

Účinok kovov na reakcie neenzymatického hnednutia

The effect of metals on the reactions of non-enzymatic browning

M. DRDÁK, M. BALÁŽIKOVÁ

Abstract: In the work were followed the effects of Cu and Fe on the reactions of non-enzymatic browning in samples made from oranges with metals addition in admissible amounts and in half dose. For following of products production of nonenzymatic browning the determination of amount of in water soluble coloured matters (A_{420}) and the determination of 5-hydroxymethylfurfural were used. The colour changes were followed with measuring on instrument Moncolor, with calculation of trichromatic coordinates and colour differences ΔE_{AN42} . All followed criteria refer to amore expressive influence of Cu on the course of nonenzymatic browning reactions.

Reakcie neenzymatického hnednutia tvoria komplex najrôznejších reakcií, ktoré prebiehajú pri tepelnom spracovaní alebo dlhodobom skladovaní potravinárskych výrobkov a surovín. Mnohokrát sa reakcie neenzymatického hnednutia stotožňujú s reakciami Maillardovými, t. j. s reakciami medzi cukrami a aminokyselinami. V skutočnosti ide o oveľa bohatší a rozmanitý komplex reakcií.

Zložitosť reakcií neenzymatického hnednutia a ich priebeh je daný zastúpením tzv. prekursorov neenzymatického hnednutia v potravinách. Navyše nemožno očakávať, že za daných podmienok prebehne v sledovanom materiáli jeden typ reakcie. Za prekursorov týchto reakcií možno označiť najmä redukujúce cukry, aminové deriváty, prírodné farbivá, zlúčeniny ťažkých kovov (najmä s polyfenolmi), zložky arómy potravín, rozličné autooxidačné produkty tukov i chinóny.

Reakcie neenzymatického hnednutia v priebehu výroby, ako aj skladovania potravín majú vplyv na výživovú, senzorickú a hygienickú hodnotu. Z organoleptických vlastností spravidla najvýraznejší vplyv sa prejavuje na farbe potravín. Väčšina produktov hnednutia je totiž intenzívne sfarbená do hnedá, čo môže v dôsledku výrazne ovplyvniť farbu, najmä svetlosfarbených potravín.

Účinok kovov na zachovanie niektorých nutrične dôležitých zložiek potravy bol predmetom záujmu viacerých autorov. Z poznania príčin negatívneho účinku sa vyvodili patričné závery pre jednotlivé technológie. Menej údajov sa vyskytuje o účinku kovov na priebeh reakcií neenzymatického hnednutia,

Ing. M. Drdák, CSc., Katedra chémie a technológie sacharidov a potravín, Chemicko-technologická fakulta SVŠT, Jánska 1, 812 37 Bratislava.

Ing. M. Balážiková, Katedra chémie a technológie sacharidov a potravín, Chemicko-technologická fakulta SVŠT, Jánska 1, 812 37 Bratislava.

hoci v celkovom ponímaní nemožno uvažovať tieto závislosti oddelene, pretože tvoria súčasť uvedeného komplexu. V našej práci sme sa zamerali na sledovanie účinku kovov na reakčnú rýchlosť pri pH 3–3,5, keď reakcie prebiehajú prednostne cez furfural a 5-hydroxymetylfurfural alebo reduktóny [1]. Preto sa stanovenie týchto medziproduktov pokladá za dobrý indikátor priebehu neenzymatického hnednutia v kyslých potravinách. Celkový nárast vytvorených žltohnedých až hnedých produktov možno posudzovať na základe ich dobrej rozpustnosti vo vode priamo meraním absorbancie vodných extraktov.

Materiál a metódy

Príprava vzoriek

Na sledovanie účinku kovov na rýchlosť reakcií neenzymatického hnednutia sme pripravili vzorky z pomarančov. Po ich olúpaní a rozdelení na jednotlivé časti sme ich krátko povarili vo vode, pričom pomer ovocia a vody bol 2 : 1. Nasledovala homogenizácia na laboratórnom mlyne a dezintegrátore KORUMA (Maschinenbau P. Hauser, KG). Po rýchlom ochladení sme prídavkom sacharózy upravili obsah rozpustnej sušiny (refraktometrické stanovenie) na 12,5 % a vzorky fortifikovali prídavkom kyseliny askorbovej na 650 mg.l⁻¹.

V práci sme sa zamerali na sledovanie účinku dvoch ťažkých kovov, a to dvojmocenej medi a trojmocného železa. Preto sme pripravili sady vzoriek s prídavkom železa 7,5 a 15,0 mg.l⁻¹ a s prídavkom medi 2,5 a 5,0 mg.l⁻¹. Sady vzoriek s prídavkom kovov, ako aj bez prídavku kovov sme plnili do hydrolyzačných skúmaviek (17 × 270 mm) po 35 ml, pričom voľný priestor nad hladinou po uzatvorení tvoril 10–11 % celkového objemu. Nakoniec sme vzorky pasterizovali pri teplote 85 °C 15 min. Po ochladení boli vzorky skladované pri teplote 20 °C a rovnaká časť pri teplote 37 °C.

Stanovenie 5-hydroxymetylfurfuralu (HMF)

Principiálne možno HMF stanoviť plynovou chromatografiou alebo spektrofotometricky v ultrafialovej alebo viditeľnej oblasti. HMF dáva v UV oblasti charakteristickú absorpčnú krivku s maximom pri 285–290 nm [2]. Spektrofotometrické stanovenie vo viditeľnej oblasti vychádza z reaktivity HMF. Využíva sa najmä priebeh reakcie, pri ktorej HMF kondenzuje s kyselinou barbiturovou v prítomnosti aromatického amínu za súčasného rozštiepenia furánového kruhu na červené polymetínové farbivá [3, 4]. Volili sme postup pri ktorom sa ako aromatický amín používa *p*-toluidín [5–8].

Meranie farby vzoriek

Na objektívne posúdenie farebných zmien vzoriek sme použili meranie na prístroji MOMCOLOR-D (fa MOM, Budapest) s digitálnym výstupom. Prístroj je konštruovaný podľa trojrozsahovej metódy a umožňuje priamo merať trichromatické zložky v systéme CIE pre normované svetlo C.

Meranie sa realizovalo v 50-mm kyvetách na meranie odrazeného svetla pri clone 15 mm. Ako primárne štandardy sa použili na meranie hodnôt

X_1 a Y No. 78-57-80 ($X_1 = 23,92$; $X_2 = 0,54$; $Y = 26,00$; $Z = 3,85$) a pre X_2 a Z No. 78-57-10 ($X_1 = 2,95$; $X_2 = 0,73$; $Y = 7,14$; $Z = 4,78$). Výsledky sme spracovali výpočtom trichromatických súradníc a farebných diferencií ΔE_{AN42} [9].

Stanovenie vo vode rozpustných farebných látok

Na stanovenie vo vode rozpustných farebných látok sme použili metódu, ktorá poskytuje dobre reprodukovateľné výsledky [10]. K 10 g vzorky sme pridali 70 ml vody a po dokonalom premiešaní a 30-min státi filtrovali na papieri Filtrak č. 390. Výsledky uvádzame ako absorbanciu A nameranú pri vlnovej dĺžke 420 nm v 50-mm kvete oproti destilovanej vode. Na meranie absorbancie sa použil Spekol s nadstavcom EK 5.

Výsledky a diskusia

V práci sme sa zamerali na sledovanie priebehu zmien spôsobených účinkom pridaných iónov medi a železa. Vychádzali sme z porovnania účinkov pridaných kovov vzhľadom na vzorky bez prídavku železa a medi, pričom všetky vzorky boli pripravené za rovnakých experimentálnych podmienok. Ako porovnávacie kritériá sme volili objektívne fyzikálne meranie farby, stanovenie HMF a množstva vo vode rozpustných farebných látok A_{420} .

HMF za podmienok pokusu sa môže vytvárať v priebehu Maillardových reakcií ako produkt cukor-amino-kondenzačných reakcií. V mechanizme následných reakcií z vytvorených ketozamínov vytváraných Amadoriho prešmykom (prípadne po reakcii s cukrom diketozamínov) nastáva v ďalšom stupni ich rozklad cestou 1, 2-enolizácie za tvorby 3-dezoxysulózy, z ktorej cez prechodné Schiffove zásady vzniká ako konečný produkt 5-hydroxymetyl-furfural. Tento sa môže vytvárať aj z hexóz bezprostredne kyslou katalýzou za odštepenia vody [11, 12].

Obsah vytvoreného HMF počas tepelných operácií pri príprave vzoriek, ako aj počas pasterizácie (15 min, 85 °C) bol vo všetkých druhoch vzoriek minimálny (stopové množstvá — absorbanca pri vlnovej dĺžke 550 nm menšia ako 0,01). Počas skladovania pri teplote 20 a 37 °C boli vzorky odoberané v pravidelných 14-dňových intervaloch. Po 56 dňoch skladovania obsah HMF stúpol vo vzorkách skladovaných pri 20 °C na 1,1 mg . kg⁻¹. Za rovnakých podmienok a rovnaký čas sa stanovil obsah HMF vo vzorkách s prídavkom 7,5 mg Fe . l⁻¹ v množstve 1,3 mg . kg⁻¹ a s prídavkom 15,0 mg Fe . l⁻¹ 1,7 mg . kg⁻¹ (tab. 1). Vo vzorkách s prídavkom 2,5 a 5,0 mg Cu . l⁻¹ stúpol obsah HMF po 56 dňoch pri teplote 30 °C na 1,8 mg . kg⁻¹, resp. na 02,9 mg . kg⁻¹ (obr. 1).

Pri teplote skladovania 37 °C v súlade s doterajšími výsledkami bola tvorba HMF výraznejšia. Bez prídavku kovov do vzoriek stúpol v nich obsah HMF na 3,5 mg . kg⁻¹, s prídavkom železa v nižšej koncentrácii na 5,4 mg . kg⁻¹ a pri vyššej koncentrácii Fe bol stanovený obsah 7,1 mg HMF v 1 kg vzorky. Výsledky skladovania vzoriek pri teplote 37 °C sú tiež zhrnuté v tabuľke 1.

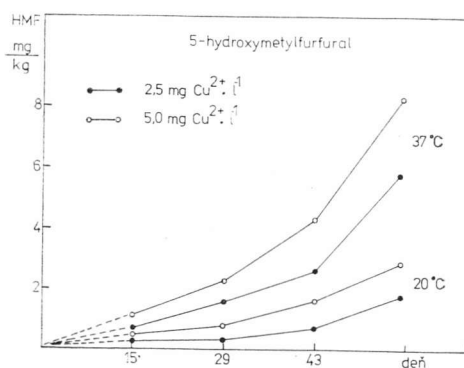
Priebeh zvyšovania obsahu HMF vo vzorkách s prídavkom dvojmocej medi počas skladovania pri teplote 37 °C je znázornený na obrázku 2. Pri vyššom

Tabuľka 1. Tvorba HMF počas skladovania vzoriek s prídavkom železa

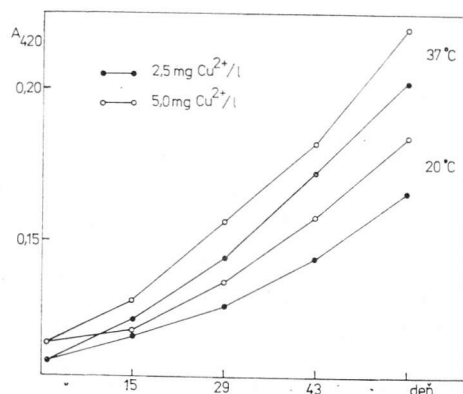
5-hydroxymetylfurfural (HMF) (mg.kg ⁻¹)							
teplota		20 °C			37 °C		
prídavok*			Fe ³⁺			Fe ³⁺	
			7,5	15,0		7,5	15,0
Skladovanie (dni)	1	+	+	+	+	+	+
	14	+	+	0,1	+	+	0,4
	28	0,1	0,1	0,3	0,6	1,3	1,7
	42	0,5	0,7	0,8	1,9	2,9	4,1
	56	1,1	1,3	1,7	3,5	5,4	7,1

* Údaje v mg . l⁻¹

+ stopové množstvá



Obr. 1. Tvorba HMF vo vzorkách s prídavkom Cu²⁺.



Obr. 2. Vzrast hodnôt A₄₂₀ vo vzorkách s prídavkom Cu²⁺.

prídavku kovu bol nárast 5-hydroxymetylfurfuralu opäť rýchlejší a po 56 dňoch skladovania stúpol na 8,3 mg . kg⁻¹. Pri hodnotení vplyvu kovov na reakcie tvorby HMF v sledovaných vzorkách sa ukázalo, že účinok medi v množstve zodpovedajúcom maximálne prípustnej hodnote vo výrobkoch daného druhu, ako aj v polovičnej dávke, prejaví sa výraznejšie ako prídavok železa či už v prípustnej alebo polovičnej dávke.

Druhý sledovaný ukazovateľ priebehu neenzymatického hnednutia — absorbancia vodných extraktov vzoriek meraná pri 420 nm — tiež potvrdil pri zvolených prídavkoch ťažkých kovov, že účinok medi je výraznejší. Výsledky stanovenia množstva vo vode rozpustných farebných látok vo vzorkách skladovaných pri teplote 20 a 37 °C bez prídavku kovov a s prídavkom železa v koncentrácii 7,5 a 15 mg . l⁻¹ uvádza tabuľka 2 a priebeh nárastu A₄₂₀ vo vzorkách s prídavkom 2,5 a 5,0 mg Cu.l⁻¹ znázorňuje obrázok 2.

Priebeh enzymatického hnednutia spravidla sprevádza znižovanie senzorickej hodnoty. Pri posudzovaní zmien vyvolaných v prevažnej miere uvedenými reakciami sme sa zamerali na sledovanie objektívne merateľného kritéria —

Tabuľka 2. Vzrast množstva vo vode rozpustných látok (A_{420}) počas skladovania

Absorbancia A_{240}							
teplota		20 °C			37 °C		
Prídavok*			Fe ³⁺			Fe ³⁺	
			7,5	15,0		7,5	15,0
Skladovanie (dni)	1	0,084	0,100	0,108	0,084	0,100	0,108
	14	0,090	0,104	0,110	0,094	0,112	0,112
	28	0,098	0,112	0,116	0,106	0,126	0,134
	42	0,108	0,116	0,130	0,124	0,146	0,158
	56	0,122	0,130	0,140	0,156	0,164	0,176

* Údaje v mg . l⁻¹

farby. Paralelne s uvedenými ukazovateľmi sa merala farba vzoriek na prístroji MOMCOLOR a výsledky sa hodnotili jednak v kolorimetrickom trojuholníku CIE x , y , jednak výpočtom farebných diferencií podľa vzťahu Adamsa — Nickersona — Stultza.

Počas skladovania vzoriek pri oboch teplotách s prídavkom kovov boli zaznamenané poklesy hodnôt X , Y , ako aj trichromatických súradníc x , y a vzrast hodnôt Z . Výraznejšie rozdiely boli namerané pri vyššej teplote a vo vzorkách s prídavkom Cu²⁺. Napriek tomu, že rozdiely neboli výrazné, výsledky sú v súlade so sledovanými zmenami vyvolanými reakciami neenzymatickým zhnednutím a so sledovanými kritériami poukazujúcimi na priebeh týchto reakcií. Naopak, vo vzorkách bez prídavku kovov pri nižšej teplote skladovania bol zaznamenaný vzrast trichromatických zložiek najmä v prvej fáze skladovania, čo poukazuje na mierne vyfarbovanie vzoriek (karotínoidy). Ďalej sa pri oboch teplotách nameral pokles trichromatických zložiek a počas celého skladovania klesali pomerné hodnoty — trichromatické súradnice, pričom výraznejší pokles bol pri vyššej teplote a pre hodnotu y .

Pri posudzovaní farebných zmien na základe výpočtu ΔE_{AN40} ako porovnanie farebnosti vzoriek po pasterizácii a na konci skladovania najvýraznejšie zmeny boli vo vzorkách s vyšším prídavkom medi a pri teplote 37 °C, čo je v súlade s chemickými kritériami. Pri prídavku 5,0 mg Cu.l⁻¹ predstavovala zmena farebnej diferencie 5,72 AN 42 jednotiek. Pre porovnanie za rovnakých podmienok pri vyššej koncentrácii železa bola hodnota diferencie 5,53 AN 42 a aj vo vzorkách pri vyššej teplote skladovania bez prídavku kovov 4,65 jednotiek AN 42.

Súhrn

V práci sa sledovali účinky medi a železa na reakcie neenzymatického hnednutia vo vzorkách vyrobených z pomarančov s prídavkom kovov v prípustných množstvách a v polovičnej dávke. Na sledovanie tvorby produktov neenzymatického hnednutia sa použilo stanovenie množstva vo vode rozpustných farebných látok (A_{420}) a stanovenie 5-hydroxymetylfurfuralu. Farebné zmeny sa sledovali meraním na prístroji MONCOLOR, výpočtom trichroma-

tických súradníc a farebných diferencií ΔE_{AN42} . Všetky sledované kritériá poukazujú na výraznejší vplyv medi na priebeh reakcií neenzymatického hnednutia.

Literatúra

1. HODGE, J. E.: J. Agric. Food Chem., *1*, 1953, s. 928.
2. SCHORMÜLLER, J. — LANGE, H. J.: Z. Lebensm.-Untersuch. -Forsch., *118*, 1962, s. 214.
3. WINKLER, O.: Z. Lebensm.-Untersuch. -Forsch., *102*, 1955, s. 161.
4. MEHLITZ, A., DREWS, H.: Flüss. Obst, *26*, 1959, s. 141.
5. DRDÁK, M. — ŠORMAN, L.: Ind. Obst.-Gemüseverwert., *64*, 1979, s. 249.
6. DRDÁK, M. — ORAVCOVÁ, V. — JURKOVIČOVÁ, M.: Veränderungen im mit nicht traditionellen Süßungsmitteln gesüßten trüben Apfelsaft während der Lagerung. Ind. Obst. Gemüseverwert., *66*, 1981, s. 31.
7. DRDÁK, M. — JURKOVIČOVÁ, M. — ORAVCOVÁ, V.: Die Lagerung sorbit-, fructose- und saccharogesüßten flüssigen Obstes. Flüss. Obst, v tlači.
8. DRDÁK, M. — ORAVCOVÁ, V. — JURKOVIČOVÁ, M.: Vplyv teploty a dĺžky zahrevu na kvalitu tekutého ovocia sladeného fruktózou a xylózou. Bull. VÚP, (v tlači).
9. DRDÁK, M. — PRÍBELA, A. — PETRÍKOVÁ, D.: Bull. VÚP, *XIX*, č. 3, 1980, č. 3, s. 57.
10. PRÍBELA, A. — DRDÁK, M. — KLEMPA, Š.: Bull. VÚP, *EIX*, č. 2, s. 1.
11. EICHNER, K.: Dtsch. Lebensm.-Rundschau, *69*, 1973, s. 4.
12. LEHMANN, G.: Fruchtsaft-Industrie, *11*, 1966, s. 242.

Дрдак, М., Балажикова, М.

Действие металлов на реакции неэнзимного коричневатания

Выводы

Исследовались действия меди и железа на реакции неэнзимного коричневатания в образцах приготовленных из апельсинов с добавкой металлов в допускаемых количествах и в половинной дозе. Для исследования образования продуктов неэнзимного коричневатания применялось определение множества в воде растворимых цветных веществ (A_{420}) и определение 5-оксиметилфурфурола. Изменения цвета исследовались измерением на приборе Momeolor, вычислением трихроматических координат и разностей цвета ΔE_{AN42} . Все исследование критерии указали более выразительное влияние меди на протекание реакции неэнзимного коричневатания.