

Polifenoloxidáz-inhibitorok hatása az alma enzimes barnulására

GAJZÁGÓ ILDIKÓ, VÁMOSNÉ VIGYÁZÓ LILLY, SÜMEGHY NÉ
KEREZSI NATASA

Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet, Budapest

Érkezett: 1981. március 5.

A gyümölcsök és zöldségek mechanikai sérülés utáni barnulási reakciója régóta ismert. Ez a jelenség a termék megjelenési formáját, aromáját és biológiai értékét egyaránt károsan befolyásolja.

A reakció során a szövetekben levő polifenolokat a polifenoloxidáz-enzim kinonokká alakítja, amelyek fehérjékkel, aminosavakkal reagálva, vagy polimerizálódva nagy molekulájú, sötét színű oldhatatlan termékeket alkotnak.

A barnulási reakció többféle elv alapján gátolható: a) a polifenoloxidáz-enzim inhibitoraival, b) az enzim szubsztrátumainak (a molekuláris oxigén vagy a polifenolok) eltávolításával, ill. lekötésével, c) az enzimreakcióban keletkezett kinonok további reakcióinak gátlásával (7, 12, 15). A gyakorlatban alkalmazott inhibitorok nagy része egyidejűleg hat a fenti módokon.

Az élelmiszerek enzimes barnulásának gátlására szolgáló inhibitorokkal szemben támasztott különleges követelmény, hogy ne legyenek az egészségre ártalmasak és ne hassanak károsan a termék ízére, aromájára, texturájára stb.

A gyakorlatban alkalmazott és a fenti követelményeket kielégítő hatékony barnulásgátlók sokszor vegyszerkeverékek, amelyek hatásmechanizmusa nem ismert.

Cikkünkben különböző fajtájú almák enzimes barnulásának gátlására végzett összehasonlító modell-kísérleteink eredményeit ismertetjük, amelyeket az élelmiszeriparban jelenleg is alkalmazott és potenciálisan alkalmazható inhibitorokkal nyertünk.

Anyagok és módszerek

Vizsgálatainkhoz a *Golden delicious* almát a Kertészeti Egyetem Szigetcsépi Tangazdaságából, a *Starking* almát pedig a Kertészeti Egyetem Újfehértói Kutató Állomásáról szereztük be és a felhasználásig +5 °C-on tároltuk.

Az enzimes barnulás gátlására az alma-szeleteket 0,1, 0,2 és 0,3 M citromsav-oldatba, illetve 0,05 és 0,1 M aszkorbinsav-oldatba mártottuk. Az inhibitoroként újabban ajánlott fahéjsav (16, 17) 0,5 és 1,0 mM oldatát alkalmaztuk. Ezenkívül a *Ponting* (8) által ajánlott inhibitor-keverék hatását vizsgáltuk. Ez 1%-os aszkorbinsav és 0,1%-os CaCl₂-oldat (1:1) arányú keveréke, melynek pH-ját NaHCO₃-tal 8 körüli értékre állítjuk.

Az alma-szeleteket vágás után 1, 3, ill. 5 percre az inhibitor-oldatba mártottuk, majd a felületet szűrőpapírral leitattuk. Ezután az alma-szeleteket fekete küvetta-

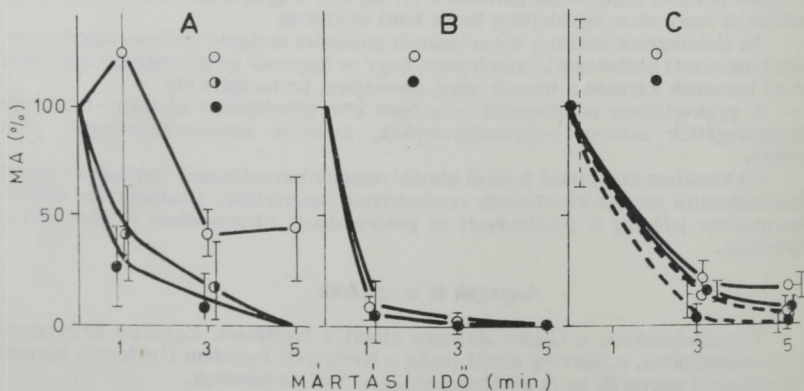
tartóba helyezve, a Spekol 32-G 315 ZEISS, Jena típusú spektrokoloriméter remissziós feltéjtjére erősítettük. A barnulás sebességét és így az alkalmazott inhibitor hatását remissziómérés alapján határoztuk meg. Az általunk kialakított mérőmódszerről előző közleményeinkben (4, 5) már részletesen beszámoltunk. Az alma-szeletek enzimes barnulásának kezdeti sebességét 540 nm-en 20-szoros műszer-erősítéssel mértük és a továbbiakban barnulási aktivitásnak nevezzük. A barnulási aktivitást a remisszióváltozás kezdeti, lineáris szakaszából számítottuk, egysége 1 skálasztás min^{-1} . Összehasonlítás céljából inhibitorral nem kezelt alma-szelet barnulási sebességét is meghatároztuk. A remisszió időbeli változását 4–7 párhuzamosban mértük.

Eredmények

A Starking alma-szeleteket 1, 3, ill. 5 percig 0,1, 0,2, ill. 0,3 M (1,9, 3,8 és 5,8%-os) citromsav oldatba mártva, barnulási sebességük az 1 A ábrán közölt adatoknak megfelelően változott. (1. ábra)

A legkisebb citromsav-koncentráció (0,1 M) a legrövidebb mártási idő (1 min) esetében kb. 25 rel. százalékkal növelte a barnulási aktivitást a kezeletlen kontrollhoz képest, s ez a növekedés – a nagy szórások ellenére – szignifikáns. A többi kezelés mindegyike több, mint 50%-kal csökkentette a barnulás sebességét. A citromsav koncentrációjának növelése kb. azonos mértékben hatott, mint a mártási idő. 0,3 M citromsavval és 1 min mártással gyakorlatilag ugyanazt a hatást lehetett elérni, mint 0,1 M-lal 3, ill. 5 vagy 0,2 M-lal 1, ill. 3 min alatt.

A biztonságos, teljes gátlás 0,2, vagy 0,3 M citromsavval és 5 percig tartó mártással volt elérhető, bár mindkét koncentrációval 3 perces mártással is a 0-tól szignifikánsan nem eltérő barnulási sebességek adódtak.



1. ábra

Alma-szeletek enzimes barnulásának gátlása vegyszer-oldatokkal.

Mérési körülmények: remisszió mérés Spekol (Zeiss, Jena) készüléken, 540 nm, 20-szoros műszer-erősítés. A párhuzamos mérések száma: 4–7. MA = a vegyszer-oldatba mártott szelet barnulási sebessége a kezeletlen minta barnulási sebességére vonatkoztatva. A: citromsav-oldatok (az üres, a félig kitöltött és a kítőltött körök rendre 0,1, 0,2 és 0,3 M koncentrációt jelölnek). B: aszkorbinsav-oldatok. (Üres körök: 0,05 M, tele körök: 0,1 M) C: fahéjsav-oldatok. (Üres körök: 0,5 mM, tele körök: 1 mM; kihúzott vonal: Starking, szaggatott vonal: Golden delicious).

A Starking-alma szeleteit 1, 3, ill. 5 percre 0,05 M, ill. 0,1 M (0,88, ill. 1,76%) aszkorbinsav-oldatba mártva, a barnulási sebesség az *1B ábrán* feltüntetett módon csökkent.

Már a kisebbik koncentráció és a legrövidebb mártási idő esetében is jelentősen csökkent a barnulási sebesség, és nem különbözött szignifikánsan a 0,05 M-lal 5 min, ill. 0,1 M-lal 3 min mártás esetében elért teljes gátlás értékétől.

A Starking és a Golden delicious alma szeleteit 3, ill. 5 min-re 0,5, ill. 1,0 mM fahéjsav-oldatba mártva, a barnulási sebesség csökkenését az *1C ábrán* szemlél-tjük.

A Starking-alma barnulását a 0,5 mM fahéjsavba való 3 min mártás mintegy 80%-ban gátolta. Az inhibitor-koncentráció megkétszerezése vagy a mártási idő növelése azonban nem növelte jelentősen a gátló hatást. Még 7 mM fahéjsavban 5 min tartózkodás sem csökkentette a barnulást 0-ra.

Az eleve is kevésbé barnuló Golden delicious alma esetében a gátlás valamivel erősebbnek bizonyult: 0,5 mM-lal 5 min-ig, 1 mM-lal pedig 3 és 5 min-ig tartó mártással a barnulási sebesség átlagértéke a 0-tól nem szignifikánsan különböző értékre csökkent.

A pH 8,1-re beállított aszkorbinsav – CaCl_2 keverékkel, 3 min mártási idővel a Starking alma-szeletek barnulását teljes mértékben sikerült gátolni.

Következtetések

A vizsgált barnulásgátlók közül a citromsav mutatkozott a leggyengébbnek, sőt kis koncentrációban stimulálta is a reakciót. Egyelőre erre nem találunk magyarázatot, azonban azt, hogy citromsavval az almák barnulása nem volt csökkenthető, más szerzők is leírták (11).

A citromsavnál lényegesen hatásosabb inhibitornak bizonyult az aszkorbinsav, a teljes gátláshoz negyedannyi mólkoncentrációjú oldata elegendő volt, azonos mártási idővel (5 min). Az aszkorbinsav szűkebb koncentrációjának a mártási időtől való függése irodalmi adatokból egyértelműen kiténik: 5, 10, ill. 15%-os (0,28, 0,57, ill. 0,85 M) oldatába 20 sec-ig (3), 0,05%-os (0,0028 M) aszkorbinsavat tartalmazó oldatba viszont 17 h-ig (9) mártották az alma-szeleteket a megfelelő hatás elérésére. Ezek szerint a felületen lejátszódó enzimes barnulás gátlásában az inhibitor penetrációjának is szerepe van. Ez talán úgy magyarázható, hogy a mélyebben elhelyezkedő szövetekbe behatolt inhibitor tartalékként működik az o-dihidroxi-fenolokból a felületen képződött kinonok redukálására (2), vagy az enzim prosztétikus Cu^{++} -csoportjának redukálására (10) elhasznált, ill. az enzim által közvetlenül oxidált (1) aszkorbinsav pótlására.

A Ponting-féle inhibitor esetében a CaCl_2 nyilvánvalóan stimulálta az aszkorbinsav barnulásgátló hatását. Az inhibitornak a tartósítóipari gyakorlatban az az előnye is van, hogy az alma konzisztenciáját javítja, akár konzerv-, akár hűtőipari termékekről van szó (9).

A fahéjsavval mint inhibitorral tovább kívánunk foglalkozni, egyrészt azért, mert kb. 2 nagyságrenddel kisebb koncentrációban hatásos, mint az aszkorbinsav, másrészt, mert az irodalom szerint (16) – az aszkorbinsavval ellentétben – tartós gátlást biztosít, így különösen előnyös lehet pl. mélyhűtött termékek színének felengedés utáni stabilizálására. Az inhibitor hatékonysága azonban függ az alma barnulási hajlamától, amely fajtanként, évjáratonként, valamint az érettségtől függően eltérhet (6, 13, 14). A Granny Smith almából készült, kevésbé barnuló lé esetében az elszíneződés teljes gátlását 0,25 mM, a Sturmer Pippinből előállított, erősen barnuló lé esetében ugyanezt a hatást 0,5 mM fahéjsav-oldattal érték el (16).

Az ismertetett inhibitorok hatékonyságának vizsgálata után kiszámítottuk az egyes mártó-olatdathoz felhasznált vegyszerköltségeket, a legkisebb hatékony koncentrációt figyelembe véve. A viszonylagos költségek azonos térfogatra:

| | |
|------------------------------|------|
| Fahéjsav (1 mM) | 1,0 |
| PONTING-féle inhibitor-oldat | 9,5 |
| Citromsav (0,2 M) | 15,0 |
| Aszkorbinsav (0,05 M) | 16,4 |

Az aszkorbinsav és a citromsav esetében a gyógyszerkönyvi, a fahéjsav és a CaCl_2 esetében pedig az analitikai tisztaságú minőség árát vettük figyelembe.

Összeállításunkból látható, hogy a citromsav- és az aszkorbinsav-oldat ára 15, ill. 16-szorosa a fahéjsavénak. Mivel a fahéjsav a vizsgált inhibitorok közül a legolcsóbb, konzerv- és hűtőipari kipróbálása ajánlható.

I R O D A L O M

- (1) Dimpfl, D. és Somogyi, J. C.: Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg., 66, 183, 1975.
- (2) Duden, R. és Siddiqui, I. R.: Z. Lebensm.-Unters.-Forsch., 132, 1966.
- (3) Eid, K. és Holfelder, E.: Erwerbsobstbau, 15, 55 1973.
- (4) Gajzágó, I. és Vámosné Vigyázó, L.: ÉVIKE, 21, 117, 1975.
- (5) Gajzágó, I. és Vámos-Vigyázó, L.: XVth. Ann. Meet. Biochem., Miskolc, 67-68, 1975.
- (6) Gajzágó, I. Vámos-Vigyázó, L. és Nádudvari-Márkus, V.: Acta Alimentaria, 6, 95, 1977.
- (7) Mathew, A. G. és Parpia, H. A. B.: Adv. Food Res., 19, 75, 1971.
- (8) Ponting, J. D.: U. S. Pat. 3754938. 1973.
- (9) Ponting, J. D. és Jackson, R.: J. Food Sci., 37, 812, 1972.
- (10) Singh, R. és Ahlawat, T. R.: Haryana Agricultural University Journal of Research, 3, 93, 1973, Re: FSTA, 6, No. 10, M 1394, 1974.
- (11) Täufel, K. és Voigt, J.: Ernährungsforschung, 8, 406, 1963.
- (12) Vámos-Vigyázó, L.: CRC Critical Reviews (s. a.)
- (13) Vámos-Vigyázó, L., Gajzágó, I., Nádudvari-Márkus, V. és Mihályi, K.: Confructa, 21, 24, 1976.
- (14) Vámos-Vigyázó, L., Mihályi, K., Gajzágó, I. és Nádudvari-Márkus, V.: Acta Alimentaria 6, 379, 1977.
- (15) Walker, J. R. L.: Enzyme Technology Digest, 4, 89, 1975.
- (16) Walker, J. R. L.: J. Food Technol., 11, 341, 1976.
- (17) Walker, J. R. L. és Wilson, E. L.: J. Sci. Fd Agric., 26, 1825, 1975.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗНЫХ ИНГИБИТОРОВ НА ЭНЗИМАТИЧЕСКОЕ КОРЖЧЕНЕВИЕ ЯБЛОК

Гаїззго, И., В. Видязо, Л. и Ш. Керезжи, Н.

Для предотвращения изменения цвета яблок в процессе ее переработки, авторы проводили модельные эксперименты сравнения в пищевой промышленности применяемых ингибиторов с потенциально применяемыми некоторыми ингибиторами энзиматического коричневения. Ломтики сильно-коричневующих яблок сорта СТАРКИНГ и слабо-коричневующих яблок сорта ГОЛДЕН ДЕЛИЦИОУС погружали на протяжении 1, 3 и 5 минут в 0,1; 0,2; 0,3 М раствор лимонной кислоты, в 0,05 и 0,1 М раствор аскорбиновой кислоты, в 0,5 и 0,1 М раствор коричной кислоты а также и в ингибиторный раствор

ПОНТИНГА (смесь 1% аскорбиновой кислоты и 0,1% CoCl_2 в соотношении 1 : 1, pH = 7–8). Действие применяемого ингибитора определили измерением ремиссии.

Из известных ингибиторов аскорбиновая кислота оказалась лучшей лимонной кислоты.

0,1 M коричная кислота тормозила окрашивание яблок ГОЛДЕН ДЕЛИЦИОУС на 100% в случае 5 минутного погружения. Смесь аскорбиновой кислоты и CoCl_2 в случае 3 минутного погружения совсем прекратила корычневение яблок сорта СТАРКИНГ. Для повышения тормозящего действия необходимо повысить концентрацию ингибитора, а не срок макания.

EINWIRKUNG VON POLYPHENOLOXYDASE-INHIBITOREN AUF DIE ENZYMATISCHE BRÄUNUNG DES APFELS

I. Gajzágó, L. V. – Vigyázó und N. S. – Kerecsi

Vergleichende Modellversuche wurden mit einigen in der Lebensmittelindustrie angewendeten und eventuell anwendbaren Inhibitoren der enzymatischen Bräunung durchgeführt, um die nachteilige Farbänderung des Apfels während seiner Verarbeitung zu verhindern.

Schnitzel der sich rasch bräunenden Starkingäpfel und der sich langsamer bräunenden Äpfel Golden Delicious wurden 1, 3 bzw. 5 Minuten lang in 0,1, 0,2 bzw. 0,3 M Zitronensäurelösungen, in 0,05 bzw. 0,1 M Ascorbinsäurelösungen, in 0,5 bzw. 0,1 mM Zimtsäurelösungen bzw. in eine Pontingsche Inhibitorlösung (ein auf pH 7–8 eingestelltes 1:1 Gemisch von 1%iger Ascorbinsäure und 0,1%iger CaCl_2 -Lösung) 1, bzw. 5 Minuten lang eingetaucht. Die Wirkung der verwendeten Inhibitoren wurde durch Remissionmessung bestimmt.

Von den bekannten Inhibitoren war die Ascorbinsäure wesentlich besser als die Zitronensäure.

Eine 0,1 mM Zimtsäurelösung verhinderte 100%-ig nur die Verfärbung von Golden Delicious Äpfeln bei einer Eintauchzeit von 5 Minuten, während ein Gemisch von Ascorbinsäure und Calciumchlorid bei einer Eintauchzeit von 3 Minuten fähig war, die Bräunung der Starking-Äpfel gleichfalls vollkommen zu verhindern.

Die Erhöhung der Inhibitorkonzentration erwies sich im allgemeinen vorteilhafter zur Verstärkung der Inhibitorwirkung als die Verlängerung der Eintauchzeit.

EFFECT OF POLYPHENOLOXIDASE INHIBITORS ON THE ENZYMATIC BROWNING OF APPLES

I. Gajzágó, L. V. – Vigyázó and N. S. – Kerecsi

In order to prevent the unfavourable colour changes of apples during their processing, comparative model experiments were carried out with several inhibitors of enzymatic browning already applied and potentially applicable in the food industries.

Slices of the strongly browning Starking apples and of the slower browning Golden Delicious apples were immersed for 1, 3 or 5 minutes into a 0.1, 0.2 and 0.3 M solution of citric acid, into a 0.05 or 0.1 M solution of ascorbic acid, into a 0.5 or

0.1 mM solution of cinnamic acid or into a Ponting inhibitor solution (a 1:1 mixture of a 1% solution of ascorbic acid and a 0.1% solution of calcium chloride adjusted to pH 7-8). The effect of the applied inhibitor was determined by remission measurements.

Of the known inhibitors, ascorbic acid proved to be significantly better than citric acid.

The 0.1 mM solution of cinnamic acid inhibited actually only the colouration of Golden Delicious apples in 100% when immersed for 5 minutes. The mixture of ascorbic acid and calcium chloride solutions inhibited however the browning of Starking apples in 100% even on immersion for 3 minutes.

In general, the increase of the inhibitor concentration proved to be more favourable for promoting the inhibitor effect than the lengthening of the immersion period.