

Vplyv sacharózy na enzymatickú oxidáciu kyseliny *l*-askorbovej pri teplote -18°C

Š. ŠULC, B. KRKOŠKOVÁ, J. PALLOVÁ

Vplyv cukrov na stabilitu kyseliny *l*-askorbovej študovali viacerí autori. Seidemann a Feldheim (1, 2) pri pokusoch s fruktózou, glukózou a sacharózou stanovili, že koncentrácie 1 %, 2 %, 5 % a 10 % skúmaných cukrov dostatočne nebránia oxidácii kyseliny *l*-askorbovej. So stúpajúcou koncentráciou stabilizačný účinok u fruktózy klesal, kým u glukózy a sacharózy stúpал. Ďalej študovali úchovu kyseliny *l*-askorbovej v rôznych ovocných šťavách s prídavkom sacharózy 5 %, 10 %, 40 % a 60 %. V závere svojich prác konštatovali, že s koncentráciou sacharózy stúpala jej stabilizačná schopnosť. Šulc a Hurajová (3) študovali vplyv glukózy, fruktózy, galaktózy, ramnózy a sacharózy pri nízkych a stredných koncentráciách a vplyv vysokých koncentrácií glukózy, fruktózy a sacharózy na úchovu kyseliny *l*-askorbovej. Výsledky ukázali, že pri nízkych (0,5 %, 1 % a 2 %) a stredných koncentráciách (15 %, 17,5 % a 20 %) sa najviac kyseliny *l*-askorbovej uchovalo v roztokoch ramnózy, galaktózy a glukózy. Pri vysokých cukorných koncentráciách (45 %, 63 % a 79 %) mala najlepší stabilizačný účinok glukóza a sacharóza. Jakovlik (4) uvádza, že sacharóza čiastočne zabráňuje oxidácii kyseliny *l*-askorbovej v mrazenom ovocí a zelenine. Vplyv cukru pri zmrazovaní a skladovaní pri -10°C sledovali Nordnes a Offergeerd (5) s tým výsledkom, že pridávanie cukru (150 g/kg) do jahôd malo dobrý vplyv na úchovu kyseliny *l*-askorbovej počas 9 mesačného skladovania.

Vychádzajúc z potrieb správnej výživy sme sa rozhodli študovať vplyv koncentrácií sacharózy na oxidáciu kyseliny *l*-askorbovej za prítomnosti peroxidáz s tým cieľom, aby sme určili význam koncentrácií sacharózy na úchovu kyseliny *l*-askorbovej a dali parametre pre novú technológiu, ktorá by v maximálnej miere uchovala kyselinu *l*-askorbovú počas 9 mesačného skladovania pri -18°C .

Usporiadanie pokusov

Vplyv sacharózy na oxidáciu kyseliny *l*-askorbovej za prítomnosti peroxidáz sme sledovali opäť v modelových systémoch. Systémy sme pripravili tým istým spôsobom ako sme popisali v predchádzajúcej práci (6), navyše sme k roztokom pridávali sacharózu v takom množstve, aby jej výsledná koncentrácia bola 1 %, 4 %, 15 % a 25 %. Takto pripravené vzorky sme dokonale premiešali a zmrazovali v PVC tubách. Zmrazovali sme v kúpeli pripravenom zo snehu

kyslíčnika uhličitého v etylalkohole pri teplote -50°C počas 5 minút, kedy teplota vo vzorkách poklesla na -40°C . Potom sme tuby skladovali pri -18°C počas 9 mesiacov. V pravidelných intervaloch sme odoberali vzorky na stanovenie obsahu kyseliny *l*-askorbovej.

Metodika

1. Aktivitu peroxidáz sme stanovili podľa Morrisa (7) a Šulca (8).
2. Kyselinu *l*-askorbovú sme stanovili chromatograficky (9).
3. Výpočet relatívnych rýchlostí oxidácie kyseliny *l*-askorbovej sme robili podľa laboratória v Albany v USA (11). Princíp metódy je v predpoklade, že časy potrebné na vyvolanie tej istej zmeny vo vzorkách skladovaných za rôznych podmienok sú v prevrátenom pomere k rýchlostiam reakcie za týchto podmienok. Relatívne rýchlosti oxidácie kyseliny *l*-askorbovej uvedené v tab. 1. sú teda reciprokými hodnotami času potrebného na zoxidovanie všetkej prítomnej kyseliny *l*-askorbovej pri príslušnej koncentrácii sacharózy. Čas pri výpočte sa vyjadril dňami.

Výsledky pokusov a diskusia

Sledovali sme vplyv sacharózy na rýchlosť enzymatickej oxidácie kyseliny *l*-askorbovej za prítomnosti peroxidáz. Zvolili sme 4 koncentrácie sacharózy, 2 nízke — 1 ‰, 4 ‰ a 2 stredné — 15 ‰ a 25 ‰. Pri každej koncentrácii sacharózy sme sledovali 4 aktivity peroxidáz 100 ($19 \cdot 10^{-2}$), 200 ($38 \cdot 10^{-2}$), 400 ($75 \cdot 10^{-2}$) a 800 ($150 \cdot 10^{-2}$) s výslednou koncentráciou peroxidu vodíka 1 M, 0,1 M, 0,01 M a 0,0001 M.

Výsledky našich pokusov ukázali, že stabilizačný účinok 1 ‰ a 4 ‰ sacharózy je malý, pričom v tejto oblasti koncentrácií nezávisí ani od koncentrácie sacharózy. Zaujímavým poznatkom je tiež to, že ani 15 ‰ roztok sacharózy nemá schopnosť vo významnej miere brzdiť oxidáciu kyseliny *l*-askorbovej a jej inhibičný účinok sa iba málo líši od inhibičného účinku 1 ‰ a 4 ‰ sacharózy.

Významný stabilizačný účinok na kyselinu *l*-askorbovú sme zistili u 25 ‰ sacharózy, čo sa ukázalo pri všetkých variantoch pokusov. Napr. pri aktivite peroxidáz 100 sa uchovalo o 41,5 ‰, pri 200 o 32,8 ‰, pri 400 o 28,8 ‰ a pri 800 o 28,6 ‰ viac kyseliny *l*-askorbovej ako v 1 ‰ roztoku sacharózy pri uvedených aktivitách peroxidáz.

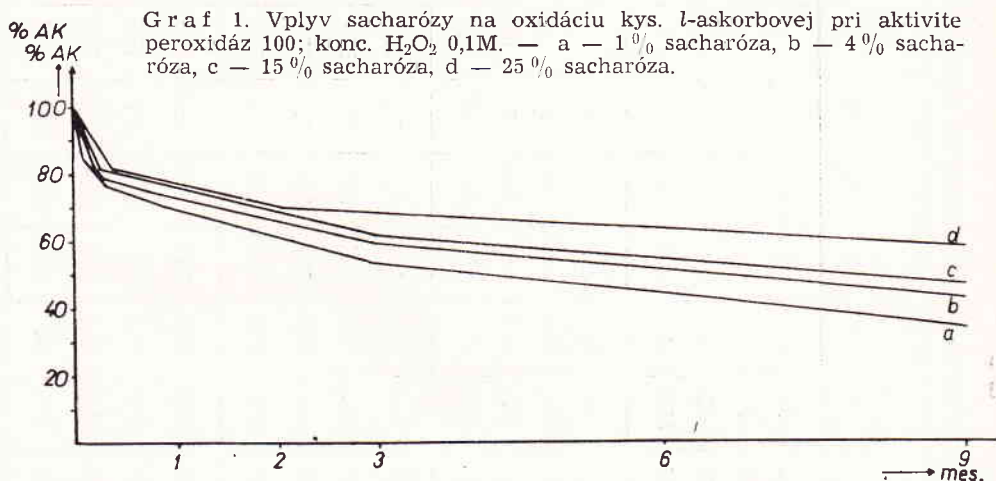
Významný vplyv 25 ‰ sacharózy sa zistil aj výpočtom relatívnych rýchlostí oxidácie kyseliny *l*-askorbovej, napr. pri aktivite peroxidáz 100 je rýchlosť oxidácie približne radove 100 krát väčšia a pri aktivite peroxidáz 200—400 20-krát väčšia v 1 ‰ roztoku sacharózy ako v jej 25 ‰ koncentrácii.

Výsledky relatívnych rýchlostí oxidácie kyseliny *l*-askorbovej sú uvedené v tab. 1.

Klodt a Stieb (10) Šulc a Hurajová (6) zistili, že sacharóza podstatnejšie ovplyvňuje rýchlosť oxidácie kyseliny *l*-askorbovej až pri jej 20 ‰ a vyššej koncentrácii. Uvedení autori toto stanovili pri sledovaní vplyvu koncentrácií sacharózy na oxidáciu kyseliny *l*-askorbovej vzdušným kyslíkom pri izbovej teplote $18-20^{\circ}\text{C}$. Pri porovnaní našich výsledkov s výsledkami uvedených autorov vidíme, že to isté platí aj pre enzymatickú oxidáciu kyseliny *l*-askorbovej za prítomnosti peroxidáz pri skladovacej teplote -18°C .

Tabuľka 1

Aktivita peroxidáz	Konc. H_2O_2 M/lit.	Koncentrácia sacharózy ‰			
		1	4	15	25
100 ($19 \cdot 10^{-2}$)	1	0,800	0,730	0,290	0,083
200 ($38 \cdot 10^{-2}$)	1	0,229	0,180	0,114	0,045
400 ($75 \cdot 10^{-2}$)	1	0,150	0,095	0,071	0,038
800 ($150 \cdot 10^{-2}$)	1	0,043	0,024	0,0069	—



I keď nie je možné v plnej miere aplikovať naše modelové pokusy na zmrazované a skladované ovocie a zeleninu, predsa sme dokázali význam koncentrácií sacharózy pri spracovaní ovocia a zeleniny v praxi. Podľa našich výsledkov nízke cukorné koncentrácie (1 ‰–4 ‰), ktoré sa väčšinou nachádzajú v ovoci alebo zelenine, nezaručujú úchovu kyseliny *l*-askorbovej počas 9 mesačného skladovania pri -18°C a to zvlášť pri vysokých aktivitách peroxidáz. Z toho vyplýva, že za účelom úchovy kyseliny *l*-askorbovej je potrebné k zmrazovaniu ovociu pridávať sacharózu.

Naproti tomu koncentrácia sacharózy 25 ‰ vo význačnej miere umožňuje úchovu kyseliny *l*-askorbovej i počas dlhodobého mraziarenského skladovania.

Tak v predchádzajúcej ako aj v tejto našej práci sa ukázalo, že rozhodujúcim činiteľom pri oxidácii kyseliny *l*-askorbovej je aktivita peroxidáz a koncentrácia peroxidu vodíka.

Pri vysokej aktivite peroxidáz (100) sa oxidácia kyseliny *l*-askorbovej skončí po 12 dňoch, kým pri aktivite peroxidáz 800 sa uchová až 15,4 ‰ kyseliny *l*-askorbovej počas 9 mesačného skladovania v 25 ‰ sacharóze pri 1M peroxide vodíka a teplote -18°C .

Keď sledujeme vplyv koncentrácií peroxidu vodíka, vidíme, že pri strednej aktivite peroxidáz 400 a koncentracii sacharózy 25 ‰ u peroxidu vodíka 1M,

Tabuľka 2. Vplyv sacharózy na oxidáciu kyseliny l-askorbovej pri aktivite peroxidáz 100 ($19 \cdot 10^{-2}$)

Konc. sacharózy ‰	Konc. H ₂ O ₂ Mol/lit.	Hneď	Po zmra- zení	D n i						M e s i a c e					
				1	3	6	9	12	18	1	1½	2	3	6	9
1	1	100	100	18,3	0										
4		100	100	26,1	0										
15		100	99,6	48,2	0,3	0									
25		100	100	70,8	38,3	25,8	11,0	0							
1	0,1	100	100	75,0	56,8	32,3	18,0	4,2	0						
4		100	99,6	89,1	65,0	39,2	24,5	8,4	0						
15		100	100,0	91,0	75,0	55,1	44,1	31,4	5,8	0					
25		100	99,3	98,3	83,3	72,5	65,8	59,2	45,8	25,0	0				
1	0,01	100	100	83,3	76,3	74,5	68,3	62,5	60,6	56,1	55,4	48,3	40,7	17,8	0
4		100	99,6	89,0	81,5	74,0	69,8	63,3	60,0	55,0	53,3	50,8	42,5	18,3	8,3
15		100	99,6	95,8	83,1	77,0	70,0	64,2	61,6	58,4	56,2	51,8	46,0	25,0	18,3
25		100	100	96,3	85,0	79,6	76,8	73,0	71,0	61,6	59,1	57,5	55,8	48,3	40,8
1	0,0001	100	100	84,7	80,8	80,0	78,0	78,4	76,8	75,0	69,1	67,0	60,6	56,6	50,0
4		100	100	93,0	85,0	80,2	79,1	78,5	78,0	77,5	75,0	70,8	60,8	57,5	55,0
15		100	100	98,0	92,0	90,4	87,0	84,0	79,0	75,0	74,2	70,8	66,6	60,3	54,1
25		100	100	98,3	95,8	93,0	90,0	87,4	83,2	80,8	78,0	75,6	73,3	63,3	58,3

Tabuľka 3. Vplyv sacharózy na oxidáciu kyseliny l-askorbovej pri aktivite peroxidáz 200 ($38 \cdot 10^{-2}$)

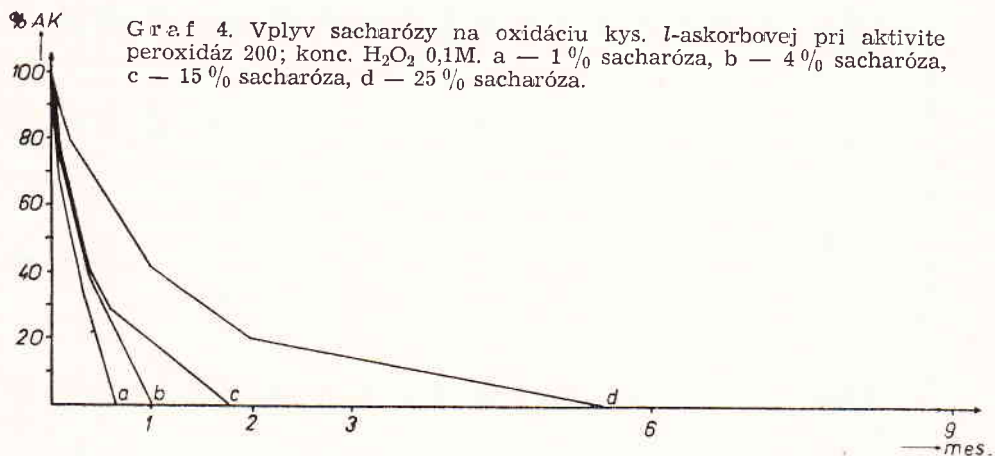
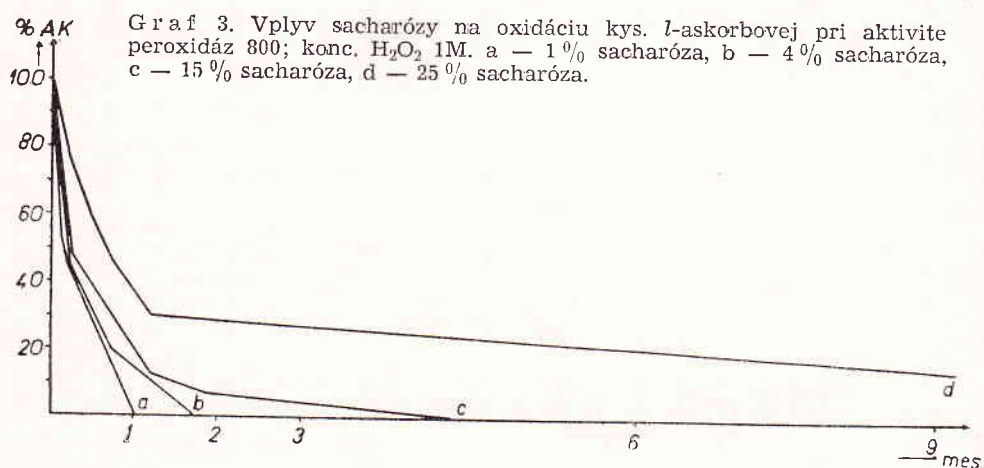
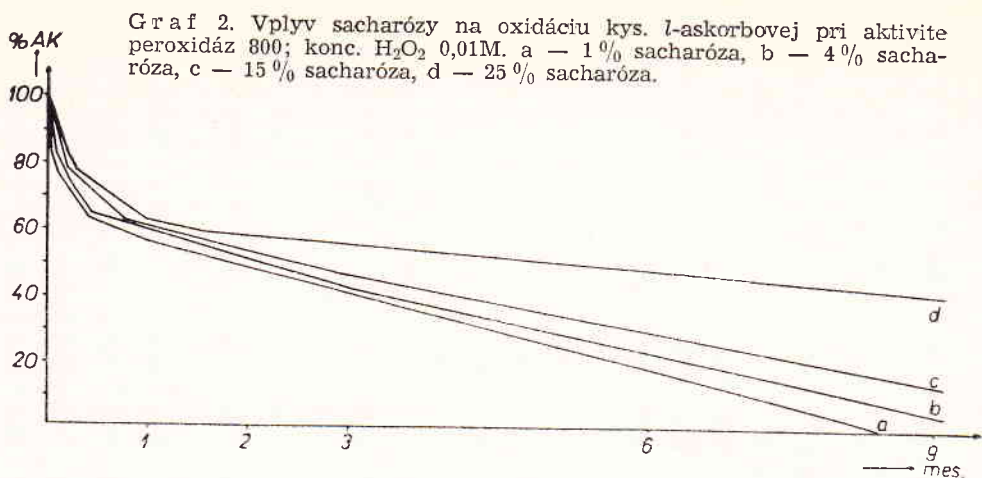
Konc. sacharózy %	Konc. H ₂ O ₂ Mol/lit.	Hneď	Po zmra- zení	D n i						M e s i a c e					
				1	3	6	9	12	18	1	1½	2	3	6	9
1	1	100	96,4	60,0	28,0	0									
4		100	100	70,0	40,0	0									
15		100	100	79,4	53,8	11,3	0								
25		100	100	80,5	65,0	37,0	24,7	18,3	8,3	0					
1	0,1	100	100	89,6	68,3	53,0	38,3	30,8	7,5	0					
4		100	99,5	91,6	74,0	62,5	55,0	40,3	30,3	2,5	0				
15		100	99,8	93,3	75,0	58,0	50,0	45,0	29,2	19,5	7,5	0			
25		100	100	96,6	90,0	80,0	75,0	71,0	64,2	42,5	31,3	20,8	15,0	0	
1	0,01	100	99,0	92,0	84,1	82,5	80,8	78,0	77,8	73,3	68,4	59,1	51,6	35,8	22,5
4		100	99,9	95,3	90,5	84,0	82,8	70,7	69,6	66,6	66,6	65,7	53,7	37,6	22,2
15		100	98,3	95,2	91,5	88,0	84,0	81,0	79,9	76,4	73,6	68,4	66,4	52,1	33,6
25		100	100	96,6	96,5	92,1	88,3	85,0	78,3	76,6	70,0	69,6	67,5	54,1	41,6
1	0,0001	100	99,4	93,0	90,0	86,5	83,7	82,5	79,0	76,1	73,0	70,6	62,3	60,8	55,0
4		100	99,8	94,6	91,0	87,0	83,6	81,0	78,8	76,5	73,3	71,6	66,6	61,8	55,8
15		100	99,0	98,0	96,0	93,7	91,0	88,9	87,2	86,5	85,0	81,3	70,3	69,5	59,4
25		100	100	100	97,8	95,8	91,8	87,5	86,6	85,5	80,8	80,8	76,0	70,0	62,3

Tabuľka 4. Vplyv sacharózy na oxidáciu kyseliny l-askorbovej pri aktivite peroxidáz 400 ($75 \cdot 10^{-2}$)

Konc. sacharózy %	Konc. H ₂ O ₂ Mol/lit.	Hneď	Po zmra- zení	D n i						M e s i a c e					
				1	3	6	9	12	18	1	1½	2	3	6	9
1	1	100	100	75,0	50,0	7,5	0								
4		100	100	76,6	56,2	18,8	8,3	0							
15		100	99,4	77,7	63,1	37,2	11,6	5,2	0						
25		100	98,9	82,7	67,5	46,9	35,0	29,0	16,0	0					
1	0,1	100	100	75,0	71,5	65,0	62,0	60,0	56,1	49,0	41,0	32,0	12,8	0	
4		100	99,0	78,3	72,5	65,0	62,0	59,2	54,3	44,3	33,6	23,3	5,0	0	
15		100	99,3	86,0	81,5	75,0	68,3	61,6	56,3	46,6	32,5	23,3	10,0	0	
25		100	100	95,0	90,5	83,4	77,5	71,8	68,1	59,4	45,8	41,6	36,6	25,8	22,5
1	0,01	100	100	80,4	75,0	71,2	65,6	63,5	60,0	57,5	55,3	52,5	48,3	35,5	25,0
4		100	100	85,0	81,5	73,8	67,3	65,0	62,8	58,8	54,1	53,8	50,8	36,6	31,6
15		100	99,1	89,7	83,0	78,5	73,0	68,2	65,3	59,3	57,2	55,8	52,7	41,4	35,4
25		100	100	96,0	93,5	89,0	81,3	78,0	73,2	71,0	70,8	68,0	62,0	55,8	50,6
1	0,0001	100	100	90,3	87,8	79,0	75,0	74,3	72,0	70,5	69,5	66,5	65,2	60,8	52,2
4		100	99,7	92,9	88,5	82,0	75,1	68,4	67,0	66,1	65,9	65,4	62,9	60,5	57,9
15		100	100	93,0	87,0	85,2	84,1	83,0	80,5	78,4	77,2	75,4	73,2	71,8	67,2
25		100	100	100	96,3	93,8	90,0	86,3	83,0	78,3	73,3	78,3	75,8	73,3	67,5

Tabuľka 5. Vplyv sacharózy na oxidáciu kyseliny l-askorbovej pri aktivite peroxidáz 800 ($150 \cdot 10^{-2}$)

Konc. sacharózy ‰	Konc. H ₂ O ₂ Mol/lit.	Hneď	Po zmra- zení	D n i						M e s i a c e					
				1	3	6	9	12	18	1	1½	2	3	6	9
1	1	100	100	77,1	55,0	43,2	38,4	20,8	15,0	0					
4		100	99,2	78,8	58,0	44,8	38,7	25,5	19,7	11,0	0				
15		100	99,6	81,6	65,0	48,3	31,4	16,6	14,6	11,6	7,5	6,0	5,5	0	
25		100	100	95,4	86,3	75,4	67,0	60,6	47,2	30,0	29,0	28,0	26,0	21,4	15,4
1	0,1	100	100	86,3	84,5	76,0	72,6	72,5	68,3	55,0	39,6	36,3	35,8	19,4	10,0
4		100	99,8	88,0	85,5	79,5	77,0	74,0	70,0	67,0	58,0	53,0	44,0	26,0	15,0
15		100	100	90,3	86,0	78,0	75,5	74,5	64,0	49,0	40,2	36,3	33,7	27,4	17,6
25		100	100	96,4	93,5	89,0	85,0	80,9	77,2	74,5	66,3	56,4	50,6	41,7	40,0
1	0,01	100	100	85,0	87,5	80,0	77,5	76,3	74,1	70,0	66,3	64,2	53,3	45,5	32,5
4		100	99,5	89,7	86,0	83,0	79,3	78,4	75,8	73,0	70,1	62,2	59,5	50,8	41,4
15		100	99,0	90,0	87,0	87,3	80,8	79,0	78,0	76,6	70,2	63,1	62,5	53,3	46,6
25		100	100	97,0	95,4	90,8	86,6	82,5	80,0	77,6	73,0	70,5	64,3	62,5	58,3
1	0,0001	100	100	93,0	86,5	94,0	81,6	80,3	76,3	74,0	68,3	66,6	62,5	58,5	52,5
4		100	100	95,8	90,0	86,0	81,6	80,1	79,6	77,5	75,0	75,0	62,5	60,5	58,3
15		100	100	97,5	93,8	86,8	82,3	80,5	77,0	75,0	74,2	74,0	70,0	68,1	61,6
25		100	100	98,0	95,6	91,6	90,0	87,5	85,6	82,6	82,1	80,5	80,3	74,1	64,8



je uchova kyseliny *l*-askorbovej nulová po jednom mesiaci, kým pri koncentrácii peroxidu vodíka 0,01 M sa za uvedených podmienok uchovalo až 71 % kyseliny *l*-askorbovej.

I tu získané výsledky ukazujú správnosť riešenia našej problematiky, v ktorej sa zaoberáme štúdiom peroxidáz v surovinách a vplyvom rôznych technológií na aktivitu peroxidáz.

Súhrn

Študovali sme vplyv sacharózy na enzymatickú oxidáciu kyseliny *l*-askorbovej za prítomnosti peroxidáz. Zvolili sme 4 koncentrácie sacharózy z rozmedzia nízkych a stredných koncentrácií (1 %, 4 %, 15 % a 25 %). 1 % a 4 % sacharóza sa vo svojom účinku takmer nelíšia. Účinok 15 % sacharózy je iba málo väčší ako 1 % a 4 % sacharózy. Naproti tomu 25 % sacharóza má podstatný vplyv na rýchlosť enzymatickej oxidácie. Účinok je tým markantnejší čím je vyššia aktivita peroxidáz vo vzorkách a tým aj rýchlosť reakcie väčšia. Demonštruje to tiež porovnanie relatívnych rýchlostí oxidácie kyseliny *l*-askorbovej pri príslušných koncentráciách sacharózy.

Literatúra

1. Seidemann J., Feldheim W., Fruchtsaft Industrie 3, 1958.
2. Seidemann J., Feldheim W., Fruchtsaft Industrie 4, 1959.
3. Šulc Š., Hurajová J., Bulletin Výskumného ústavu mraziarenskeho, I, 4, 1962.
4. Jakovlik G., Bull. Inst. Int. du Froid, 41, č. 1, 1961.
5. Nordnes T., Offergeerd E., Bull. Inst. Int. du Froid, 38, č. 3, 1958.
6. Šulc Š., Krkošková B., Pallová J., Bulletin Ústredného výskumného ústavu potravinárskeho priemyslu, IV, č. 2, 1965.
7. Morris M. J., Agricultural and Food Chemistry, 26, 1954.
8. Šulc Š., Vplyv technológie a sort na mrazený špenát. Mrazírny, n. p. Praha. Výskumný ústav mraziarenský Bratislava, 1961. Záv. zpráva.
9. Hais, Macek, Procházka, Papirová chromatografie, 1959.
10. Klodt W., Stieb B., Pathol. Pharmacol. 190, 1938.
11. Philippon M. J., Revue Pratique du Froid 18, 1965.

Влияние сахарозы на ферментативное окисление *l*-аскорбиновой кислоты при температуре —18°

Резюме

Авторы изучали влияние сахарозы на ферментативное окисление *l*-аскорбиновой кислоты в присутствии пероксидаз. Авторы избрали 4 концентрации сахарозы в пределе низких и средних концентраций (1 %, 4 %, 15 % и 25 %). Наличие 1 % и 4 % сахарозы своим действием почти не различается. Действие наличия 15 % сахарозы является только немножко большим чем наличие 1 % и 4 % сахарозы. Напротив того, наличие 25 % сахарозы имеет существенное влияние на скорость ферментативного окисления. Действие является тем отчетливее чем высшая активность пероксидаз в образцах и тем и скорость реакции является большой. Это демонстрирует и сравнение относительных скоростей окисления *l*-аскорбиновой кислоты при соответствующих концентрациях сахарозы.

Einfluss von Sacharase auf die enzymatische Oxydation der 1-Ascorbinsäure bei der Temperatur von -18°C

Zusammenfassung

Wir haben den Einfluss der Sacharase auf die enzymatische Oxydation der l-Ascorbinsäure in Anwesenheit von Peroxydasen studiert. Wir haben 4 Konzentrationen der Sacharase aus dem Bereich der niedrigen und mittleren Konzentrationen (1,0%, 4,0%, 15,0%, 25,0%) gewählt. Die 1,0% und 4,0% Sacharase unterscheiden sich in ihrer Wirkung fast gar nicht von einander. Die Wirkung der 15,0% Sacharase ist nur ein wenig grösser als die der 1,0%- und 4,0% Sacharase. Im Gegenteil dazu hat die 25,0% Sacharase einen wesentlichen Einfluss auf die Geschwindigkeit der enzymatischen Oxydation. Die Wirkung ist desto markanter je höher die Peroxydasenaktivität in den Mustern und somit auch die Geschwindigkeit der Reaktion grösser ist. Es wird auch der Vergleich von relativer Geschwindigkeiten der Oxydation der l-Ascorbinsäure bei den entsprechenden Konzentrationen der Sacharase demonstriert.