Enzimsko i neenzimsko posmeđivanje

Vincek, Margareta

Undergraduate thesis / Završni rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:102172

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO – TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Margareta Vincek

Enzimsko i neenzimsko posmeđivanje

završni rad

Osijek, 2014.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA

Nastavni predmet
Kemija hrane

Enzimsko i neenzimsko posmeđivanje

Završni rad

Mentor: izv. prof. dr. sc. Mirela Kopjar

Student:	**MARGARETA VINCEK**	MB:	3028/08
Mentor:	izv. prof. dr. sc. Mirela Kopjar		
Predano:			
Pregledano:			

Ocjena: **Potpis mentora:**

Enzimsko i neenzimsko posmeđivanje

Sažetak

Reakcije posmeđivanja su jedne od najvažnijih reakcija koje se odvijaju u hrani tijekom prerade i skladištenja, a utječu na kvalitetu prehrambenih proizvoda. Reakcije posmeđivanja uključuju reakcije enzimskog i neenzimskog posmeđivanja. Enzimsko posmeđivanje se odvija u voću, povrću i morskim plodovima te uzrokuje pozitivne ili negativne promjene. Za odvijanje reakcije potrebni su supstrat, enzim i kisik, a samim time metode koje se primjenjuju za sprječavanje enzimskog posmeđivanja usmjerene su na inhibiranje i prevenciju djelovanja enzima polifenol oksidaze, ali i uklanjanje komponenata neophodnih za odvijanje reakcije. Neenzimsko posmeđivanje predstavlja najkompleksnije reakcije u hrani zbog velikog broja različitih komponenata koje u tim reakcijama sudjeluju kroz različite mehanizme, dajući velik broj kompleksnih produkata. U neenzimske reakcije ubrajaju se Maillard-ove reakcije, karamelizacija i neenzimsko posmeđivanje uzrokovano degradacijom askorbinske kiseline. Inhibicija neenzimskog posmeđivanja u hrani važna je u slučajevima kada nastali produkti negativno utječu na boju odnosno aromu.

Ključne riječi: enzimsko posmeđivanje, neenzimsko posmeđivanje, kontrola posmeđivanja, posljedice posmeđivanja.

Enzymatic and nonenzymatic browning

Summary

Browning reactions are one of the most important reactions that occur during the processing and storage of different kinds of food, and have high impact of food product quality. Browning reactions can be enzymatic and nonenzymatic. Enzymatic browning occurs in fruit, vegetables and seafood and it can cause positive or negative changes. Substrate, enzyme and oxygen are required for this kind of reaction. Therefore the methods used to prevent enzymatic browning are focused on inhibiting and preventing the activity of the polyphenol oxidase enzyme and the removal of the components which are required for these reactions. Nonenzymatic browning are the most complex reactions in food due to the large number of different components which are involved in these reactions through a variety of mechanisms, giving a large number of complex products. The Maillard reaction, caramelization and nonenzymatic browning caused by the degradation of ascorbic acid are all nonenzymatic reactions. Inhibition of nonenzymatic browning of food is significant in cases when formed compounds negatively influence on colour and flavour of foods.

Keywords: enzymatic browning, nonenzymatic browning, browning control, the consequences of browning.

SADRŽAJ

1. UVOD 1

2. ENZIMSKO POSMEĐIVANJE 2

2.1. Svojstva polifenol oksidaze (PPO) 2

2.2. Kontrola enzimskog posmeđivanja 5

3. NEENZIMSKO POSMEĐIVANJE 8

3.1. Maillard-ove reakcije 8

3.1.1. Faze Maillard-ovih reakcija 9

3.1.2. Melanoidini 14

3.2. Karamelizacija 16

3.3. Neenzimsko posmeđivanje uzrokovano degradacijom askorbinske kiseline 17

4. INHIBICIJA NEENZIMSKOG POSMEĐIVANJA 20

5. ZAKLJUČAK 23

6. LITERATURA 24

1. UVOD

Boja hrane je značajan čimbenik za prihvatljivost prehrambenih proizvoda. Tijekom prerade i skladištenja prehrambenih proizvoda dolazi do različitih poželjnih ili nepoželjnih promjena boje. Posmeđivanje do kojeg dolazi tijekom prerade i skladištenja proizvoda može biti enzimsko i neenzimsko (Obradović, 2011.; Nedić Tiban, 2013.).

Enzimsko posmeđivanje se vrlo rijetko odvija kod tkiva koja nisu oštećena iz razloga što su fenolni supstrati i fenolaze u takvom tkivu odijeljeni. Narušavanjem stanične strukture biljnog materijala može doći do promijene boje zbog oksidaciji fenola u o-kinone koji se dalje polimeriziraju dajući smeđe pigmente ili melanine. Enzimi koji kataliziraju oksidaciju fenola poznati su kao polifenol oksidaze (Katalinić, 2006.; Nedić Tiban, 2013.).

Nasuprot reakcijama posmeđivanja koje uključuju djelovanje enzima, neenzimske reakcije ne zahtijevaju enzimsko katalitičko djelovanje. Čine proizvod više ili manje prihvatljivim za potrošača budući da je u svim slučajevima hranjiva vrijednost djelomično izmijenjena. Najčešće reakcije neenzimskog posmeđivanja su Millard-ove reakcije i karamelizacija. Na intenzitet promjene boje utječu različiti čimbenici kao što je temperatura, koncentracija reaktanata, aktivitet vode, pH vrijednost. Reakcije neenzimskog posmeđivanja ne predstavljaju uvijek negativnu pojavu. Melanoidini kao produkti Millard-ovih reakcija su spojevi određene boje i arome koji su poželjni kod nekih proizvoda (pekarski proizvodi, pečeno meso, pržena kava, čips). Spojevi nastali karamelizacijom također imaju važnu ulogu pri proizvodnji karamela, mliječnih bombona i drugih slatkiša (Jašić, 2007.).

Budući da reakcije posmeđivanja dovode do promjene kvalitete proizvoda bitno je spriječiti te reakcije kada te promjene negativno utječu na kvalitetu proizvoda.

2. ENZIMSKO POSMEĐIVANJE

Enzimsko posmeđivanje predstavlja niz reakcija koje prvenstveno dovode do propadanja voća i povrća. Za odvijanje tih reakcija potrebni su supstrat, enzim i kisik. Ove reakcije posebno su nepoželjne tijekom procesiranja, budući da mogu utjecati na boju, okus i nutritivnu vrijednost hrane, a mogu izazvati i goleme ekonomske gubitke. Rezultira negativnom pojavom promjene boje i sastava voća i povrća, kojemu je narušena osnovna struktura prilikom (Hui i sur., 2006.; Obradović, 2011.; Nedić Tiban, 2013.):

- oštećenja svježeg ploda,
- prerade sirovina (guljenje, ljuštenje, blanširanje, čišćenje, sušenje, koncentriranje, centrifugiranje, raspršivanje),
- skladištenja.

Mehaničkim oštećenjem tkiva voća ili povrća, enzim koji je smješten u citoplazmi, dolazi u kontakt sa supstratom (fenolni spojevi pretežno smješteni u vakuolama) i sa kisikom iz zraka, prilikom čega dolazi do posmeđivanja. Enzimsko posmeđivanje smatra se jednim od najrazornijih reakcija za egzotično voće i povrće, osobito tropskih vrsta (Hui i sur., 2006.; Obradović, 2011.).

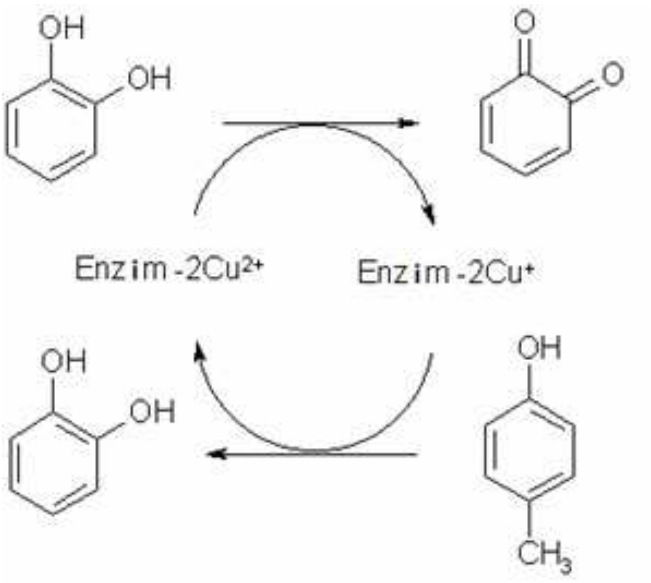
Reakcije enzimskog posmeđivanja mogu pridonijeti sveukupnoj prihvatljivosti namirnica poput čaja, kave, kakaa i sušenog voća (grožđice, suhe šljive, datulje i smokve). Produkti enzimskog posmeđivanja igraju ključnu fiziološku ulogu. Melanini, nastali kao posljedica djelovanja polifenol oksidaze, mogu imati antibakterijska, antifugalna i antioksidativna svojstva. Polifenol oksidaza koja je katalizator ove reakcije, ima važnu fiziološku ulogu u razvoju morskih životinja kao što je zacjeljivanje rana i otvrdnjavanje školjaka i oklopa (Hui i sur., 2006.; Obradović, 2011.).

2.1. Svojstva polifenol oksidaze (PPO)

Enzimsko posmeđivanje katalizirano je enzimom polifenol oksidaza (1,2-benzendiol-kisik oksidoreduktaza) koji se još naziva i fenoloksidaza, fenolaza, monofenol oksidaza, difenol oksidaza i tirozinaza. Aktivna je između pH 5 i 7, kod nižih pH vrijednosti od oko 3, enzim je ireverzibilno inaktivan (Hui i sur., 2006). Ovaj se enzim kod životinja naziva i tirozinaza jer je L-tirozin glavni monofenolni supstrat. Kod biljaka se često naziva krezolaza zbog svoje sposobnosti da kao supstrat koristi monofenol krezol. Aktivnost tirozinaze se

koristi za opisivanje aktivnosti monofenol i difenol oksidaza u biljkama, iako L-tirozinaza, obzirom na prisutnost velikog broja fenola u biljkama, vjerojatno nije glavni supstrat za enzime u biljnom materijalu (Katalinić, 2006.).

Polifenol oksidaza je enzim koji sadrži bakar (Cu) kao prostetsku skupinu (**Slika 1**). Zastupljena je u mikroorganizmima, biljkama i životinjama. Mikroorganizmi i biljke sadrže velik broj strukturno različitih monofenola, difenola i polifenola koji su supstrati polifenol oksidazi. Enzim se povezuje sa sintezom smeđih produkata. Sklonost nekog voća posmeđivanju ovisi o mnogo čimbenika kao što su fiziološko stanje, sorta, tretiranje. Aktivnost PPO je otkrivena u svim dijelovima voća (Obradović, 2011.).

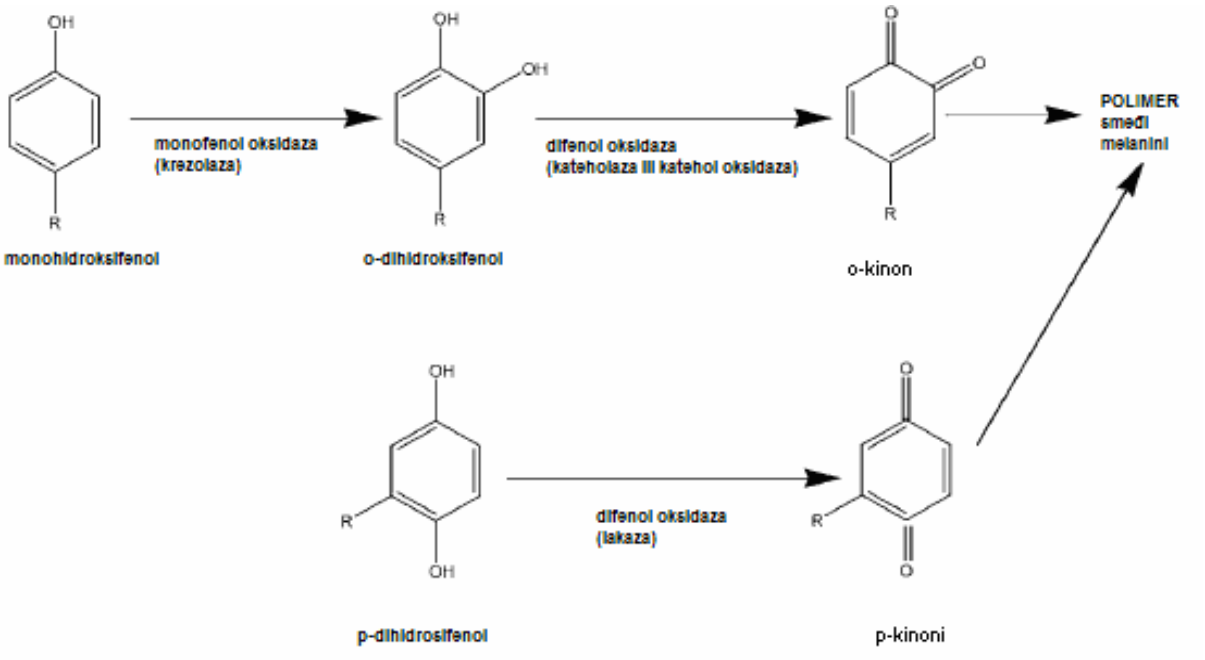


Slika 1 Promjena stanja Cu tijekom reakcije (Kopjar, 2013.)

Za provođenje enzimskog posmeđivanja, uz enzim polifenol oksidazu, kao katalizatora, potrebno je prisutstvo supstrata i kisika. Enzim katalizira oksidaciju fenolnih sastojaka u kinone koji na kraju polimeriziraju u obojene spojeve melanine. Polifenol oksidaza katalizira dvije osnovne reakcije (Hui i sur., 2006.):

- hidroksilaciju na o-poziciji fenolne tvari (monofenol oksidaza),
- oksidaciju difenola u o-benzokinin (difenol oksidaza).

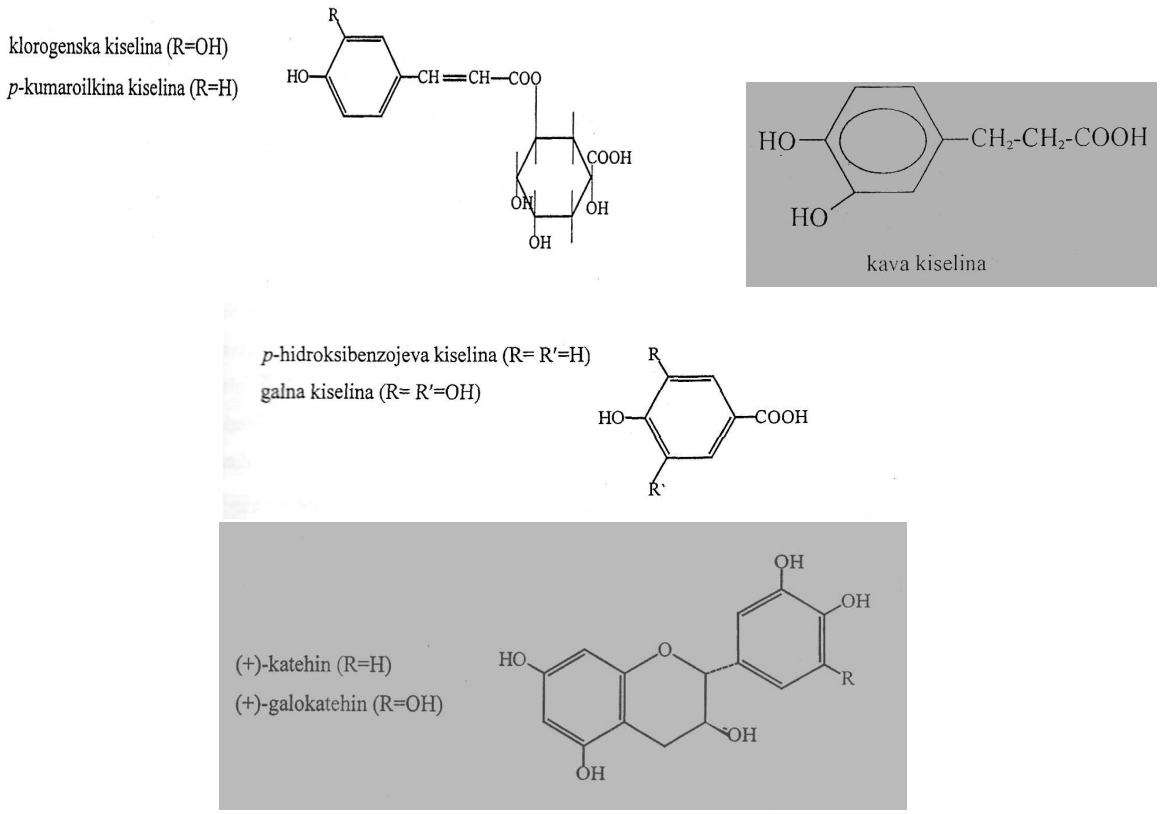
Oksidacija difenola do kinona u prisustvu kisika katalizirana je difenol oksidazom. Za difenolaznu aktivnost mogu biti odgovorna 2 enzima: kateholaza (katehol oksidaza) i lakaza (p-difenol oksidaza) (**Slika 2**). Katehol oksidaza i lakaza se razlikuju po fenolnim supstratima na koje djeluju i inhibitorskim specifičnostima (Hui i sur., 2006).



Slika 2 Put polifenol oksidaze (Hui i sur., 2006.)

Za odvijanje enzimskog posmeđivanja neophodno je prisutstvo određenog supstrata na kojeg djeluju enzimi. Supstrati u ovim reakcijama su monofenoli, odnosno difenoli sa hidroksilnim skupinama u orto položaju, odnosno u para položaju (**Slika 3**). Iako je tirozin glavni supstrat za određene fenolaze i druge fenolne tvari mogu biti supstrati. Strukturalno, oni sadrže aromatski prsten koji ima jednu ili više hidroksilnih skupina uz druge substituente (Hui i sur., 2006.; Jašić, 2007.).

Fenolni spojevi su vrlo važni za postizanje arome i boje proizvoda od voća i povrća. Zahvaljujući svojim antioksidativnim svojstvima imaju antikancerogeno djelovanje. Neki fenolni spojevi sprječavaju oboljenja srca. Ovi spojevi također mogu imati i negativan učinak, osobito kod proizvoda od voća i povrća gdje sudjeluju u tvorbi smeđih i žutih pigmenata. Boja, trpkost, gorkost i aroma su svojstva namirnica koja ovise o sadržaju fenolnih tvari (Jašić, 2007.).



Slika 3 Različiti supstrati enzimskog posmeđivanja (Nedić Tiban, 2013.)

2.2. Kontrola enzimskog posmeđivanja

Brzina reakcija enzimskog posmeđivanja ovisi o sadržaju polifenol oksidaze, sadržaju i tipu fenolnih tvari, pH, temperaturi i kisiku. Za sprječavanje tih reakcija uglavnom se primjenjuju metode koje su usmjerene na inhibiranje i prevenciju djelovanja enzima polifenol oksidaze, ali i uklanjanje komponenata koje su neophodne za odvijanje reakcija (kisika, enzima, Cu ili supstrata). Inhibicija enzimskog posmeđivanja općenito nastupa direktnom inhibicijom polifenol oksidaze, neenzimskom redukcijom o-kinona i kemijskom modifikacijom ili uklanjanjem fenolnog supstrata polifenol oksidaze (Hui i sur., 2006.).

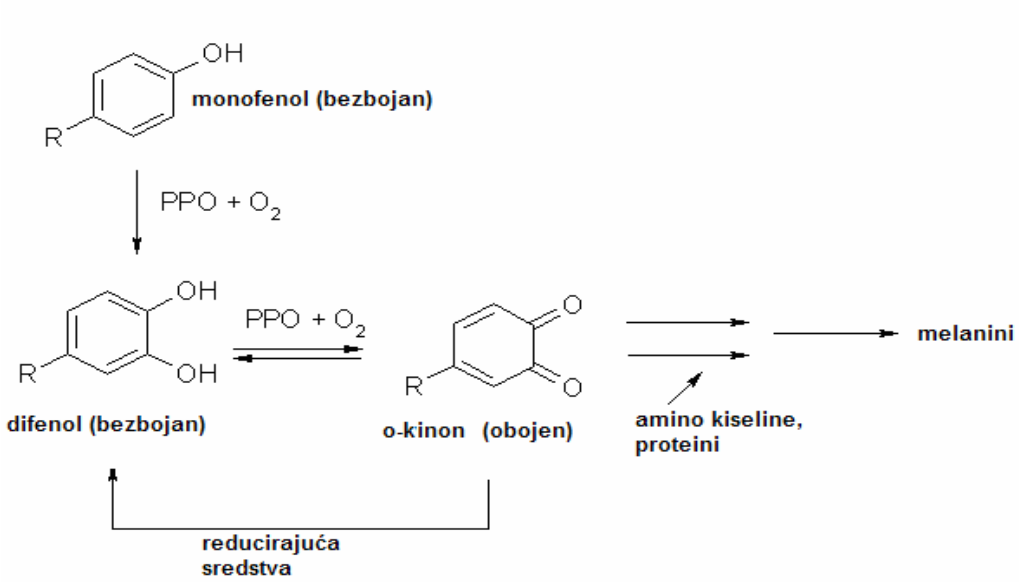
Inhibicija usmjerena prema enzimima podrazumjeva primjenu procesiranja koje obuhvaća procese zagrijavanja (pasterizacija, blanširanje parom i vodom), dehidrataciju, ultrazvuk, ultrafiltraciju, primjenu superkritičnog ugljičnog dioksida, primjenu visokog tlaka. Također podrazumjeva inhibitore enzima poput helirajućih sredstava, aromatske karboksilne kiseline, malične kiseline, limunske kiseline, sredstva za zakiseljavanje, alifatske alkohole (Kopjar, 2013.).

Inhibicija usmjerena prema supstratima podrazumjeva uklanjanje kisika procesiranjem (primjena vakuuma, potapanje u vodi ili sirupu) ili primjenom reducirajućih

sredstava (askorbinske kiseline, eritorbinske kiseline, propil galata, butiliranog hidroksianisola, butiliranog hidroksitoluena). Inhibicija supstrata uklanjanjem fenola *podrazumijeva* stvaranje kompleksa s odgovarajućim spojevima (ciklodekstrini, ciklosan, polisaharidi s S) ili enzimskom modifikacijom fenola (metiltransferaze, protokatehuat 3,4-dioksigenaze) (Kopjar 2013.).

Inhibicija usmjerena prema produktima ostvaruje se primjenom reducirajućih sredstava (sulfiti, askorbinska kiselina i analozi, cistein i druge tiolne tvari), aminokiselina, peptida, proteina, citosana (Kopjar 2013.).

Reducirajuća sredstva reagiraju s produktima oksidacije PPO i sprečavaju nastajanje obojenog produkta, odnosno neenzimskog dijela reakcije koji rezultira nastajanjem melanina (**Slika 4**). Nazivaju se reducirajućim sredstvima budući da drže supstrat u reduciranom obliku (Jašić, 2007.; Obradović, 2011.).

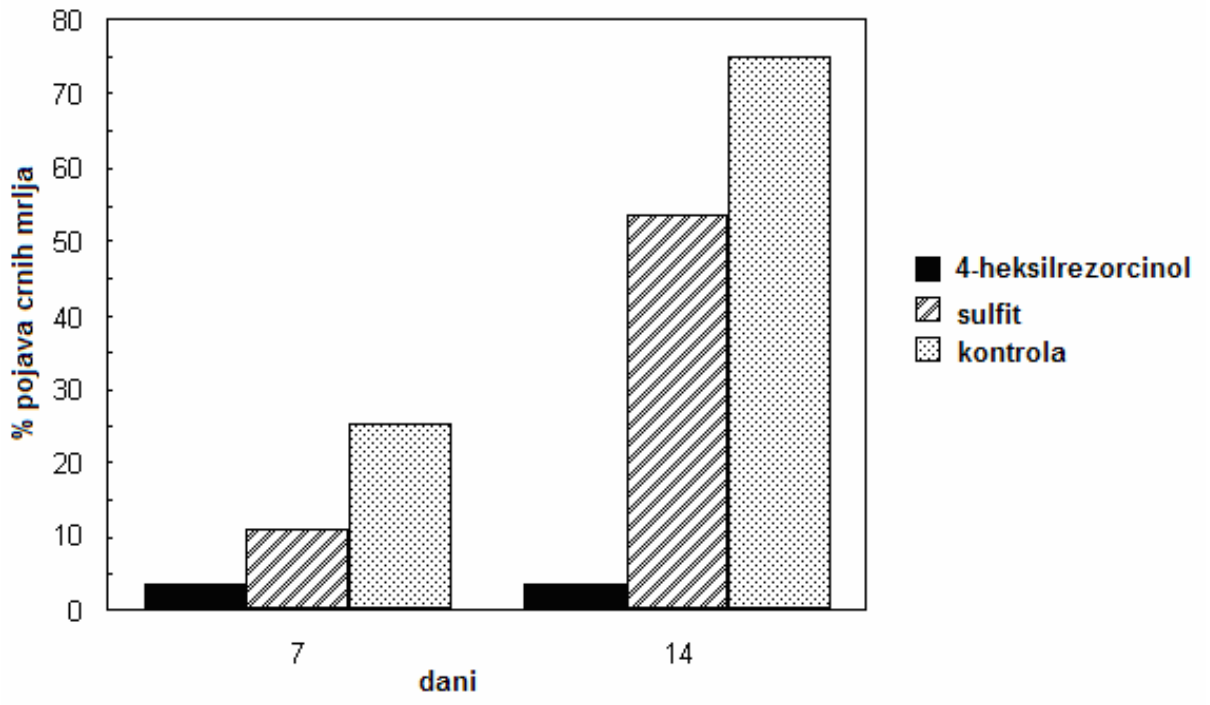


Slika 4 Djelovanje reducirajućih sredstava na reakcije enzimskog posmeđivanja (Obradović, 2011.)

Sulfiti su najučinkovitiji multifunkcionalni agensi u kontroli enzimskog posmeđivanja hrane. Međutim upotreba sulfita je sve više ograničena jer se smatra da su uzrok ozbiljnih reakcija u astmatičara. Najbolja alternativa sulfitima u kontroli posmeđivanja je L-askorbinska kiselina ili njezin stereoizomer eritorbinska kiselina. Butilirani hidroksianisol je također dobra zamjena za sulfite (Hui i sur., 2006.; Obradović, 2011.).

Učinkovita kontrola enzimskog posmeđivanja također se postiže kombinacijom reagensa protiv posmeđivanja. Tipična kombinacija se može sastojati od kemijskih

reducirajućih agensa kao što su askorbinska kiselina, regulatori kiselosti kao limunska kiselina te agensi poput EDTA (Hui i sur., 2006.).



Slika 5 Sprječavanje enzimskog posmeđivanja na kriškama jabuka (Kopjar, 2013.)

Na Slici 5 prikazano je sprječavanje enzimskog posmeđivanja kriški jabuka tretiranjem s sulfitom i 4-heksilrezorcinolom. Uzorci su skladišteni 14 dana, te je is slike vidljivo da kontrolni uzorak (ne tretirani uzorak) nakon 14 dana skladištenja ima oko 75% površine prekrivene crnim mrljama koje su posljedica enzimskog posmeđivanja. Na uzorcima tretiranim sulfitom i 4-heksilrezorcinolom manji dio površine je prekriven crnim mrljama što je dokaz da ova sredstva uzrokuju sprječavanje posmeđivanja. Uspoređujući ova dva sredstva za sprječavanje posmeđivanja, vidljivo je da je 4-heksilrezorcinol učinkovitije sredstvo obzirom da je nakon 14 dana skladištenja samo 5% površine bilo prekriveno crnim mrljama, dok je kod uzoraka tretiranim sa sulfitima oko 55% površine bilo prekriveno crnim mrljama.

3. NEENZIMSKO POSMEĐIVANJE

Neenzimsko posmeđivanje u velikom broju slučajeva dovodi do negativnih promjena koje se očituju ne samo promjenom boje već i degradacijom sastojaka hrane (aminokiseline, askorbinske kiseline), smanjenjem probavljivosti proteina, a u nekim slučajevima dovodi do tvorbe toksičnih spojeva. Ove reakcije ne zahtijevaju polifenol oksidaze za katalitičko djelovanje. Produkti ovih složenih reakcija su melanoidini, tamno-žutoobojeni, fluorescentni spojevi, polimernog i kopolimernog tipa. Intenzitet promjene boje kao i okusa proporcionalan je sadržaju tih polimernih spojeva (Obradović, 2011.; Nedić Tiban, 2013.).

Uvjeti koji posebno pogoduju neenzimskom posmeđivanju kod prerade voća i povrća:

- visoka koncentracija suhe tvari (koncentrirani voćni sokovi, 60-70% suhe tvari),
- prisutnost Cu i Fe koji kataliziraju reakcije posmeđivanja (u neispravnim postrojenjima) (Obradović, 2011.).

3.1. Maillard-ove reakcije

Maillard-ove reakcije nazvane su po francuskom kemičaru Louis-Camilleu Maillard-u koji je prvi opisao promjene arome i boje u procesu zagrijavanja reducirajućih šećera s aminokiselinama. Ove reakcije su od velike važnosti u prehrambenoj tehnologiji i kemiji, ali i u medicini i nutricionizmu (Tomasik, 2004.).

Važnost ovih reakcija kod hrane temelji se na činjenici da one mijenjaju njene važne značajke poput boje, arome, prehrambene vrijednosti, antioksidativnih svojstava i teksture. Takve promjene mogu biti poželjne (npr. promjene okusa i boje kod prženja i pečenja), ali i nepoželjne (tamnjenje dehidratizirane hrane, kvarenje okusa ili stvaranje toksičnih spojeva) (Tomasik, 2004.; Hui i sur., 2006.).

Produkti reakcije različitih modelnih sustava aminokiselina i šećera imaju antimutagena, antimikrobiološka i antioksidativna svojstva. Antioksidativni efekti produkata Maillard-ovih reakcija otkriveni su u medu i pireu od rajčice (Katalinić, 2006.; Jašić, 2007.).

Procesi kao pečenje i prženje se temelje na Maillard-ovim reakcijama za formiranje okusa, mirisa i boje. Kroz prženje i roštiljanje mesa i ribe također mogu nastati niske razine mutagenih/kancerogenih heterocikličkih amina putem ovih reakcija. Formiranje tih spojeva

ovisi o temperaturi kuhanja i vremenu, tehnici kuhanja i opremi, toplini i/ili kemijskim parametrima (Katalinić, 2006.; Jašić, 2007.).

Maillard-ove reakcije su jedne od glavnih reakcija koja uzrokuje degradaciju proteina tijekom procesiranja i skladištenja hrane. Ova reakcija također može uzrokovati ostale nepoželjne nutritivne promjene kao što je gubitak esencijalnih aminokiselina (lizina, arginina, cisteina, metionina) ili smanjenje probavljivosti proteina i dostupnosti aminokiselina ili može doći do promjene arome, odnosno maskiranje posebice gorkih tvari (Obradović, 2011.; Nedić Tiban 2013.).

Jedan od osnovnih uzroka promjene arome u dehidratiranim proizvodima, npr. od krumpira je Maillard-ova reakcija koja rezultira stvaranjem 2-metil-propanal a i 2 i 3-metilbutanala, koji nastaju Strecker-ovom degradacijom, kao i mnogih drugih hlapljivih spojeva. Stvaranje aldehida u ovim reakcijama u proizvodnji “snack” proizvoda od krumpira ubrzava se tijekom ekspanzije, gdje su prekursori posmeđivanja izloženi favoriziranim uvjetima reakcije (visoka temperatura, nizak sadržaj vode), pri čemu se razvija i karakterističan miris na “nagorjelo” i prženo (Nedić Tiban 2013.).

Maillard-ovim reakcijama se nazivaju reakcije koje započinju reakcijom između slobodne amino skupine aminokiselina, peptida ili proteina i karbonilne skupine reducirajućih šećera te dovode do nastajanja tamnih melanoidnih pigmenata. Na prirodu ovih reakcija i prirodu produkata koji nastaju utječe okolina odnosno svojstva samog medija, točnije hrane kao što su aktivitet vode, pH, kemijski sastav hrane, temperatura. Također je vrlo bitan tip reducirajućeg šećera, tako da pentoze reagiraju puno brže nego heksoze, monosaharidi brže reagiraju nego disaharidi (Tomasik, 2004.; Hui i sur., 2006.).

3.1.1. Faze Maillard-ovih reakcija

Maillard-ove reakcije su podijeljene u tri glavne faze: inicijalnu ili početnu fazu, fazu stvaranja međuprodukata i finalnu fazu (Nursten, 2005.).

1. faza: *Inicijalna faza* – produkti su bezbojni

    Reakcija A: šećer-amin kondenzacija

    Reakcija B: Amadorijeva pregradnja

2. faza: *Faza stvaranja međuprodukata* – produkti su bezbojni ili žuti

    Reakcija C: dehidracija šećera

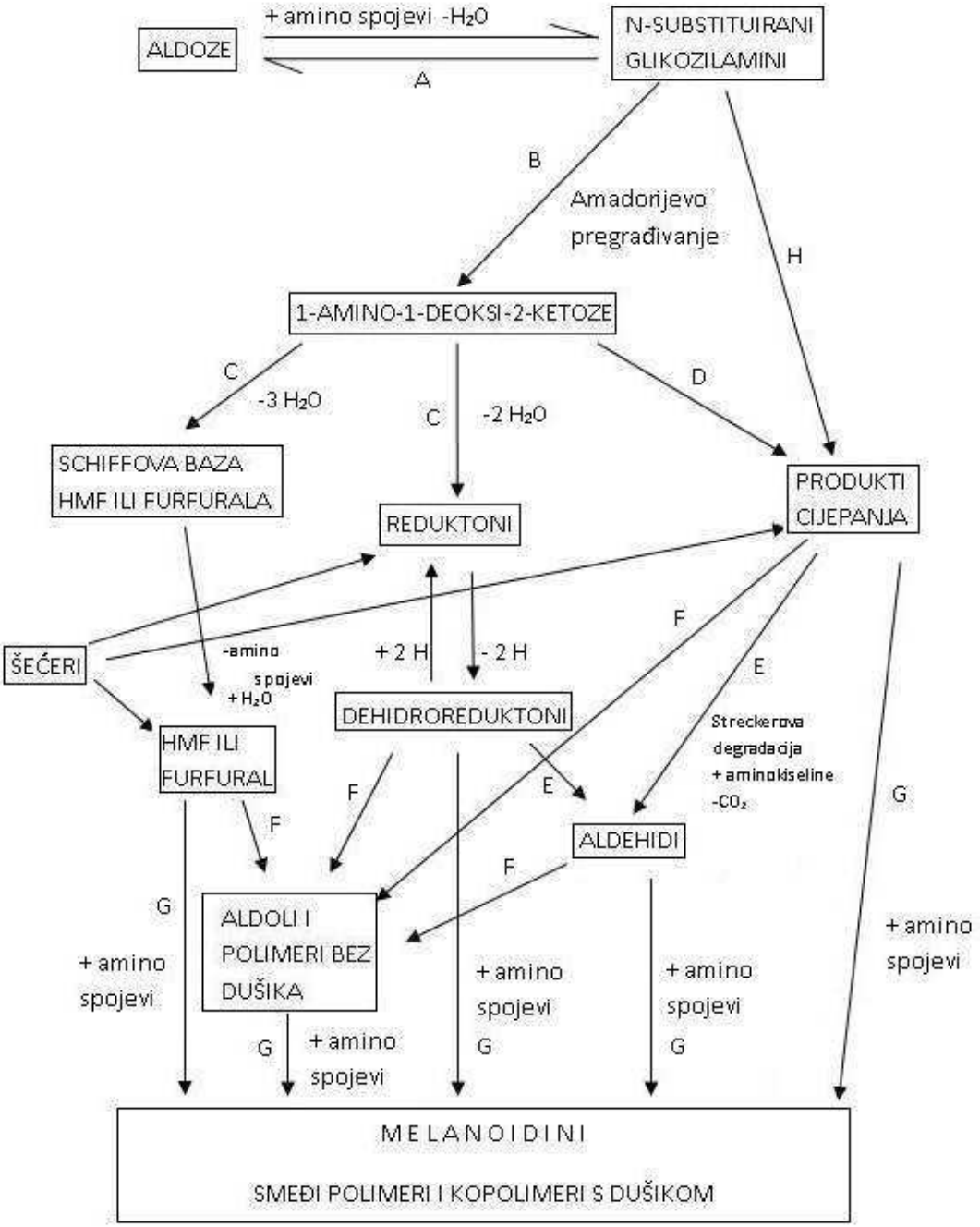
    Reakcija D: fragmentacija šećera

Reakcija E: degradacija amino kiselina ili Streckerova degradacija

3. faza: *Finalna faza* – produkti obojeni

Reakcija F: aldolna kondenzacija

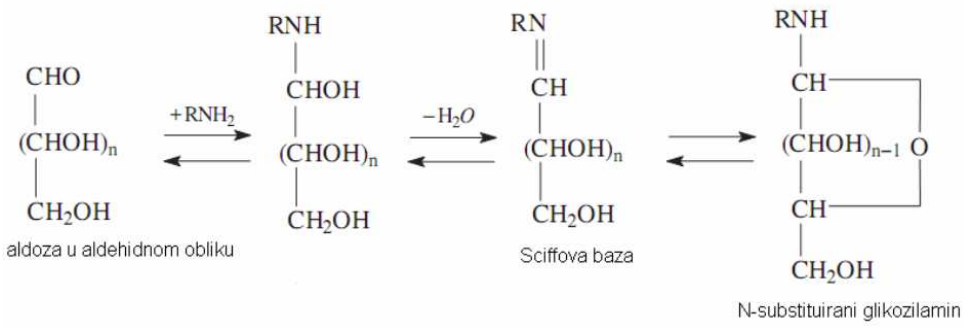
Reakcija G: aldehid-amin kondenzacija i stvaranje heterocikličkih tvari s dušikom (Nursten, 2005.)



Slika 6 Opća shema neenzimskog posmeđivanja (Nursten, 2005.)

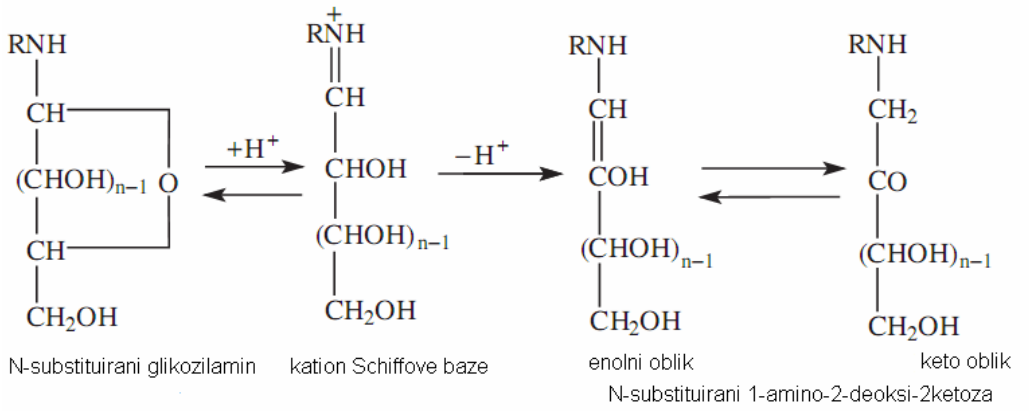
Na **Slici 6** prikazana je opća shema Maillard-ovih reakcija.

Reakcija A: šećer-amin kondenzacija. Prvi korak karbonil-amin reakcije između reducirajućih šećera i aminokiselina je adicija primarne amino skupine aminokiseline, peptida ili proteina na karbonilnu skupinu šećera, odnosno aldoza reagira sa aminom, uz izdvajanje vode. Nastali imin (Schiffova baza) kasnije ciklizacijom prelazi u odgovarajući N-supstituirani glikozilamin. Svaki korak ove reakcije je reverzibilan **(Slika 7)**. Za razliku od glikozilamina nastalih od aromatskih i heterocikličkih amina koji pokazuju određenu stabilnost, oni nastali od aminokiselina odmah prelaze u druge spojeve. N-substituirani glikozilamin blagim zagrijavanjem može prijeći u fluorescentne tvari s N koje mogu vrlo brzo s glicinom tvoriti melanoidine (Tomasik, 2004.; Hui i sur., 2006.).



Slika 7 Šećer- amin kondenzacija (Nursten, 2005.)

Reakcija B: Amadorijeva pregradnja. Ova reakcija (**Slika 8**) je katalizirana kiselinom**,** provodi se spontano već na 25 ℃, ali nije reverzibilna. Dolazi do nastaja nja relativno stabilnog prijelaznog produkta (1-amin-1-deoksi-2-ketoza). Usporedbom 1-amino-2-deoksi-2-ketoza i N-substituiranih glikozilamina, ketoze su stabilnije nego glikozilamini u kiselom mediju, ali su labilne na povišenoj temperaturi (Nursten, 2005.).



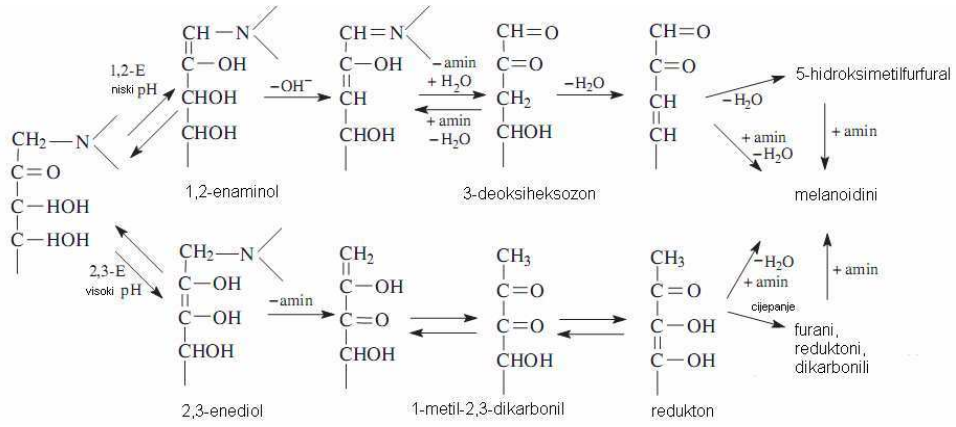
Slika 8 Amadorijeva pregradnja (Nursten, 2005.)

Produkti Amadorijeve pregradnje su prekursori velikog broja spojeva koji su važni u formiranju karakterističnih okusa, aroma i smeđih polimera. Njihovo utvrđivanje je vrlo osjetljiv indikator za rano otkrivanje promjene kvalitete uzrokovano Maillard-ovim reakcijama. Aldozilamini Amadorijevom pregradnjom prelaze u 1-amino-1-deoksi-2-ketoze, takozvane Amadorijeve spojeve. Ketozilamini Heynsovim pregrađivanjem prelaze u 2-amino-2-deoksi-aldoze. Kod Heynsovog pregrađivanja ketoza je početni šećer. Obje pregradnje započinju protoniranjem što uzrokuje otvaranje hemiacetalnog prstena glikozilamina (Tomasik, 2004.; Hui i sur., 2006.).

U reakcijama šećera s multifunkcionalnim aromatskim i heterocikličkim amonokiselinama može se zaobići Amadorijeva pregradnja što rezultira formacijom različitih heterocikličkih spojeva. Tako na primjer, reakcijom aldoze s cisteinom nastaju derivati tiazolidina. Amadorijevi spojevi pronađeni su u različitim namirnicama kao što su slad, sojin umak, prženi kakao i sušeno povrće (Tomasik, 2004.; Hui i sur., 2006.).

Reakcija C: dehidracija šećera. Ovom reakcijom započinje faza stvaranja međuprodukata. Dolazi do raspada Amadorijevih produkata (ili ostalih produkata koji se odnose na Schiffove baze) i formiranja razgradnih produkata, reaktivnih prijelaznih spojeva (3-deoksiheksozon) i hlapljivih spojeva (formiranje okusa). Amadorijevi spojevi posjeduju jaka reducirajuća svojstva. Relativno su stabilni u vodenim otopinama, ali se sporo razgrađuju u kiselinama i brzo u lužinama. Važna karakteristika Amadorijevih spojeva je njihova tendencija da lako podliježu procesu enolizacije (Tomasik, 2004.; Nursten, 2005.; Hui i sur., 2006.).

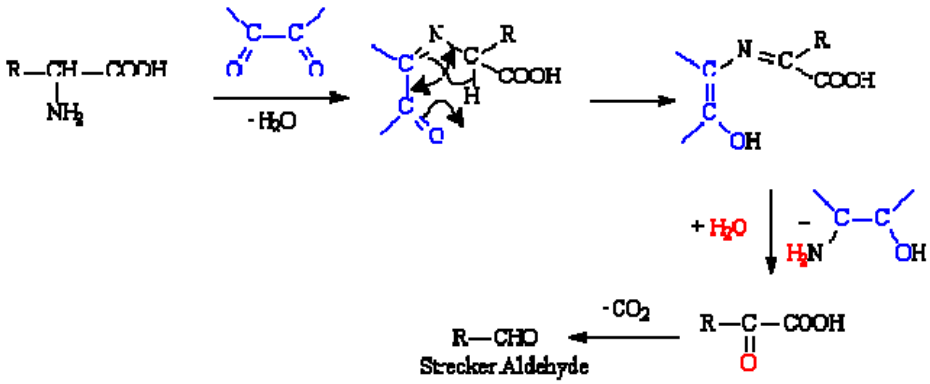
Reakcija dehidracije šećere (**Slika 9**) odvija se u kiselim uvjetima prilikom čega nastaje furfural ili u neutralnim ili alkalnim uvjetima i/ili prisustvu amina pri čemu nastaju reduktoni. Nastajanje furfurala se odvija preko 1,2-enolizacije dok nastajanje reduktona, furana i dikarbonata preko 2,3-enolizacije (Tomasik, 2004.; Nursten, 2005.; Hui i sur., 2006.).



Slika 9 Dehidratacija šećera (Nursten, 2005.)

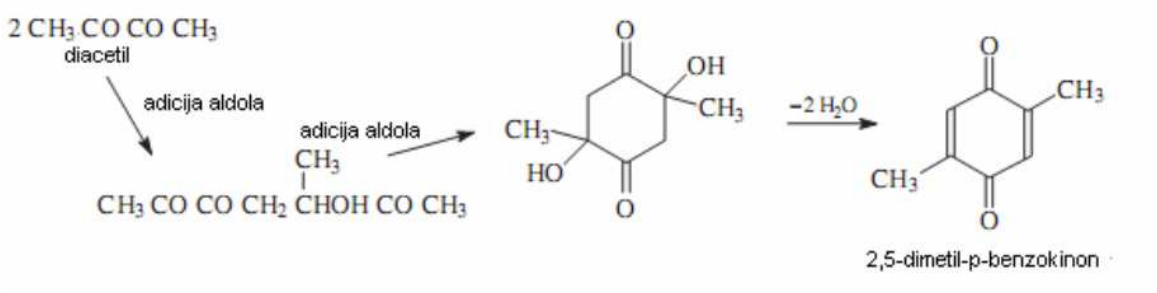
Reakcija D: Fragmentacija šećera. Mehanizam kojim dolazi do fragmentacije šećera jedealdolizacija, ali i oksidativno cijepanje a produkti koji nastaju su glikoaldehid, gliceraldehid, oksopropanol, acetol, dihidroksiaceton, acetoin, etanol, aldol, propanol, piruvinska kiselina, octena, mliječna, mravlja kiselina, formaldehid, itd. (Nursten, 2005.).

Reakcija E: degradacija aminokiselina ili Streckerova degradacija. Streckerova degradacija aminokiselina (**Slika 10**) važan je reakcijski put kojim nastaju brojni spojevi koji utječu na aromu. Tijekom te reakcije α-dikarbonilni uzrokuju oksidativnu dekarboksilaciju α-aminokiselina koje prelaze u odgovarajuće aldehide s jednim atomom ugljika manje (Streckerov aldehid). Nastaju i ugljikov dioksid, te amonijak koji se odmah transformira u druge spojeve. Nastali aldehid može reagirati s aminima te nastaju melanoidini ili može doći do aldolne kondenzacije. Aldehidi određenih aminokiselina, koji nastaju Streckerovom reakcijom, su hlapljivi i bitno doprinose aromi čokolade, kave, meda, kruha odnosno mirisu termički obrađene hrane (Tomasik, 2004.; Hui i sur., 2006.).



Slika 10 Shema Stecker-ove degradacije (Obradović, 2011.)

Reakcija F: aldolna kondenzacija. Finalna faza započinje aldolnom kondenzacijom (**Slika 11**), a karakterizirana je stvaranjem smeđih polimera koji sadrže dušik odnosno melanoidina. Aldehidi nastali u prethodnim reakcijama mogu reagirati jedni sa drugima preko aldolne kondenzacije. Također mogu reagirati i karbonilni spojevi koji su nastali oksidacijom lipida. Benzokinoni koji su produkti aldolne kondenzacije sudjeluju u nastajanju smeđih melanoidina, a u hrani mogu nastati i iz polifenola (Nursten, 2005.; Hui i sur., 2006).



Slika 11 Aldolna kondenzacija (Nursten, 2005.)

Reakcija G: aldehid-amin kondenzacija i stvaranje heterocikličkih tvari s dušikom. Aldehidi reagiraju s aminima pri niskoj temperaturi a kao produkti nastaju melanoidini odnosno polimeri visoke molekulske mase odnosno. Melanoidini u svom sastavu obično sadrže 3-4% dušika te imaju heterociklički prsten poput piridina, pirazina, pirola i imidazola (Nursten, 2005.; Hui i sur., 2006).

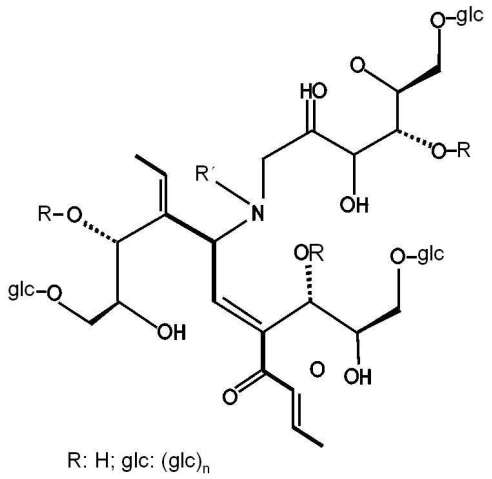
Primarni amini koji reagiraju sa aldehidima su važniji od sekundarnih zato jer je koncentracija primarnih aminokiselina u hrani obično veća od sekundarnih aminokiselina. Međutim, jedna od iznimka je velika količina prolina u sladu i proizvodima od kukuruza (Nursten, 2005.; Hui i sur., 2006).

3.1.2. Melanoidini

Melanoidini, kao što je prethodno spomenuto, predstavljaju smeđe polimere velike molekularne mase koji nastaju u završnoj fazi Maillardove reakcije. Oni su ujedino i glavni produkti neenzimskog posmeđivanja za razliku od melanina koji su finalni produkti enzimskog posmeđivanja. Teorijski je to vrlo jasna razlika, ali praktično je nemoguće klasificirati smeđe produkte u hrani obzirom da je hrana kemijski vrlo kompleksna smjesa. Unatoč brojnim istraživanjima koja su provedena u cilju boljeg poznavanja same strukture i svojstva melanoidina još i danas kemijska priroda tih spojeva nije jasna. Budući da je struktura melanoidina još uglavnom nepoznata postoji nekoliko prijedloga o tome (Tomasik, 2004.; Hui i sur., 2006.).

Melanoidini su opisani kao obojene tvari male molekulske mase koje su sposobne križati proteine preko ε-amino skupina lizina ili arginina da bi nastali obojeni melanoidini velike molekulske mase. Osnovna struktura melanoidina prikazana je na **Slici 12**. Također se pretpostavljalo da su polimeri koji se sastoje od ponavljajućih jedinica furana i/ili pirola formirani tijekom napredne faze Maillard-ovih reakcija i povezani reakcijama polikondenzacije. Nedavno je dokazano da se u uvjetima bez prisustva vode znatne količine

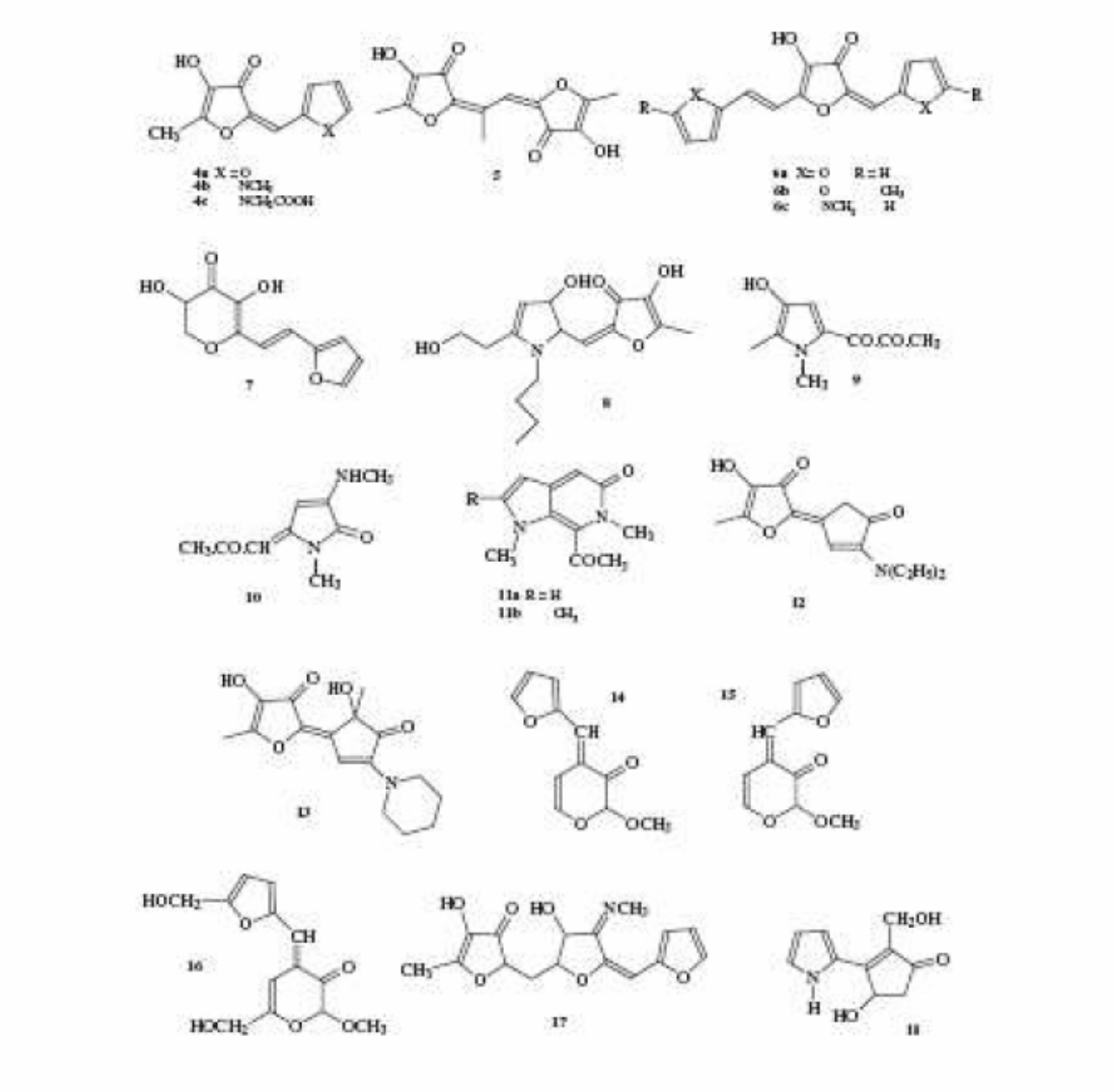
disaharida ili oligosaharida s čitavim glikozidnim vezama mogu ugraditi u melanoidine i uzrokovati pritom grananje melanoidinskog kostura (Hui i sur., 2006.; Tomasik, 2004.).



Slika 12 Osnovna struktura melanoidina (Santal i Singh, 2013.)

Na temelju opsežnog rada o niskoj molekularnoj masi obojenih produkata Maillard-ovih reakcija te na činjenici da melanoidini iz hrane hidrolizom tvore aminokiseline i peptide, Hofmann je pretpostavio da melanoidini u hrani mogu nastati umrežavanjem kromofora niske molekularne mase i neobojenih biopolimera visoke molekularne mase. Ta je teza potvrđena izolacijom i karakterizacijom narančasto-smeđeg melanoproteina vezanog za lizin. Identifikacija kromofora nastalog iz argininskih ostataka, glioksala i 2-furaldehida ukazuje da oligomerizacija molekule proteina putem obojenih umreženih struktura može pridonijeti stvaranju melanoidina. Dakle, vjerojatno je da melanoproteini sadrže niz kromofora (nastalih ionskom kondenzacijom te reakcijama radikala) koji su vezani za lizin i argininske ostatke. Neki kromofori mogu uzrokovati umrežavanje proteinskih oligomera. Umjesto da su kovalentno vezani za protein, kromofori niske molekularne mase mogu biti samo fizički ''uhvaćeni'' od strane proteinskog polimera (Tomasik, 2004.).

Može se pretpostaviti da su melanoidini u hrani mješavina gore navedenih struktura. Ovisno o početnom materijalu i uvjetima pod kojima se reakcija odvija kao posljedica nastat će razne strukture melanoidina (Tomasik, 2004.; Hui i sur., 2006.). Na **Slici 13** prikazane su razne strukture melanoidina.



Slika 13 Razne strukture melanoidina (Kopjar, 2013.)

3.2. Karamelizacija

Karamelizacija predstavlja proces neenzimskog posmeđivanja hrane koji uključuje formiranje različitih produkta razgradnje ugljikohidrata, bez prisustva amina. Do karamelizacije dolazi kad se površina proizvoda jako zagrijava kao što je slučaj tijekom pečenja i prženja hrane ili tijekom obrade hrane koja sadrži puno šećera (džemovi i određeni voćni sokovi) ili u proizvodnji vina (Hui i sur., 2006.).

Za karamelizaciju je poželjno da nastane aroma karamela i da daje smeđu boju kad se to želi postići u određenim namirnicama. Aroma karamela i boja dobivena od šećera pomoću različitih katalizatora jedan je od najčešće korištenih aditiva u prehrambenoj industriji. 2H-4-hidroksi-5-metilfuran-3-on ima primjenu kao pojačivač različitih aroma i

sladila. Osim saharoze i drugi šećeri kao što su maltoza, laktoza i galaktoza zagrijavanjem daju karamel. Karamel aroma nije poželjna kod proizvoda koji imaju svoj specifičan miris. Pojava mirisa na karamel se kod tih proizvoda uzima kao znak dugog zagrijavanja i nepoželjnih kemijskih reakcija. Dužim zagrijavanjem istovremeno promjenom boje mijenja se i okus. Sladak okus svojstven šećeru polako se gubi, a javlja se «nagorjelo» gorak okus. Prijatna karamel aroma nastaje zagrijavanjem saharoze na oko 160 ℃ i ima žuto ili svijetlo smeđu boju, a koristi se u proizvodnji gaziranih napitaka, tamnih vrsta piva i alkoholnih pića (Hui i sur., 2006.; Nedić Tiban, 2013.).

Međutim, karamelizacija nije uvijek poželjna reakcija zbog mogućnosti formiranja mutagenih spojeva i pretjerane promjene u osjetilnim svojstvima koje mogu utjecati na kvalitetu određenih namirnica (Hui i sur., 2006.; Nedić Tiban, 2013.).

Karamelizacija se odvija brže u nazočnosti malih količina kiselina ili nekih soli, fosfora i iona metala, prilikom čega nastaju produkti slični onima koji proizlaze iz Maillard-ovih reakcija. Većinom uzrokuje dehidrataciju molekula šećera sa uvođenjem dvostruke veze ili formiranjem anhidroprstena (Hui i sur., 2006.; Nedić Tiban, 2013.).

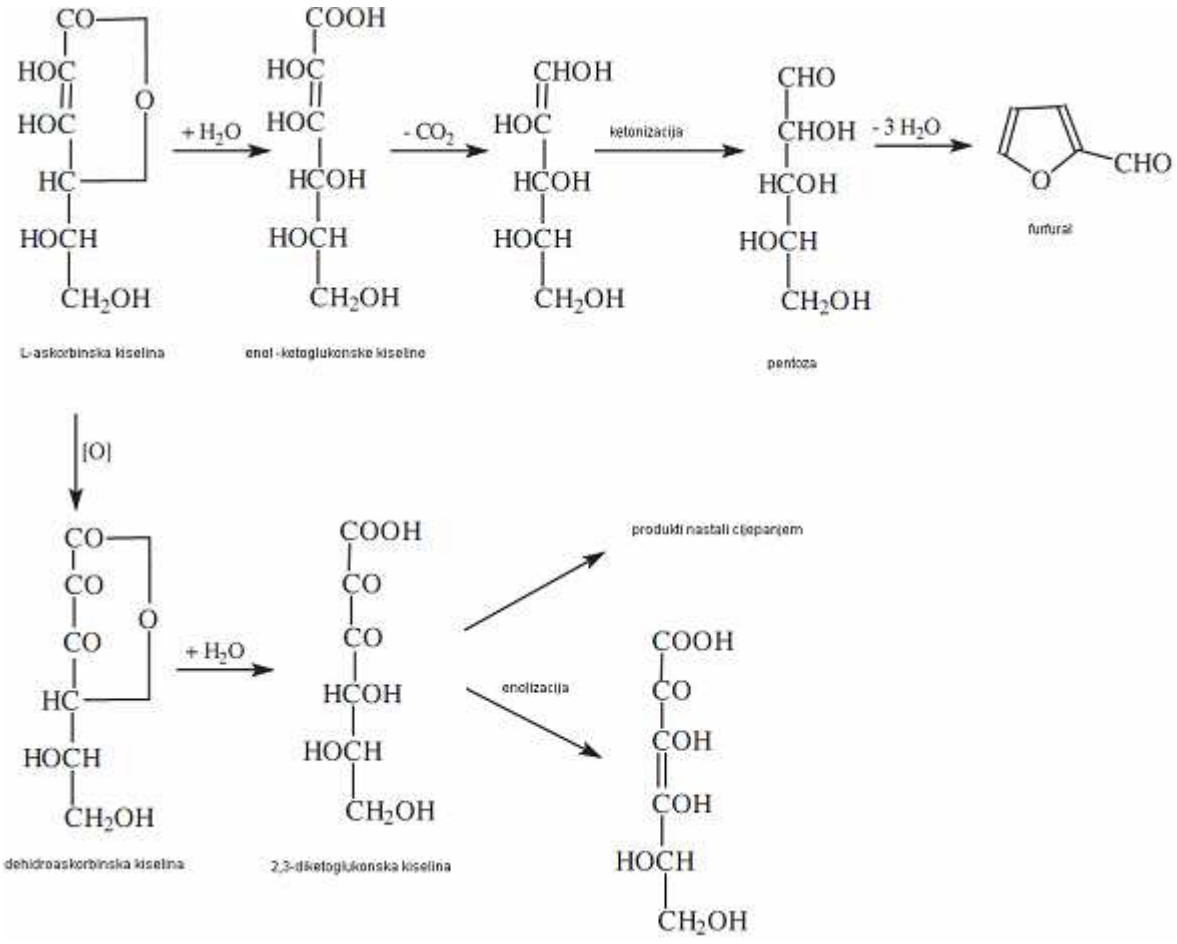
3.3. Neenzimsko posmeđivanje uzrokovano degradacijom askorbinske kiseline

Askorbinska kiselina (vitamin C) ima važnu ulogu u ljudskoj prehrani kao i u proizvodnji hrane. Posmeđivanje pomoću askorbinske kiseline može se ukratko definirati kao termička degradacija askorbinske kiseline pod aerobnim i anaerobnim uvjetima, oksidativnim ili neoksidativnim mehanizom u prisutnosti ili bez prisutnosti aminokiselina. Neenzimsko posmeđivanje je jedno od glavnih razloga gubitka komercijalne vrijednosti citrusnih proizvoda. Razgradnja askorbinske kiseline nakon čega slijedi posmeđivanje također pogađa i necitrusne namirnice kao što su šparoge, brokula, cvjetača, grašak, krumpir, špinat, jabuke, marelice, dinje, jagode, kukuruz i dehidrirano voće (Hui i sur., 2006). Prilikom skladištenja soka od naranče vrlo brzo dolazi do posmeđivanja, za tu reakciju ispočetka je odgovorna degradacija askorbinske kiseline, a kasnije reakcije šećera (Kopjar, 2013.).

Točan mehanizam degradacije askorbinske kiseline je jako promjenjiv i ovisi o uvjetima u hrani. Po prirodi je oksidacija askorbinske kiseline neenzimska iako u nekim slučajevima oksidacija može biti katalizirana enzimom. Taj enzim je oksidaza askorbinske kiseline i u svojoj strukturi sadrži bakar. Prisutnost metala, posebno Cu^{2+} i Fe^{2+} uzrokuje veliki gubitak vitamina C (Hui i sur., 2006.; Kopjar, 2013.).

Čimbenici koji mogu utjecati na prirodu mehanizma degradacije akorbinske kiseline uključuju temperaturu, koncentraciju soli i šećera, pH, kisik, enzimi, metali, aminokiseline, oksidansi i reducensi, početna koncentracija askorbinske kiseline i omjer askorbinske kiseline i dehidroaskorbinske kiseline (DHAA) (Hui i sur., 2006).

U vodenim otopinama iznad 98 ℃ do ći će do posmeđenja askorbinske kiseline a kao produkti te reakcije nastaju furfural i ugljikov dioksid. Posmeđivanje izazvano askorbinskom kiselinom ubrzava se povećanjem pH vrijednosti, te iznad pH 7 dolazi do autoksidacije i posmeđivanja već na 25 ℃. U vrlo kiselom mediju (pH 2,5) posmeđivanje se dešava zbog degradacije askorbinske kiseline do reaktivnih karbonilnih spojeva. Nastali vrlo reaktivni spojevi zatim reagiraju s aminima prilikom čega nastaju obojeni produkti. Smanjenju brzine posmeđivanja pridonose glukoza i fruktoza, također do istog efekta dolazi i kod aminokiselinama ali samo na početku, kasnije dolazi do ubrzanja reakcija (Kopjar, 2013.)



Slika 14 Degradacija askorbinske kiseline (Kopjar, 2013.)

Na **Slici 14** prikazana je degradacija askorbinske kiseline. U aerobnim uvjetima askorbinska kiselina se primarno degradira u DHAA. Budući da DHAA nije stabilna već pri niskim temperaturama dolazi do spontanog prijelaza u 2,3-diketo-L-glukonsku kiselinu. Pod aerobnim uvjetima stvara se ksilozon koji se kasnije pretvara u redukton. U prisutnosti aminokiselina askorbinska kiselina, DHAA i njihovi oksidacijski produkti, furfurali, reduktoni i 3-deoksipentozoni mogu doprinijeti posmeđivanju hrane (Hui i sur., 2006,; Kopjar 2013).

U anaerobnim uvjetima ne dolazi do formiranja DHAA tijekom degradacije koja ima maksimum pri pH 4 i minimum pri pH 2. Dolazi do generacije diketoglukonske kiseline putem keto tautomera nakon čega slijedi eliminacija na C-4 iz tog spoja i dekarboksilacija te nastaje 3-deokispentozon koji je dalje degradiran do furfurala (Hui i sur., 2006).

Formiranje furfurala tijekom anaerobne razgradnje askorbinske kiseline predloženo je kao adekvatan indeks za predviđanje temperature skladištenja, budući da je povezan sa neenzimskim posmeđivanjem. Furfural je vrlo reaktivan aldehid koji se stvara i razgrađuje istovremeno, zbog toga bi ga bilo jako teško koristiti kao indeks za predviđanje promjena kvalitete u produktima agruma. Askorbinska kiselina je znatno bolji rani indikator kvalitete (Hui i sur., 2006).

4. INHIBICIJA NEENZIMSKOG POSMEĐIVANJA

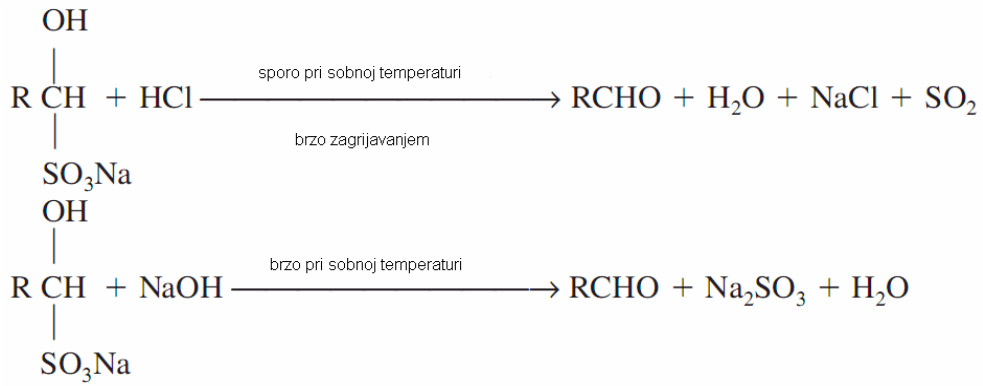
Sprječavanje neenzimskog posmeđivanja, u kompleksnom sustavu kakav je hrana, nije uvijek lako ostvariti, niti postoji metoda za sprječavanje ovih reakcija. Inhibicija neenzimskog posmeđivanja u hrani bitna je kada je nepoželjno stvaranje boje i u slučajevima nepoželjnog stvaranja arome (Nedić Tiban, 2013.; Kopjar, 2013.).

Neki opći principi i metode za sprječavanje ili smanjenje brzine ili stupnja neenzimskog posmeđivanja su slijedeći:

Snižavanje temperature. U svim fazama prerade, proizvodnje i skladištenja koliko god je moguće važno je smanjiti temperaturu. Prilikom povećanja temperature za 10 ℃ brzina reakcija se povećava 3 - 6 puta. Kod većine proizvoda neće doći do posmeđivanja skladištenjem ispod -10 ℃ do godinu dana. Proizvod e od voća i povrća sa velikim udjelom suhe tvari preporučljivo je skladištiti pri nižim temperaturama i pakirati u atmosferi inertnog plina. Dehidratirani proizvodi skladište se na temperaturi nižoj od 20 ℃ (Nedi ć Tiban, 2013.; Kopjar, 2013.).

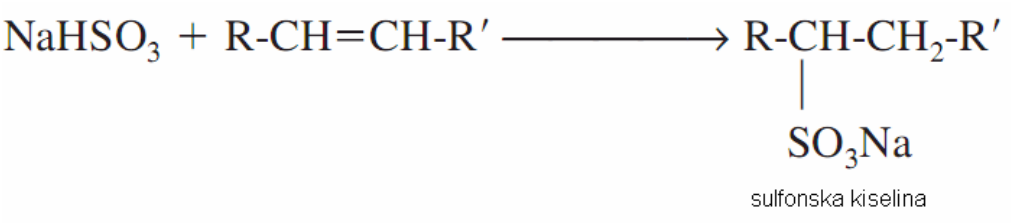
Primjena sulfita. Primjena sulfita se smatra jednom od najboljih metoda inhibicije. Sulfiti imaju sposobnost sprječavanja mikrobiološkog rasta i enzimskog posmeđivanja.

Hidrosulfonska kiselina se razgrađuje u kiselim ili alkalnim uvjetima prilikom čega se regenerira karbonilna tvar.



Slika 15 Reakcije hidrosulfonske kiseline (Kopjar, 2013.).

Bisulfiti obično sprječavaju reakciju i reagiraju s međuproduktima. Bisulfiti mogu reagirati s aldehidima i ketonima čiji je karbonilni ugljikov atom dio 4- do 7- članog prstena ili ima metilnu grupu vezanu na njega. Tvari koje nastaju reakcijom aldoza i bisulfita su nestabilne i relativno brzo se razgrađuju.



Slika 16 Reakcija bisulfita (Kopjar, 2013.)

U nekim slučajevima primjenjuje se sumporov dioksid i sumporasta kiselina, te njezine soli. Prilikom primjene mora se paziti sa koncentracijom sumpora jer se ne smije osjećati u hrani. Upotrebljava se kao priprema za dehidrataciju, prije smrzavanja. Sumpor oksid reagira s karbonilnim spojevima koji nastaju u reakcijama posmeđivanja. Kod tretiranja sa sumpor dioksidom dolazi do ukljanjanja jednog od reaktanata kada karbonilni spojevi postaju nedostupni za reakciju (Nedić Tiban, 2013.; Kopjar, 2013.).

Smanjenje količine amino spojeva ili proteina. Uklanjanje proteina se može izvršiti toplinom ili primjenom nekih adsorpcijskih sredstava. Kod proizvodnje voćnih sokova postiže se bistrenjem soka (Nedić Tiban, 2013.; Kopjar, 2013.).

Smanjenje količine reducirajućih šećera. Gubitak glikogena degradacijom reducirajućih šećera može dovesti do smanjenja posmeđivanja. Kod voća se smanjenje reducirajućih šećera može postići odabirom sorti, zamjenom reducirajućih šećera sa saharozom, i dr. (Nedić Tiban, 2013.; Kopjar, 2013.).

Sniženje koncentracije gotovih proizvoda. Sokovi limuna i grejpfruta se često koncentriraju samo do stupnja 4:1, umjesto 6:1, kao kod naranče (Nedić Tiban, 2013.)

Smanjenje pH. Smanjenje pH je korisno do određene točke. U nekim slučajevima smanjenje pH može biti pogodno za pokretanje drugih mehanizama. Ako sustav sadrži askorbinsku kiselinu, svaka mjera koja omogućava očuvanje vitamina C pomoći će u sprječavanju početka neenzimskog posmeđivanja njegovom oksidacijom (Kopjar, 2013.).

Modifikacijom aktiviteta vode (a_w). Kada je prisutna voda, odnosno kada je a_w vrijednost visoka posmeđivanje je usporeno zbog razrijeđenosti reaktanata. S druge strane kada je a_w nizak, koncentracija reaktanata je visoka ali se gubi njihova mobilnost (Kopjar, 2013.

Kontrola posmeđivanja uzrokovanog degradacijom askorbinske kiseline. Sulfiti, tiolni spojevi, šećeri i sorbitol mogu biti učinkoviti u suzbijanju posmeđivanja uzrokovanog degradacijom askorbinske kiseline. Količina koja će koristiti uvelike ovisi o faktorima kao što je koncentracija inhibitora i temperatura. Glukoza, saharoza i sorbitol štite L-askorbinsku kiselinu od razgradnje pri niskoj temperaturi (23, 33 i 45℃), dok kod viših temperatura (70,

80 i 90℃) spojevi s aktivnim karbonilom poti ču razgradnju askorbinske kiseline. Stabilnost askorbinske kiseline u većini slučajeva se povećava sa smanjenjem temperature hrane. Međutim ipak je moguće da se ubrza gubitak pri smrzavanju ili zaleđenom skladištenju određenih namirnica (Hui i sur., 2006).

U svrhu održavanja visoke koncentracije askorbinske kiseline potrebno je brzo uklanjanje kisika iz sustava**.** Procesi poput pakiranje u modificiranoj atmosferi, primjena mikrovalova, primjena ultrazvuka, električnog polja ili visokog tlaka služe za očuvanje vitamina C i smanjuju pojavu posmeđivanja uzrokovanog degradacijom askorbinske kiseline (Hui i sur., 2006).

5. ZAKLJUČAK

Dobro vođenje svih procesa u lancu proizvodnje i distribucije na tržištu rezultira hranom visoke kakvoće koja je sigurna za zdravlje potrošača. Između ostalog potrebno je spriječiti reakcije posmeđivanja s ciljem smanjenja promjene boje i arome kada te promjene negativno utječu na kvalitetu finalnog proizvoda. Promjene uzrokovane neenzimskim posmeđivanjem u nekim slučajevima mogu biti i poželjnje kada se želi postići određena aroma prilikom termičkog tretiranja poput pečenja, prženja, sušenja. Reakcije enzimskog posmeđivanja mogu pridonijeti sveukupnoj prihvatljivosti namirnica poput čaja, kave, kakaa i sušenog voća. Unatoč brojnim istraživanjima vezanim uz neenzimsko posmeđivanje s naglaskom na Maillard-ove reakcije još u potpunosti nisu razjašnjene mogućnosti kontrole ovih reakcije tijekom procesiranja.

6. LITERATURA

Hui YH, Wai-Kit N, Nollet LML, Paliyath G, Simpson BK: Food Biochemistry and Food Processing. Blackwell Publishing, USA, 2006.

Jašić M: Tehnologija voća i povrća. Dio 1, Opšte osobine i čuvanje, hemijski sastav, nutritivna svojstva, fizikalno - hemijska i senzorna svojstva. Tehnološki fakultet, Tuzla, 2007.

Katalinić V: Kemija mediteranskog voća i tehnologija prerade. Skripta I dio, Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu, 2006.

Kopjar M: Posmeđivanje. Predavanje iz kolegija Kemija hrane, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek. Osijek, 2013.

Nedić Tiban N: Enzimsko i neenzimsko posmeđivanje. Predavanje iz kolegija Tehnologija prerade sirovina biljnog podrijetla II (voće i povrće). Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek. Osijek, 2013.

Nursten H: The Chemistry of Nonenzymic Browning. U *The Maillard Reaction*. Royal Society of Chemistry, UK, 2005.

Obradović V: Tehnologija konzerviranja i prerade voća i povrća. Interna skripta, Veleučilište u Požegi, Požega, 2011.

Santal RA, Singh PN: Biodegradation of Melanoidin from Distillery Effluent: Role of Microbes and Their Potential Enzymes, 2013.

http://www.intechopen.com/books/biodegradation-of-hazardous-and-special-products/biodegradation-of-melanoidin...[16.09.2013.]

Tomasik P: Chemical and Functional Properties of Food Saccharides. CRC Press LLC, 2004.