



Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny

CHEMIA ŻYWNOSTCI



Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa

**Centrum Bioimmobilizacji
i Innowacyjnych
Materiałów Opakowaniowych**

ul. Klemensa Janickiego 35

71-270 Szczecin



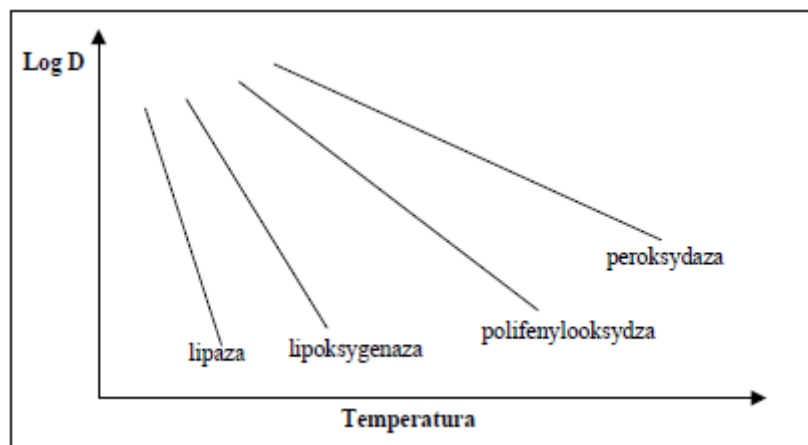
ĆWICZENIE 5.

Enzymy (II) - Peroksydaza

Reakcje enzymatyczne w żywności

Świeże owoce i warzywa zawierają bardzo wiele aktywnych enzymów które powodują często zarówno korzystne jak i niekorzystne zmiany w produkcie podczas składowania i przetwarzania. Takie zmiany często zachodzą nawet kiedy produkt jest zamrożony. Dlatego owoce i warzywa są często poddawane procesowi blanszowania przed procesem zamrażania czy pakowania w hermetycznie zamykane puszki, tak by dezaktywować takie enzymy. Blanszowanie parą lub wrzącą wodą stosuje się w celu powstrzymania brązowienia enzymatycznym owoców i warzyw. Polega to na krótkim ogrzaniu warzyw lub innych produktów w wodzie lub parze wodnej. Blanszowanie w parze wodnej trwa 1,5 razy dłużej, niż w gorącej wodzie.

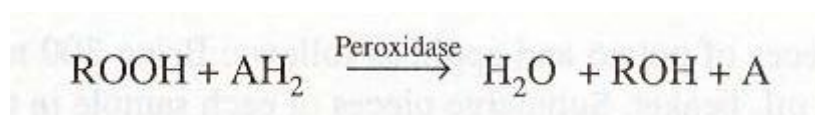
Stabilność termiczna enzymów zmienia się w dość szerokim zakresie. Dlatego, warunki blanszowania powinny być tak dobierane aby następowała dezaktywacja nawet najbardziej odpornych termicznie enzymów (rys. 1).



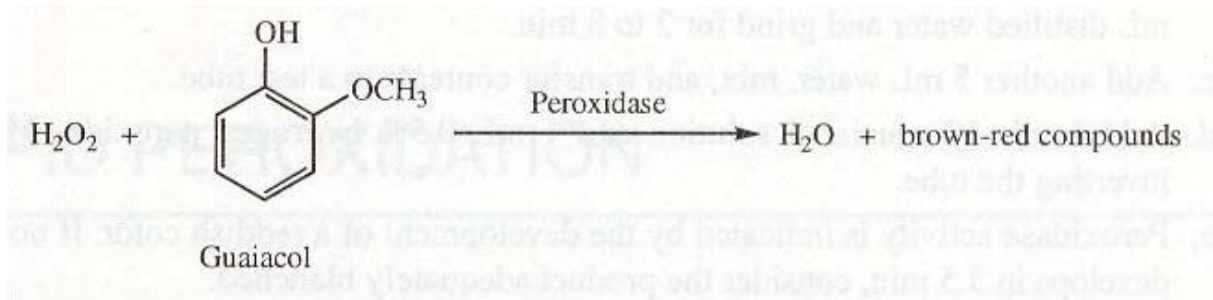
Rys. 1. Zależność stałej D termicznej dezaktywacji dla wybranych enzymów w funkcji temperatury (wartość D oznacza czas w określonej temperaturze po jakim następuje dezaktywacja 90% określonych enzymów)

Peroksydaza jest jednym z najbardziej odpornych termicznie enzymów występujących w roślinach. Dlatego też jest ona dobrym wskaźnikiem efektywności procesu blanszowania, gdzie zakłada się że ilość ciepła potrzebna do dezaktywacji tego enzymu będzie dezaktywowała wszystkie inne enzymy występującej w określonej próbce.

Peroksydazy są grupą oksydoreduktaz, to znaczy należą do grupy enzymów katalizujących reakcję utleniania/redukcji (redox). Jak sama nazwa wskazuje jednym z substratów reakcji są nadtlenki (schemat poniżej):



W powyższej reakcji AH_2 jest typowym donorem wodorowym, który jest utleniany przez nadutlenek. Wiele peroksydaz charakteryzuje się niską specyficznością tzn. katalizują różne związki o charakterze wodorodonorowym. Substraty fenolowe czy ogólnie aromatyczne są typowymi substratami. Dodatkowo, albo lipidowy hydronadutlenek lub nadutlenek wodoru mogą działać jak czynniki utleniające.



Gwajakol (2-metosyfenol, orto-metosyfenol) jest utleniany przez nadutlenek wodoru w wyniku czego powstają skomplikowane związki o charakterze kompleksów charakteryzujących się czerwonym lub brązowym kolorem. Ta reakcja jest katalizowana przez peroksydazy. W celu określenia aktywności peroksydaz występujących w różnych warzywach i owocach często stosuje się powyższą reakcję. Odpowiednią ilość roztworu gwajakolu i nadutlenku wodoru miesza się z odpowiednią niewielką ilością materiału badanego, gdzie aktywność peroksydaz uwidacznia się poprzez powstanie kolorowych czerwono-brązowych związków kompleksowych.

Ćwiczenie1.

Wpływ warunków obróbki termicznej i chemicznej na efektywność blanszowania.

Opis ćwiczenia

1. Przygotować 12 próbek, dodać do nich roztwory zgodnie z tabelą poniżej. Nie dodawać na tym etapie owoców/warzyw.

Probówka	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0,1 M HCl [cm ³]	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-
0,1 M NaOH [cm ³]	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-
0,1 M NaCl [cm ³]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
Woda [cm ³]	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Jablko/ziemniak[g]	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Czas ogrzewania [min]	0	2	4	0	2	4	0	2	4	0	2	4

2. Dziewięć probówek umieścić w stojaku w łaźni wodnej i poczekać do zagotowania roztworu.
3. Do ogrzewanych probówek dodać pocięte na małe kostki jabłka (4-5 kostek) i następnie gotować je w określonym w tabeli czasie. Jabłka należy dodać również do probówek nieogrzewanych.
4. Po zakończonym czasie ogrzewania probówki należy natychmiast schłodzić pod strumieniem bieżącej wody (lub w lodzie).
5. Zawartość każdej z 12 probówek przenieść do moździerza (oddzielnie dla każdej próby), wszystko rozgnieść za pomocą tłuczka po czym dodać 5 cm³ wody i przenieść całość z powrotem do probówki
6. **Wykonać dla każdej próbki reakcję na obecność aktywnej peroksydazy:** do każdej probówki dodać 1 cm³ roztworu o-metoksyfenolu i 1 cm³ 0,5% H₂O₂ - wymieszać przez obrócenie probówki. Po wykonaniu każdorazowej próby opisać zachodzące zmiany - pojawienie się czerwonego koloru (zanotować czas po którym nastąpiło pojawienie się barwy i określić jej intensywność).
7. **Całość ćwiczenia powtórzyć dla ziemniaka.**

Zmiana barwy próbek po dodaniu o-metoksyfenolu i H₂O₂.

Czas ogrzewania	Jabłko + woda	Ziemniak + woda
0		
2		
4		
Czas ogrzewania	Jabłko + HCl + woda	Ziemniak + HCl + woda
0		
2		
4		
Czas ogrzewania	Jabłko + NaOH + woda	Ziemniak + NaOH + woda
0		
2		
4		
Czas ogrzewania	Jabłko + NaCl + woda	Ziemniak + NaCl + woda
0		
2		
4		

+++ - czerwony intensywny
 ++ - czerwony
 + - lekko czerwony
 — brak zabarwienia