiny a čas = 1 min; aktivitu lipoxydáz teda ako

$$Q\text{O}_2 = \frac{k}{1 \text{ mg} \cdot 1 \text{ min.}}$$

čiže ako rýchlosť reakcie katalyzovanej za 1 min. 1 mg sušiny.

Aktivitu lipázy (L_a) stanovili sme podľa Willstättera (13) titráciou kyselín, ktoré sa uvoľnili z olivového oleja 1 mg enzymatickej sušiny po 24 hod. inkubačnej dobe pri 20 °C (za prísady kvapky toluénu na zabránenie infekcie). Aktivitu enzýmu udávame v ml 0,1 N - KOH spotrebovaných na neutralizáciu kyselín, ktoré sa odštípli účinkom 1 mg enzymatickej sušiny.

V ý s l e d k y

Blanširovaním inhibuje sa aktivita natívnej lipoxydázy a lipázy hrachu (tab. 1, 2).

Lipáza zdá sa byť citlivejšia proti vyššej teplote ako lipoxydáza. Úplná inhibícia lipoxydázy sa nedosiahne ani 4 min. blanširovaním za podmienok, pri ktorých sa predpokladá veľmi dobrý priestup tepla v blanširovanom produkte.

Účinok blanširovania na aktivitu lipázy a lipoxydázy nie je trvalý, inhibícia je reverzibilná. V blanširovanom hrášku po 24 hod. státi pri 20 °C dochádza k reaktivácii časti inhibovanej aktivity. K zvýšeniu aktivity lipázy a lipoxydázy do-

Tab. 1. Vplyv doby blanširovania na aktivitu lipázy a lipoxydázy hrachu —
druh N. Z. 57

Blanširovanie sekundy	Aktivita	
	Q 0 ₂	L _a
	1 mg sušiny	
neblanš. čerstvé	0.096	0.068
30	0.017	0.019
60	0.012	0.017
90	0.018	0.018
120	0.014	0.012
150	0.014	0.007
180	0.019	0.009
210	0.017	0.006
240	0.017	—

Tab. 2. Vplyv prevádzkového blanširovania na aktivitu lipázy a lipoxydázy

Druh hrachu	Doba blanš. min	Aktivita	
		Q 0 ₂	L _a
		1 mg sušiny	
Kelvedon	0 3—5	0,085 0,025	0,009 0
Edelperle	0 3—5	0,113 0,031	0,029 0,007
Lincoln	0 3—5	0,095 0,030	0,035 0,006

chádza aj v čerstvom hrášku, ktorý sa ponechal 24 hod. pri teplote 20 °C voľne na vzduchu (tab. 3).

Zvyšky, t. j. blanširovaním neinhibovaná lipáza a lipoxydáza katalyzujú autolytické procesy, ktorými pravdepodobne dochádza k uvedeniu natívnych nerozpustných a málo aktívnych enzýmov do roztoku. Zvýšený obsah rozpustnej lipoxydázy a lipázy je príčinou vzrastu aktivity enzýmov.

Blain a Styles (14) sa domnievajú, že lipoxydáza je zmes enzýmov, z ktorých jeden komponent je termolabilný a druhý termostabilný. Termolabilnú zložku považujú za lipohydroperoxydázu. Tento enzým by mohol byť citlivým indikátorom inhibície aktivity natívnych enzýmov blanširovaním. (15, 16). Koch, Stern a Ferrari (19) referujú o 2 enzýmoch lipoxydázy, jeden z nich pôsobí na voľnú kyselinu linolovú, druhý pôsobí na triglyceridy.

Tabuľka 3

Druh	Doba státia pri 20 °C	Aktivita	
		QO ₂	Lj
		1 mg sušiny	
Neblanš. Lincoln	0 hod.	0,059	0,035
Blanš. Lincoln	0 hod.	0,030	0,006
Neblanš. Lincoln	24 hod.	0,159	0,0224
Blanš. Lincoln	24 hod.	0,066	0,0124
zmrazený —18 °C		0,021	0,007

Tabuľka 4

Doba prechovávania dní	Teplota prechovávania	QO ₂
0	+ 2 °C	0,0078
1	+ 2 °C	0,010
2	+ 2 °C	0,016
3	+ 2 °C	0,053
8	+ 2 °C	0,081
9	- 18 °C	0,14
Po 9 dňoch bol hrach úplne skazený		

Blanširovanie samotné nie je teda dostatočne účinným konzervačným spôsobom pre dlhšie skladovanie zeleného hrášku. Preto sa blanširovaný výrobok konzervuje zmrazením, obyčajne na -18°C . Pri zmrazení dochádza k ďalšiemu zníženiu katalytickej schopnosti oboch enzýmov, ale k úplnej inaktivácii nedochádza (tab. 3).

Zmrazený a po 6 mesiacoch skladovania pri -18°C do obchodu uvedený hrach pri prechovávaní v domacej chladničke pri teplote $+2$ — $+3^{\circ}\text{C}$ rýchle nadobudne pôvodnú enzymatickú aktivitu. Vzrast aktivity lipoxydázy sprevádza zhoršenie kvality a organoleptických vlastností hrachu (tab. 4).

Rýchle narastanie lipoxydatickej aktivity za súčasného zhoršovania kvality hrášku potvrdzuje súvislosť medzi aktivitou tohto natívneho enzýmu a dobou skladovateľnosti hrášku.

S ú h r n

Blanširovaním zníži sa aktivita lipázy a lipoxydázy zeleného hrášku. Úplná inaktivácia, najmä lipoxydázy, nedoceli sa ani dlhším blanširovaním. Po krátkom státi pri izbovej teplote sa lipáza a lipoxydáza blanširovaného hrášku reaktivuje. Zmrazením a prechovávaním pri -18°C sa katalytická schopnosť oboch enzýmov ďalej zmenší. Pri pomalom rozmrazení zmrazeného výrobku ($+2$ — $+3^{\circ}\text{C}$) je zhoršenie kvality hrášku sprevádzané stúpajúcou aktivitou lipoxydázy. Zdá sa, že medzi zhoršením kvality hrášku a aktivitou lipoxydázy je úzky vzťah.

L i t e r a t ú r a

1. Joslyn M. A., Adv. Enzymol. 9, 613 (1949)
2. Wagenknecht A. C., Lee F. A., Food Res. 21, 605 (1956)
3. Wagenknecht A. C., Lee F. A., Food Res. 22, 25 (1957)
4. Lee F. A., Wagenknecht A. C., Food Res. 16, 239 (1951)
5. Wagenknecht A. C., Lee F. A., Boyle F. P., Food Res. 17, 343 (1952)
6. Lee F. A., Food Res. 19, 515 (1954)
7. Lee F. A., Wagenknecht C. A., Henning J. C., Food Res. 20, 289, (1955)
8. Lee F. A., Food Res. 23, 85 (1958)
9. Täufel K., Zimmerman R., Nahrung 4, 1010 (1960)
10. Lea C. H., Swoboda P. A. T., Chem and Ind. 1289 (1958)
11. Henick A. J., Activities Report, 13, 200 (1961)
12. Süllmann H., Helv. Chim. Acta, 26, 1114 (1943)
13. Willstätter R., Waldschmidt-Leitz E., Memmen, F., Z. physiol chem. 125, 93 (1923)
14. Blain A. E., Styles C. C., Nature 1141 (1959)
15. Koch R. B., Gini B., Activities Report, 1961
16. Dillard M. G., Henick A. J., Koch R. B., J. biol. Chem. 236, 37 (1961)
17. Wagenknecht A. C., Lee F. A., Food Res. 21, 605 (1956)
18. Lee F. A., Wagenknecht C. A., Graham R., Food Res. 21, 666 (1956)
19. Koch R. B., Stern B., Ferrari C. G., Arch. Biochem. Biophys. 28, 165 (1958)

ВЛИЯНИЕ БЛАНШИРОВКИ НА АКТИВНОСТЬ ЛИПОКСИДАЗЫ (ЛИПОКСИГЕНАЗЫ) И ЛИПАЗЫ (ГЛИЦЕРОЛЕСТЕРГИДРОЛАЗЫ) ЗЕЛЕНОГО ГОРОШКА

Резюме

Бланшировкой понижается активность липазы и липоксидазы зеленого горошка. Полная инактивация, в особенности, липоксидазы не достижима даже продолжительной бланшировкой. После короткого стояния, в комнатной температуре, липаза и липоксидаза бланшированного горошка реактивируются. Заморозением и хранением при -18° , каталитическая способность обеих энзимов еще более ослабевает. При медленном размораживании замороженного продукта ($+2 - 3^{\circ}$) сопровождается ухудшение качества зеленого горошка — повышающаяся активность липоксидазы. Возникло предположение, что между ухудшением качества зеленого горошка и активностью липоксидазы существует прямое соотношение.

DER EINFLUSS VON BLANSCHIERUNG AUF DIE LIPOXYDASEAKTIVITÄT (LIPOXYGENASE) UND LIPASE (GLYZEROLESTER HYDROLASE)

Zusammenfassung

Durch kurze Blanchierzeiten wird die katalytische Wirkung der nativen Lipoxydase und Lipase der grünen Erbsen erheblich herabgesetzt. Eine vollkommene Inaktivierung insbesondere der Lipoxydase wird durch längeres Blanchieren nicht erzielt. Nach kurzem Stehen (24 h) bei Zimmertemperatur wird die Lipoxydase reaktiviert. Durch Einfrieren und Gefrierlagerung bei -18° wird die katalytische Wirkung der beiden Enzyme weiter verringert. Beim langsamen Auftauen ($+2 - +3^{\circ}$) des gefriergelagerten Produktes wird die Qualitätsverminderung durch das Anwachsen der Aktivität der Lipoxydase begleitet. Zwischen der Qualitätsänderung und Lipoxydaseaktivität scheint ein enger Zusammenhang bestehen.