УДК 641.517:663.05

Р.Ю. Павлюк, д-р техн. наук, проф.
В.В. Погарська, канд. техн. наук, проф.
Т.В. Крячко, канд. техн. наук, доц.
С.М. Лосєва, ст. викл.
А.С. Маціпура, асп.
Д.О. Глубокий, асп.
С.С. Стоєв, асист.

НОВЕ ПРО ВПЛИВ НИЗЬКОТЕМПЕРАТУРНОЇ КРІОДЕСТРУКЦІЇ ТА «ШОКОВОГО» ЗАМОРОЖУВАННЯ НА АКТИВНІСТЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ФЕРМЕНТІВ ПЛОДІВ ТА ОВОЧІВ

Виявлено, що під час кріодеструкції плодів та овочів та низькотемпературного подрібнення відбувається значна активація окиснювальних ферментів (в 4…4,5 разів вище, ніж у вихідній сировині). Розкрито механізм цього процесу та розроблені рекомендації з інактивації ферментів. Розроблено новий спосіб низькотемпературної інактивації окиснювальних ферментів плодів та овочів під час кріогенного «шокового» заморожування при використанні високих та надвисоких швидкостей, які повністю інактивують ферменти.

Выявлено, что при криодеструкции плодов и овощей и низкотемпературном измельчении происходит значительная активация окислительных ферментов (в 4…4,5 раз выше, чем в исходном сырье). Раскрыт механизм этого процесса и разработаны рекомендации по инактивации ферментов. Разработан новый способ низкотемпературной инактивации окислительных ферментов плодов и овощей во время криогенного «шокового» замораживания при использовании высоких и сверхвысоких скоростей, которые полностью инактивируют ферменты.

It is discovered that the cryolysis of garden-stuffs and green-stuffs and low-temperature grinding down takes a place considerable activating of oxidizing enzymes (in 4…4,5 times higher than in a feedstock). It is exposed out the mechanism of this process and recommendations are developed for inactivation enzymes. The new method of low-temperature inactivation of oxidizing enzymes of garden-stuffs and green-stuffs is developed during the cryogenic freezing at using of high and ultrahigh speeds for the «shock» freezing what fully inactivation enzymes.

Постановка проблеми у загальному вигляді. За даними ЮНЕСКО, у міжнародному прогнозі «Харчування 21 століття» заморожування харчових продуктів визнано одним із найбільш прогресивних способів переробки і консервування харчової сировини. Відомо, що швидкість заморожування є вирішальним чинником під час отримання заморожених

продуктів. За даними американських досліджень E.G.B. Goding фірми Corn Products International (США), а також інших учених, найкращу якість заморожених продуктів (у тому числі, фруктів і овочів) отримують, якщо продукт заморожують з максимально високою швидкістю із застосуванням рідкого та газоподібного азоту. Заморожування продуктів з використанням рідкого та газоподібного азоту (методом зрошення) дозволяє значно краще зберегти рослинні продукти, ніж під час традиційного заморожування з використанням повільних швидкостей до кінцевої температури мінус 18° С у повітряних швидкоморозильних апаратах, перш за все, за рахунок кращого стану гістологічної структури, консистенції продуктів, а також гідрофільності їх тканин. Тривалість заморожування рідким азотом у десятки разів коротше, а вагові втрати в 2...3 рази менші, ніж у разі заморожування традиційним способом. У міжнародній практиці продукти прийнято заморожувати до температури -18...-20° С, рідше до -25° С. Використовують також «шокове заморожування» до -32…-35° С та іноді до -196° С.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Відомо, що одним із основних чинників під час переробки плодів та овочів, які впливають на ступінь зберігання вітамінів, антоціанів, каротиноїдів та інших біологічно активних речовин, у тому числі під час заморожування є інактивація окиснювальних ферментів. Використання різних технологічних прийомів для інактивації ферментів (бланшування – ошпарювання гострою парою, короткочасне занурення у воду, варіння, обробка у вакуумі, витримування у розчинах кухонної солі, лимонної кислоти різної концентрації, електромагнітна та НВЧ-обробка, пастеризація, стерилізація та ін.) достатньо добре вивчено. Що стосується впливу низьких температур на активність ферментів під час заморожування, то тут багато питань, які мало вивчені та залишаються відкритими, а отримані дані носять суперечливий характер. На даний час установлено, що після заморожування плодів і овочів спостерігається деяка активація окиснювальних ферментів (на 25…30% більше порівняно з вихідною сировиною), які при мінус 20…25° С зупиняють свою дію, але після розморожування протягом однієї години ферментативна активність окиснювальних ферментів повністю відновлюється, що призводить до значних втрат БАР та клітинного соку. Ці закономірності були встановлені багатьма вченими, як зарубіжними, так і вітчизняними під час заморожування та розморожування плодів та овочів з використанням різних швидкостей заморожування, в тому числі «шокової» заморожування. Не до кінця виявлені механізми цих процесів. У зв'язку з цим актуальним є виявлення таких технологічних прийомів під час заморожування плодів та овочів, які б дозволили повністю інактивувати окиснювальні ферменти, які призвели б до незворотної денатурації та коагуляції білкової глобули ферментів та блокували їх активні центри, що не дозволило б під час розморожуванні відновити їх ферментативну активність.

Мета та завдання статті. Розробка кріогенної технології заморожування плодів та овочів, а також наноструктурованих паст із них, виявлення закономірностей впливу різних швидкостей заморожування до різних кінцевих температур продукту, у тому числі «шокового» заморожування та кріодеструкції при низькотемпературному подрібненні, на окиснювальні ферменти.

Виклад основного матеріалу дослідження. У ХДУХТ уперше в міжнародній практиці розроблена нанотехнологія гомогенізованих наноструктурованих кріопаст із плодів та овочів з використанням рідкого та газоподібного азоту, яка забезпечує не лише збереження всіх БАР, а також дозволяє отримати пасти з принципово новими споживними властивостями, в яких значна кількість БАР (наприклад, аскорбінова кислота, антоціани, каротиноїди та інші) переходять із зв'язаного стану з біополімерами у вільний (в 2…4 рази вище, ніж у вихідній сировині), а біополімери в значній частині (від 40 до 60%) руйнуються до низькомолекулярних складових (амінокислот, моноцукрів, галактуронової кислоти та ін.). За літературними даними, розміри окремих перелічених низькомолекулярних речовин складають близько одного нанометра. Тобто нова технологія дозволяє отримати наноструктурований продукт з високим вмістом природних БАР, з високою засвоюваністю живими організмами, високою розчинністю. Крім того, нові кріопасти мають високі технологічні властивості, як при їх використанні для збагачення різних функціональних харчових продуктів, так і в якості напівфабрикатів для отримання із них у подальшому соків, сокових напоїв, пюре, пастоподібних наповнювачів з використанням пастеризації, вакуумування, асептичного консервування та ін. Слід зазначити, що значним недоліком сучасних традиційних методів переробки та консервування плодів та овочів у різні продукти, у тому числі соки, пюре, пасти є те, що під час їх виробництва використовують досить жорсткі режими, які призводять до втрат БАР до 80%.

У роботі сировину використовували журавлину, плоди цитрусових – лимони та апельсини разом із цедрою – та каротиновмісні овочі – моркву та гарбуз. Підготовлену плодоовочеву сировину заморожували в напіввиробничому морозильному апараті (ШТА) з використанням рідкого та газоподібного азоту, виготовленому і розробленому в Фізико-технічному інституті низьких температур НАНУ і Національному аерокосмічному університеті «ХАІ» з різними швидкостями заморожування до кінцевої температури мінус 18…20°С, мінус 35°С, мінус 40°С. Низькотемпературне подрібнення проводили в подрібнювачі-активаторі PacoJet при температурі мінус 10°С. Пасти отримували з розміром частинок у декілька мкм. При цьому контролювали активність пероксидази та каталази та масову частку L-аскорбінової кислоти, каротиноїдів, низькотемпературних фенольних сполук (фенольних сполук за хлорогеновою кислотою, флавонолових глікозидів за рутином) та вміст вологи.

Показано, що у разі повільних швидкостей заморожування до температури мінус 18°С плодів та овочів відбувалась активація окиснювальних ферментів – пероксидази та поліфенолоксидази на 30…50% (табл. 1, рис. 1).

Таблиця 1 – **Вплив «шокового» заморожування, кріодеструкції та механоактивації на активність окиснювальних ферментів за умов низькотемпературного подрібнення плодів та овочів і заморожування**

Продукт	Морква				Гарбуз				Лимон з цедрою				Апельсин з цедрою				Журавлина свіжа*			
	Активність пероксидази		Активність поліфенолоксидази		Активність пероксидази		Активність поліфенолоксидази		Активність пероксидази		Активність поліфенолоксидази		Активність пероксидази		Активність поліфенолоксидази		Активність пероксидази		Активність поліфенолоксидази	
	мл 0,01N йоду до СР	% до вихідного	мл 0,01 N йоду до СР	% до вихідного	мл 0,01N йоду до СР	% до вихідного	мл 0,01 N йоду до СР	% до вихідного	мл 0,01 N йоду до СР	% до вихідного	мл 0,01 N йоду до СР	% до вихідного	мл 0,01 N йоду до СР	% до вихідного	мл 0,01N йоду до СР	% до вихідного	мл 0,01 N йоду до СР	% до вихідного	мл 0,01N йоду до СР	% до вихідного
Вихідна сировина	103,3	100,0	16,0	100,0	198,2	100,0	33,9	100,0	304,0	100,0	33,0	100,0	247,0	100,0	24,6	100,0	149,3	100,0	74,6	100,0
Заморожені плоди до -18°С	134,8	130,5	23,0	143,7	267,3	135,0	43,5	128,3	412,2	135,8	46,2	140,2	320,0	130,4	31,9	129,7	223,5	150,0	111,9	150,0
Плоди розморожені	102,2	88,2	17,2	101,2	195,2	98,6	32,8	96,7	302,0	99,3	32,2	97,5	248,2	101,0	23,9	96,8	150,1	101,0	73,8	98,5
Кріопаста із плодів, які були заморожені до -18°С та кріоподрібнені	413,2	400,1	64,8	404,2	684,8	350,8	118,6	350,4	1064,0	350,2	148,5	450,0	988,2	400,1	88,1	358,0	521,5	350,2	305,9	410,0
Розморожена кріопаста	103,2	99,9	16,5	100,5	200,4	101,0	34,2	100,8	310,2	101,9	32,8	99,9	250,2	101,2	24,8	100,2	149,0	99,9	75,4	101,2
«Шокове» заморожування плодів до -35°С	0	0	0	0	2,2	1,1	1,8	5,3	1,3	0,4	1,30	3,9	1,8	0,7	2,2	0,9	0	0	1,2	0,1
Розморожені плоди після «шокового» заморожування	0	0	0	0	0	0	1,8	5,3	0	0	1,2	3,7	1,5	0,6	2,0	0,8	0	0	0	0
Кріопаста із плодів після «шокового» заморожування	0	0	0	0	0	0	0	0	1,9	0,6	1,0	3,0	0	0	1,0	0,4	0	0	0	0
Розморожена кріопаста із плодів після «шокового» заморожування	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Примітка. *Журавлину подрібнюють разом із шкірочкою та кісточками.																				

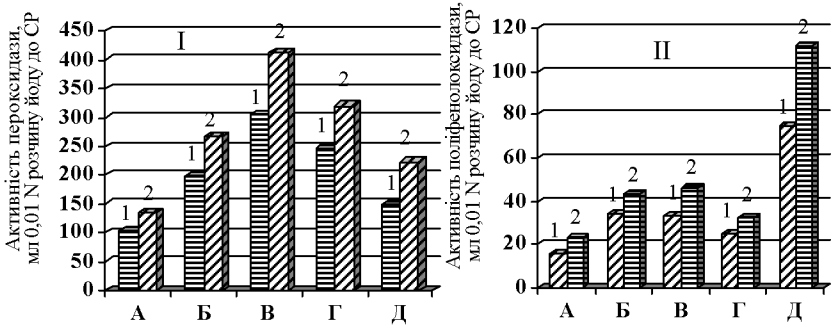

Рисунок 1 – Вплив традиційного заморожування до температури мінус 18°С на активність окиснювальних ферментів плодів та овочів: пероксидази (I) та поліфенолоксидази (II), де: А – морква; Б – гарбуз; В – лимон з цедрою, Г – апельсин з цедрою; Д – журавлина; 1 – вихідна сировина; 2 – заморожена сировина

Так, активація поліфенолоксидази складала від 128,9 (у гарбузі) до 150% (у журавлини), пероксидази від 130% (у моркви та апельсинів з цедрою) до 150% (у журавлини). Отримані результати наукових досліджень узгоджуються з даними вчених, таких як: А.Т. Мархх, А.Ф. Загібалов, Є.Г. Кротов. Під час розморожування плодів та овочів протягом години активність окиснювальних ферментів складала 95…98% по відношенню до вихідної сировини, а втрати клітинного соку – від 10 до 15%.

Уперше виявлено, що під час заморожування плодів та овочів до мінус 18°С з подальшим низькотемпературним подрібненням при -10°С до розміру частинок декількох мікрометрів відбувалась значна активація окиснювальних ферментів у 4…4,5 рази вище, ніж у вихідній сировині (табл. 1, рис. 2, 3). Відомо, що активація молекул ферментів може бути проведена шляхом збільшення їх кінетичної енергії, тобто шляхом збільшення швидкості їх руху за умов підвищення температури. Згідно з теорією видатного вченого – біохіміка А.І. Опаріна під час теплової обробки сировини за температури +35…+50°С відбувається активація ферментів (тобто настає температурний оптимум дії ферментів) в 4…5 разів вище по відношенню до вихідної активності. У зв'язку з цим можна припустити, що і при низькотемпературній деструкції, яка включає низькотемпературну складову, перемішування, дрібнодисперсне подрібнення та наявність дрібних кристалів льоду, які виконують роль активаторів плодів та овочів під час отримання із них однорідних гомогенних кріопаст відбувається суттєва активація окиснювальних ферментів (їх активність збільшується в 4…4,5 рази відносно вихідної активності). Це явище нами виявлено вперше в міжнародній практиці. Механізм цього процесу, очевидно, пов'язаний із тим, що під час кріодеструкції клітин, проходить також деструкція нанокомплексів біополімерів і БАР, самих біополімерів, частина ферментів вивільнюється із зв'язаного

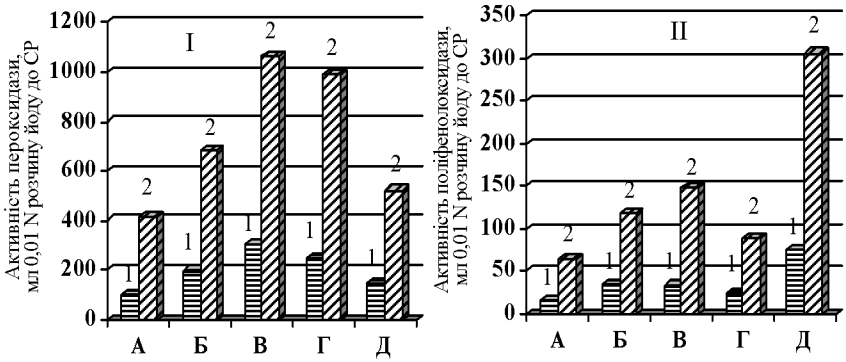

Рисунок 2 – Активація окиснювальних ферментів плодів та овочів шляхом кріодеструкції за умов низькотемпературного подрібнення: пероксидази (І) та поліфенолоксидази (ІІ), де: А- морква; Б – гарбуз; В – лимон з цедрою; Г – апельсин з цедрою; Д – журавлина; 1 – вихідна сировина; 2 – заморожена сировина

стану і переходить у вільний стан, відбувається активація активних центрів ферментів мікрокристалами льоду, які, як відомо, під час подрібнення деякої сировини у ході отримання гомогенних систем (наприклад, молочних коктейлів, морозива та ін.) виступають як структуроутворювачі. У зв'язку з цим можна передбачити те, що в даному випадку мікрокристали льоду рухаються як мікроножі, інтенсифікують процес кріодеструкції та активують активні центри ферментів. Під час розморожування кріопаст висока активність окислювальних ферментів призводить до втрат БАР та погіршення якості продукції.

Таким чином, у разі повільних швидкостей заморожування плодів та овочів та їх подальшого низькотемпературного подрібнення необхідно вжити заходи з інактивації окиснювальних ферментів (наприклад, під час підготовки сировини до заморожування або при кріодеструкції та ін.).

Уперше також виявлено, що при високих та надвисоких швидкостях заморожування до температури мінус 35…40°С, тобто при «шоковому» заморожуванні із застосуванням газоподібного та рідкого азоту окиснювальні ферменти повністю інактивуються, що, очевидно, пов'язано із значною незворотною денатурацією та кріодеструкцією білкових глобул ферментів та повною інактивацією їх активних центрів (табл. 1, рис. 3). Показано, що під час розморожування плодів і овочів, заморожених до -35…-40°С із використанням «шокового» заморожування, протягом однієї години активність окиснювальних ферментів не відновлювалась (табл. 1). Аналогічні закономірності спостерігалися і під час отримання із даної сировини (журавлини, лимонів та апельсинів з цедрою, моркви, гарбуза), наноструктурованих кріопаст (табл. 1, рис. 2, 3).

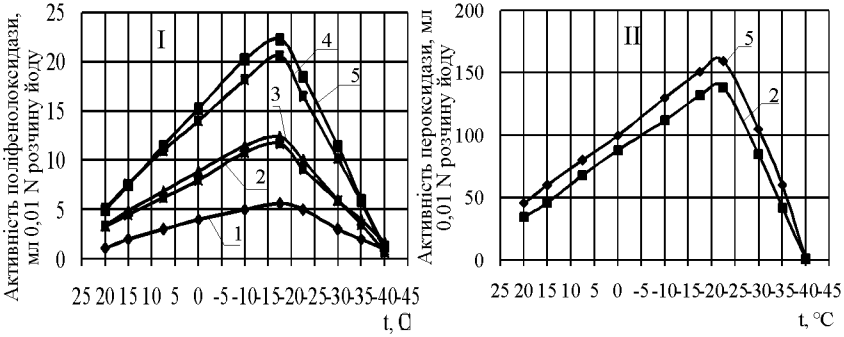

Рисунок 3 – Вплив низької температури та кріодеструкції на активність поліфенолоксидази (I) та пероксидази (II) плодів та овочів: 1 – журавлина подрібнена; 2 – апельсини з цедрою подрібнені; 3 – гарбуз подрібнений; 4 – морква подрібнена; 5 – лимон з цедрою подрібнений

Установлено, що у разі «шокового» заморожування плодів та овочів, а також кріопаст із них не спостерігаються втрати клітинного соку, на відміну від традиційного заморожування. Механізм цього процесу, очевидно, пов'язаний з тим, що під час «шокового» заморожування відбувається також інактивація гідролітичних ферментів, таких як целюлази, пектинази, протеази та інші, які призводять до гідролізу біополімерів клітин, до окремих їх складових, які переходять у розчинну форму, що відображається у втратах клітинного соку.

Отримані результати наукових досліджень із кріодеструкції та «шокового» заморожування плодів та овочів дозволяють по-новому уявити механізм дії низьких температур, низькотемпературного подрібнення та кріодеструкції на окиснювальні ферменти плодів та овочів. На основі отриманих результатів досліджень розроблено новий спосіб інактивації окиснювальних ферментів плодів і овочів шляхом швидкого кріогенного заморожування при отриманні замороженої продукції (як цілих або нарізаних овочів, так і наноструктурованих кріопаст із них) із застосуванням високих та надвисоких швидкостей заморожування з використанням рідкого та газоподібного азоту до мінус 35…40°С, які дозволяють отримати продукти з принципово новими характеристиками.

У роботі отримано нові заморожені продукти із плодоовочевої сировини: наноструктуровані кріопасти з високим вмістом БАР за нанотехнологіями та заморожені овочі з використанням «шокового» заморожування, які за якістю перевершують вихідну сировину. Характеристику БАР плодоовочевих кріопаст порівняно зі свіжими та замороженими плодами та овочами наведено в табл. 2.

Таблиця 2 – **Порівняльна характеристика вмісту БАР у свіжій плодоовочевій сировині, замороженій та в наноструктурованих кріопастах із неї**

Продукт	Масова частка			
	L-аскорбінової кти, мг в 100 г	фенольних сполук (за хлорогеновою кислотою), мг в 100 г	флавонолових глікозидів (за рутином), мг в 100 г	каротину, мг в 100 г
Овочі				
Морква свіжа	8,2	146,0	50,1	7,5
Морква заморожена (часточками)	12,5	196,0	74,2	14,6
Кріопаста з моркви	18,3	242,2	104,8	20,8
Гарбуз свіжий	5,0	88,1	43,1	8,0
Гарбуз заморожений (часточками)	8,2	126,9	69,4	16,4
Кріопаста з гарбуза	11,2	177,2	92,0	28,8
Ягоди				
Журавлина свіжа	28,0	720,4	195,2	0,05
Журавлина заморожена	56,2	1101,4	260,4	0,08
Кріопаста із журавлини	83,8	1350,6	350,4	0,20
Фрукти				
Лимон з цедрою свіжий	40,0	1270,2	470,2	0,12
Лимон з цедрою заморожений (часточками)	60,2	1700,4	682,0	0,15
Кріопаста з лимона з цедрою	81,0	2150,0	810,0	0,20
Апельсин з цедрою свіжий	50,5	980,2	282,0	0,10
Апельсин з цедрою заморожений (часточками)	80,6	1420,4	350,2	0,15
Кріопаста із апельсина з цедрою	110,2	1702,0	450,4	0,25

Показано, що нові наноструктуровані кріопасти із плодоовочевої сировини мають розмір частинок в 10 разів менший, ніж традиційні пасти. Крім того, вони мають принципово нові споживні властивості порівнянно із свіжою та замороженою сировиною: відрізняються у 2…3 рази вищим вмістом низькомолекулярних БАР у вільному стані (відносно свіжої вихідної сировини), мають більш високу засвоюваність живими організмами (в 2…3 рази вищу), більш високу розчинність у воді, диспергованість та ін.

Висновки. Таким чином, уперше в міжнародній практиці виявлено, що під час традиційного заморожування до мінус 18°С та кріодеструкції за умов низькотемпературного подрібнення відбувається

значна активація окиснювальних ферментів (в 4…4,5 разу вище, ніж у вихідній та замороженій сировині). Розкрито механізм цього процесу та розроблено рекомендації щодо низькотемпературної інактивації ферментів. Також вперше виявлено, що під час «шокового» заморожування з використанням високих та надвисоких швидкостей до температури мінус 35…40°С із застосуванням рідкого та газоподібного азоту відбувається повністю інактивація окиснювальних ферментів і під час розморожування продуктів ферменти не відновлюються. Розкрито механізм цього процесу. Розроблена нанотехнологія гомогенізованих наноструктурованих кріопаст із плодів та овочів з використанням рідкого та газоподібного азоту, яка забезпечує не лише збереження всіх БАР, а також дозволяє отримати пасти з принципово новими споживними властивостями, в яких значна кількість БАР (наприклад, аскорбінова кислота, антоціани, каротиноїди та ін.) переходять із зв'язаного стану з біополімерами у вільний (в 2…4 рази вище, ніж у вихідній сировині), а біополімери в значній частині (від 40 до 60%) руйнуються до низькомолекулярних складових (амінокислот, моноцукрів, галактуронової кислоти та ін.). Розроблено проекти НТД на наноструктуровані кріопасти із плодів та овочів та оздоровчі продукти, які розроблено на їх основі. Нові кріопасти та функціональні оздоровчі продукти, такі як: соки з м'якоттю, пюре, морозиво, напої, комбіновані рослинно-молочні коктейлі на основі сироватки, знежиреного молока, сиркові вироби – пройшли апробацію та дегустацію у виробничих умовах на підприємствах м. Харкова: НПФ «КРІАС-1», АТЗТ «Хладопром», ТОВ СУІП «Полюс ЛТД».

Список літератури

1. Кретович, В. П. Биохимия растений [Текст] / В. П. Кретович – М. : Высш. шк., 1980. – 447 с.

2. Алмаши, Э. Быстрое замораживание пищевых продуктов [Текст] / Э. Алмаши, Л. Эрдели, Г. Шарой. – М. : Легкая и пищевая пром-сть, 1981. – 408 с.

3. Павлюк, Р. Ю. Новые технологии витаминных углеводсодержащих фитодобавок и их использование в продуктах профилактического действия [Текст] : монография / Р. Ю. Павлюк, А. И. Черевко, И. С. Гулий; Харьк. гос. академия технологии и организации питания, Укр. гос. ун-т пищ. техн.. – Х.; К., 1997. – 285 с.

4. Нове в технології заморожування ягід у швидкозаморожувальному тунельному апараті із застосуванням газоподібного азоту [Текст] / Г. Д. Гамуля [та ін.] // Прогресивні техніка та технології харчових виробництв ресторанного господарства і торгівлі : зб. наук. пр. / ХДУХТ. – Х., 2008. – С. 58–66.

Отримано 30.09.2009. ХДУХТ, Харків.

© Р.Ю. Павлюк, В.В. Погарська, Т.В. Крячко, С.М. Лосєва, А.С. Маціпура, Д.О. Глубокий, С.С. Стоєв,, 2009.