

Využití enzymové analýzy v potravinářství

V. SÍCHO

Mohutný rozvoj biochemie v posledních 30 letech přinesl řadu zásadních objevů v oblasti přírodních věd a našeho nazírání na základní pochody probíhající v živých organismech. O významu těchto objevů svědčí i to, že značná část Nobelových cen v posledních letech byla právě udělena za vynikající díla v oboru biochemie, ať už se týkala oblasti bílkovin, nukleových kyselin, enzymologie, látkové přeměny či imunochemie.

Tento rychlý vývoj biochemie nebyl, pochopitelně, samoúčelný, a přinesl značné aplikační možnosti, nejdříve v lékařství, později v potravinářství a zemědělství, a nakonec do četných úseků chemické výroby a řady jiných technologických oborů.

To, co se z biochemie nabízelo k praktické aplikaci v jiných oborech, byla především enzymologie. Enzymy patří totiž v přírodě k nejpozoruhodnějším látkám, které příroda vytvořila. Mají schopnost již v nepatrném množství katalyzovat ty nejsložitější reakce, a to za zcela mimořádně mírných podmínek, jako např. při laboratorní teplotě, ve zředěných roztocích a pod. Tato vlastnost enzymů našla proto značné uplatnění v praxi, a to v nejrozličnějších variantách, ať preparativních neb analytických, v provozních podmínkách i laboratorních.

Dovolte mně několik slov k historii enzymologie, abych mohl dokumentovat rozvoj tohoto oboru. V roce 1837 vyslovil Berzelius předpoklad o katalytické povaze enzymů, i když vlastní název enzym pochází až od Kühneho z roku 1877. V roce 1913 vypracovali Michaelis a Mentenová první základní kinetickou teorii aktivity enzymů. Naše století je potom charakterizováno četnými objevy dalších a dalších enzymů. Podívejme se na počet známých enzymů v jednotlivých etapách vývoje enzymologie.

Jako první enzym byla objevena v r. 1833 „diatáza“, tedy amyláza. O 100 let později bylo známo v roce 1930 již 80 enzymů, v roce 1947 jich bylo 200, o deset let později v r. 1957 660 a o dalších 11 let později, t. j. v r. 1968, již 1300 enzymů. A tak není divu, že dnes se na základě stanovení aktivity enzymů určuje diagnóza nemocného, pro technologické oblasti průmyslu jsou připravovány technické preparáty enzymů, enzymy jsou používány jako významná analytická činidla a v neposlední řadě se připravují modifikované enzymy, např. vázané na umělých nosičích s nejrozmanitějšími možnostmi aplikace v praxi.

Enzymologie našla značné uplatnění v konzervářenském průmyslu. Využití enzymů v této oblasti je v podstatě možné trojím způsobem:

- a) použití enzymových preparátů v technologickém procesu,
- b) využití enzymové analýzy k posouzení fyziologického stavu potravinové suroviny či výrobku,
- c) regulace enzymových aktivit v potravinových surovinách i výrobcích během výroby i skladování.

Tak jako enormně vzrostl v posledních letech počet známých enzymů, narůstá i počet komerčních enzymových technických preparátů. Jejich využití je závislé především na vhodnosti izolačního a preparativního postupu příslušného enzymu, neboť cena enzymového preparátu je jedním z rozhodujících faktorů ovlivňujících jeho použití v technologickém procesu. Jako zdroj enzymů se stále více a více uplatňují fermentační pochody, umožňující izolaci technických enzymových preparátů mikrobiálního původu. Jsou to nejčastěji různé bakteriální nebo plísňové enzymové preparáty, které jsou obvykle levnější než technické preparáty enzymů připravované z rostlinných či živočišných surovin. Při této příležitosti se zmiňuji o technických preparátech pektolytických enzymů, používaných jako filtračních enzymů při přípravě ovocných šťav. Pomocí těchto enzymů lze též zvyšovat výtěžek vylišované šťavy. Všeobecně známé jsou též možnosti použití preparátů glukózooxidázy v kombinaci s katalázou k odstraňování zbytků kyslíku v konzervách nebo k odstraňování zbytků glukózy z vaječných žloutků k zamezení Maillardovy reakce, způsobující neenzymové hnědnutí sušeného produktu. V masném průmyslu se jeví perspektivní aplikace technických preparátů papainu, který svým proteolytickým účinkem zlepšuje senzorické vlastnosti masa. V oblasti technologického zpracování rostlinných surovin se začíná v zahraničí používat lipoxidázových preparátů, zlepšujících jakost makaronů. Zlepšením mechanických vlastností pšeničné mouky lze tímto způsobem výrazně zlepšovat i jakost chleba. Perspektivní se jeví obecné použití technických preparátů enzymů k uvolňování těkavých látek, odpovědných za aromatické vlastnosti potravinářských výrobků. Pro zpracování kapalných potravin se v budoucnu pravděpodobně uplatní i aplikace komerčních preparátů enzymů vázaných na pevných nosičích. Tyto enzymové preparáty mají podstatně vyšší stabilitu. Současně lze při průtoku kapalného substrátu sloupcem vázaného enzymu snížit množství potřebného enzymového preparátu.

Využití enzymové aktivity v konzervářství má velký význam pro posuzování jak kvality suroviny i výrobku, tak i pro hodnocení příslušné části technologického procesu, jako skladování, sterilizace apod. Rozhodujícím faktorem umožňujícím sledování aktivity enzymu je volba vhodné metody stanovení enzymové aktivity. K tomuto účelu se nejčastěji používají spektroskopické metody. Rozdělení jednotlivých izoenzymů umožnily elektromigrační metody, zejména plošná elektroforéza na polyakrylamidovém nosiči v kombinaci s denzitometrickými záznamy. Tímto způsobem lze vyjadřovat aktivitu jednotlivých izoenzymů, jakož i vzájemný poměr jejich aktivit. V tomto směru se javí perspektivní i izotachoforéza, od které se očekává především ještě dokonalejší rozdělení jednotlivých bílkovinných frakcí enzymů, resp. izoenzymů. Na principu identifikace bílkovinné komponenty enzymu, resp. na základě specifických imunologických vlastností bílkovinného nosiče enzymu jsou založeny tzv. radioimunoeseje. Jedná se o metody vysoce citlivé a speci-

fické, i když zatím poměrně nákladné a pracné. Vyžadují totiž předem izolaci čistého enzymu jako standardu, přípravu k němu specifické antilátky a označení standardního enzymu vhodným radioaktivním izotopem, např. izotopem jodu, kterým lze dobře jodovat bílkovinu standardního enzymu. Stěžejním problémem enzymové analýzy potravinové suroviny či produktu je vhodný výběr takového enzymu, jehož aktivita by byla signifikantní pro posouzení biochemického a fyziologického stavu sledovaného materiálu. Jak vyplynulo z našich předběžných experimentů, některé enzymy jsou tak labilní, že jejich aktivita vymizí už v raném stadiu postmortálních změn tkáně nebo pletiva, takže v potravinové surovině se prakticky již nevyskytují. Jsou však známy naopak také některé enzymy, které v průběhu postmortálních změn si podržují poměrně velmi dlouho svou původní aktivitu. Tyto enzymy rovněž nejsou vhodné jako indikátory na posuzování jakosti potravinové suroviny, protože jejich aktivita se mění až v době, kdy sledovaná surovina je již v autolytické fázi a je očividně rozložena. I když jsou obecně známy enzymy labilní, nebo naopak poměrně stabilní, je nutno pro každou surovinu či výrobek experimentálně ověřit výběr nejvhodnějšího enzymu tak, aby jeho změny enzymové aktivity zapadaly právě do těch fází změn potravinových surovin a výrobků, které jsou pro potravináře atraktivní, t. j. rozhodující pro biologické a senzorní vlastnosti sledovaného materiálu.

Podle výzkumných prací realizovaných v posledních letech nabývá značného významu lokalizace enzymové aktivity v tkáni, resp. v subcelulárních částicích. Některé enzymy jsou obsaženy např. v mitochondriích (zejména oxidoredukční enzymy dýchacího řetězce, enzymy cyklu kyseliny citrónové), jiné enzymy nacházíme v lyzozómech (zejména některé hydrolázy) ap. Uvolňování enzymů, případně izoenzymů z těchto morfologických útvarů buněk může být charakteristické pro určité fáze potravinářsky významných postmortálních změn a dává perspektivu dalšího využití enzymologie v potravinářství.

V závěru své přednášky prof. Šícho ukázal řadu diapozitivů z výzkumné práce prováděné na katedře biochemie a mikrobiologie VŠCHT v Praze a na konkrétních příkladech řešené problematiky dokumentoval využití enzymové analýzy v potravinářském výzkumu.

Souhrn

Krátký přehled dokumentuje rozvoj biochemie, zvláště enzymologie za posledních 150 let. Poukazuje se na tři oblasti uplatnění enzymů v konzervářském průmyslu a to v technologii, dále jako analytický ukazatel kvality a konečně jako regulace enzymové aktivity během výroby a skladování. Uvádějí se praktické příklady uplatnění enzymů. Význam lokalizace enzymové aktivity v subcelulárních částicích pro posouzení postmortálních změn, resp. pro další využití v potravinářství.

Использование энзимного анализа в пищевой промышленности

Выводы

Краткий обзор документирует развитие биохимии, особенно энзимологии, за последние 150 лет. Отмечаются три области применения энзимов в консервной промышленности.

ности а именно: в технологии, далее в форме аналитического показателя качества и наконец в качестве регулирования энзимной активности в процессе производства и хранения. Приводятся практические примеры применения энзимов. Значение локализации энзимной активности в субцеллюлярных частицах с целью обсуждения пост-мортальных изменений, или же дальнейшего использования в пищевой промышленности.

The exertion of enzyme analysis in the food industry

Summary

In the short survey the biochemistry development especially enzymology during the last 150 years is documented. It is referred to three spheres of the enzymes applying in the canning industry namely in the technology, further as analytic roadsign of the quality and at last as enzyme activity regulation during production and storage. The practical examples of enzymes applying are stated. The importance of enzyme activity localization in the subcellular elements on account of postmortal changes appreciation, respectively of further application in the food industry.