

*Institut für Lebensmittelchemie der Bundesforschungsanstalt
für Ernährung, Karlsruhe*

Thermische Inaktivierung und Lagerungsverhalten technologisch wichtiger Enzyme

I. Peroxidase aus Meerrettich und Spinat

K. H. Park und A. Fricker

Mit 6 Abbildungen und 5 Tabellen

(Eingegangen am 4. Februar 1977)

1.0. Einleitung

Der Gefrierkonservierung von Lebensmitteln, z. B. Gemüse, muß in vielen Fällen ein Erhitzungsschritt vorangehen, das sogenannte Blanchieren. Damit wird u. a. eine Inaktivierung von Enzymen erreicht, welche für die Lagerungsstabilität von Bedeutung ist. Bei diesen Erhitzungsprozessen können jedoch Qualitätsminderungen durch Abbau wertvoller Inhaltsstoffe eintreten, wenn stärker oder länger erhitzt wird, als eben für die Ausschaltung der relevanten Enzyme notwendig ist, wenn also „überhitzt“ wird. Zur Erhaltung optimaler Qualität darf das zur Enzymaktivierung (und zur teilweisen Abtötung von Mikroorganismen) notwendige Maß nicht überschritten werden.

Die Kontrolle des Blanchierprozesses erfolgt meist über Peroxidasetests: Das Material wird so lange erhitzt, bis dieses Enzym mit dem jeweils angewendeten Verfahren nicht mehr nachweisbar ist. Diese sehr grobe „Presence-absence“-Methode entspricht nicht der Forderung nach einer optimalen Steuerung des Erhitzungsprozesses. Um diesen optimieren zu können, sind u. a. systematische Kenntnisse über das thermische Verhalten möglichst vieler einzelner für die Qualität wichtiger Enzyme über einen ausgedehnten Temperatur-Zeit-Bereich notwendig.

Die Qualitätsminderungen bei einer Hitzebehandlung von Lebensmitteln sind vom Temperatur-Zeit-Produkt der Hitzebehandlung abhängig; die nachteiligen Effekte sind im allgemeinen bei Hochtemperatur-Kurzzeitverfahren am geringsten (1, 2). Bei diesen Verfahren könnten aber von relativ hitzestabilen Enzymen, wie z. B. der Peroxidase, Restaktivitäten zurückbleiben. Auch Regenerierungserscheinungen während der Lagerung sind bekannt geworden – ein weiterer Hinweis auf die Notwendigkeit systematischer Untersuchungen über einen weiten Temperatur-Zeit-Bereich.

Über die thermische Inaktivierung von Meerrettich-Peroxidase wurde bereits in zahlreichen Untersuchungen berichtet (z. B. 3, 4, 5). Zum thermischen Verhalten von Spinatperoxidase sei auf die Untersuchungen von Duden und Mitarbeitern (6) hingewiesen, die Spinatblätter unter praxis-

nahen Bedingungen blanchierten und den Inaktivierungsverlauf der Peroxidase ermittelten. Delincée (7) untersuchte die verschiedene Hitzebeständigkeit von Isoenzymen der Peroxidase aus Spinat.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Temperaturbereich von 60 bis 120 °C und ein relativ weiter Zeitbereich bei der thermischen Behandlung angewendet; da der Einfluß des pH-Wertes bei der Inaktivierung erheblich sein kann, wurde auch dieser Effekt zunächst in definierten Modellsystemen untersucht. Andererseits ist im Lebensmittel sowohl eine Schutzwirkung durch die Anwesenheit von Zellinhaltsstoffen als auch eine Verringerung der Thermostabilität durch solche Stoffe möglich. Um feststellen zu können, wie weit Modelluntersuchungen auf die sehr komplexen Systeme, wie sie in Lebensmitteln vorliegen, anwendbar sind, wurde das thermische Verhalten von Spinatperoxidase im Gewebehomogenat mit demjenigen von aus Spinat extrahierter Peroxidase verglichen.

2.0. Experimenteller Teil

2.1. Versuchsmaterial

2.1.1. Spinat

Frühjahrsspinat (Sorte Matares) wurde bei -50 °C eingefroren und bei einer Plattentemperatur von ca. 30 °C gefriergetrocknet. Die gefriergetrockneten Spinatblätter wurden mit einer Ultrazentrifugalmühle (0,08-mm-Sieb) fein gemahlen und in dicht schließenden Gefäßen zusammen mit Blaugel bei 4 °C gelagert.

2.1.2. Peroxidase aus Spinat

Das gemahlene, in destilliertem Wasser suspendierte gefriergetrocknete Spinatpulver wurde nach 30 min Stehen bei Zimmertemperatur durch ein Käsetuch filtriert. Das Filtrat wurde bei 4 °C mit Ammoniumsulfat versetzt (40 bis 85 % Sättigung), der Niederschlag in 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,0 gelöst und gegen destilliertes Wasser dialysiert. Die dialysierte Enzymlösung wurde bei -30 °C eingefroren und bei den unter 2.1.1. genannten Bedingungen gefriergetrocknet.

2.1.3. Herstellung von Spinat-Suspension und -Extrakt

Fein gemahlene gefriergetrocknete Spinatpulver wurde in 0,1 M Phosphatpuffer pH 6,0 homogenisiert (= „Suspension“). Die Spinatsuspension wurde nach 20 Minuten langem Stehen bei Zimmertemperatur durch Filterpapier filtriert. Dabei erhält man etwa 50 % der Gesamtaktivität des Enzyms im Filtrat (= „Extrakt“).

2.1.4. Peroxidase aus Meerrettich (250 U/mg, Reinheitsgrad I)

wurde von Fa. Boehringer (Mannheim) bezogen.

2.2. Bestimmung der Enzymaktivität

2.2.1. Die Peroxidase-Aktivität

wurde bei Meerrettich-Peroxidase nach einer modifizierten Guajacol-Methode, bei Spinatperoxidase nach der o-Phenylendiamin-Methode bestimmt.

2.2.1.1. Guajacol-Methode

2,95 ml 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,0 wurden mit 0,05 ml 20 mM Guajacol-Lösung und 0,05 ml Peroxidaselösung in der angegebenen Reihenfolge in einer Küvette vermischt und die Reaktion durch Zugabe von 0,01 ml 40 mM H₂O₂-

Lösung gestartet. Die Extinktion wurde bei 470 nm in Spektralphotometer (Zeiss PMQ II) kontinuierlich verfolgt. Die Extinktionsänderung pro Zeiteinheit ($\Delta E/\Delta t$) entspricht der Aktivität.

2.2.1.2. o-Phenylendiamin-Methode

Zu 2,5 ml 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,0 wurden in einer Küvette 0,2 ml 0,04 M H_2O_2 -Lösung und 0,5 ml Spinatperoxidase-Lösung gegeben. Nach Zugabe von 0,2 ml 0,3 M o-Phenylendiaminlösung (550 mg in 10 ml H_2O + 3 ml Äthanol) wurde die Extinktion bei 420 nm kontinuierlich gemessen.

2.3. Thermische Behandlung

Zur Erhitzung im Temperaturbereich unter 100 °C wurden 2 ml Enzymlösung schnell in 28 ml in einem Erlenmeyerkolben auf die gewünschte Temperatur vorerhitzte Pufferlösung eingeführt („Kolbenmethode“). Durch intensives Mischen mittels eines Magnetrührers war eine sehr kurze Aufheizungszeit erreichbar. Nach einer vorgegebenen Zeit wurde die erhitzte Enzymlösung abpipettiert und schließlich in ein im Eisbad stehendes Reagenzglas überführt.

Zur Erhitzung über 100 °C wurde eine Strömungsapparatur angewendet (8). Die Versuchslösung wurde in die Apparatur mit einer Laborpumpe unter einem Druck von 3–6 bar kontinuierlich unter Verwendung eines Edelstahlröhrchens (Innendurchmesser 2,6 mm, Wandstärke 0,35 mm) durch ein Vorbad (Aufheizbad) und dann durch ein Hauptbad (Hitzebehandlungsbad) hindurchgeleitet. Die Temperatur im Vorbad lag um 20 bis 50 °C über der des Hauptbades, so daß eine möglichst kurze Aufheizungszeit erreicht wurde und die Enzymlösung kurz vor Erreichen der gewünschten Endtemperatur in das Hauptbad gelangte. Danach wurde die Lösung rasch in einem nachgeschalteten Kühler und dann in einem Eisbad abgekühlt. Die Fördermenge wurde so eingestellt, daß stets turbulente Strömung (Reynolds-Zahl $Re < 2300$) im Röhrchen herrschte, da bei laminarer Strömung die effektive Verweilzeit der einzelnen Volumenelemente des Durchsatzstromes verschieden lang ist¹⁾.

3.0. Ergebnisse

3.1. Thermische Inaktivierung von Meerrettich-Peroxidase bei verschiedenen pH-Werten

Zur Untersuchung des pH-Einflusses auf die Hitzeinaktivierung wurde Meerrettichperoxidase in Phosphatpufferlösung (pH 4,0–8,0) hitzebehandelt. Abbildung 1a und 1b stellen typische Kurven der Peroxidase-Inaktivierung bei pH 6,0 dar. Bei anderen pH-Werten wurde eine ähnliche Tendenz festgestellt. Es ist zu erkennen, daß sich die Inaktivierungsgeschwindigkeit nach einer Anfangsphase plötzlich verlangsamt und auch nach sehr langen Erhitzungszeiten noch Enzymaktivität nachgewiesen werden kann. Demnach verläuft die Hitzeinaktivierung der Peroxidase nicht nach einer Reaktion 1. Ordnung, wobei diese Tendenz bei höheren Temperaturen nicht mehr deutlich zu erkennen ist. Um die pH-Abhängigkeit der D-Werte²⁾ bei verschiedenen Temperaturen vergleichen zu können, wurden die entsprechenden Werte des ersten steilen Kurventeils und die des zweiten, relativ flachen Kurventeils getrennt ermittelt. So ermit-

¹⁾ Für die Berechnung der Reynolds-Zahl ist die Kenntnis der Viskosität erforderlich; sie wurde mit dem Höppler-Viskosimeter gemessen.

²⁾ D-Wert = die Zeit, die zur Reduzierung der Enzymaktivität auf ein Zehntel ihres Ausgangswertes erforderlich ist.

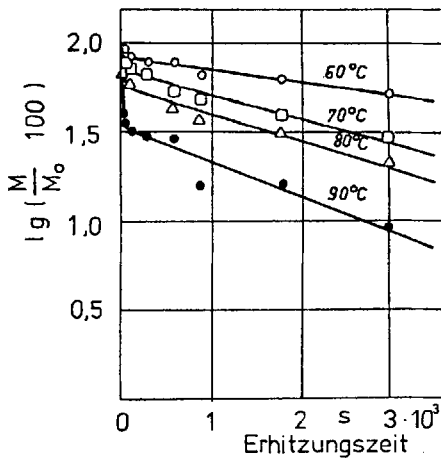


Abb. 1a.

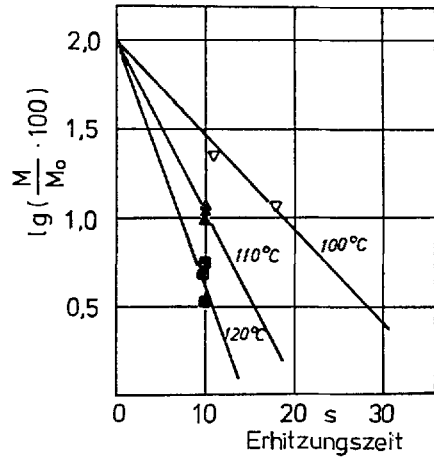


Abb. 1b.

Abb. 1a. Hitzeinaktivierung von Meerrettichperoxidase bei 60–90 °C in Abhängigkeit von der Erhitzungszeit bei pH 6,0. M_0 : Anfangsenzymaktivität, M : Restenzymaktivität.

Abb. 1b. Hitzeinaktivierung von Meerrettichperoxidase bei 100–120 °C in Abhängigkeit von der Erhitzungszeit bei pH 6,0.

telte D-Werte sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Die D-Werte des ersten Kurventeils wurden als D_1 , die des zweiten Kurventeils als D_2 bezeichnet.

In Abbildung 2 ist zu sehen, daß die D-Werte des ersten Kurventeils (D_1) eine geringe pH-Abhängigkeit aufweisen. Dagegen zeigen die D_2 -Kurven ein ausgeprägtes Maximum zwischen pH 6 und 7, entsprechend einer maximalen Hitzeresistenz in diesem Bereich. Aus den D-Werten

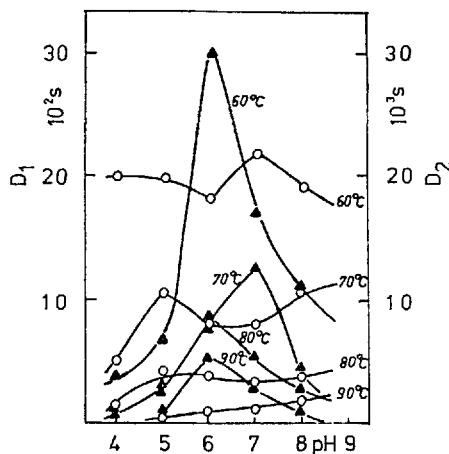


Abb. 2. Einfluß des pH-Wertes auf die Inaktivierungsgeschwindigkeit von Meerrettichperoxidase bei verschiedenen Temperaturen. $\odot D_1$: aus den steilen Kurventeilen, $\blacktriangle D_2$: aus den flachen Kurventeilen.

Tab. 1. Thermische Inaktivierung von Meerrettich-Peroxidasen.

D- und z-Werte aus den ersten steilen Kurventeilen					D-Werte aus den zweiten flachen Kurventeilen							
pH	D ₁ (s)				z (°C)	pH	D ₂ (s)					
	60° C	70° C	80° C	90° C			100° C	110° C	120° C	60° C	70° C	80° C
4	1998	500	120		16,5	4	3710	1080	660			
5	1980	1060	420	60	18,8	5	6660	2800	2410	438		
6	1800	702	396	102	19	6	30000	7980	7000	5330		
7	2160	798	342	120	10,4	7	17000	12600	5340	3150		
8	1920	1080	435	198	7,2	8	11000	4000	2700	900		
					24,3							
					30							

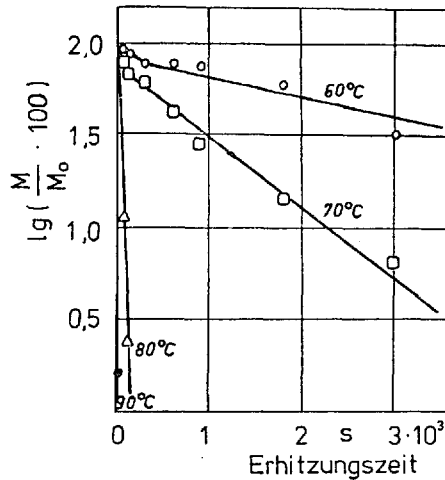


Abb. 3. Hitzeinaktivierung von isolierter Spinatperoxidase bei verschiedenen Temperaturen in Abhängigkeit von der Erhitzungszeit bei pH 6,0.

ermittelte z-Werte³⁾ sind ebenfalls aus Tabelle 1 ersichtlich. Die z-Werte wurden aus den D-Werten der ersten steilen Kurventeile ermittelt, da die Hauptinaktivierung mit mehr als 50 % der gesamten Aktivität in der ersten Phase stattfindet. Die z-Werte waren bei niedrigeren pH-Werten kleiner als bei höheren.

3.2. Thermische Inaktivierung von Spinatperoxidase

3.2.1. Isolierte Peroxidase aus Spinat

Um die Hitzebeständigkeit der Spinatperoxidase ohne Einfluß von im Spinat vorhandenen Begleitstoffen zu untersuchen, wurde die aus Spinat

Tab. 2. Hitzeinaktivierung von Spinat-Peroxidase.

Spinatauszug	pH	D (s)					z (°C)
		50	60	70	80	90°C	
Isoliertes Enzym	6,0		2560	744	79,8	14	13
Extrakt	4,0		280	100	20		18,3
	5,0		702	200	40		16,8
	5,5		500	162	40		18,3
	6,0		600	120	40	5,8	18
	7,0		282	60	19,8		18
	8,0	420	198	30			18
Suspension	6,0		840	282	60		17,5

³⁾ z-Wert = Temperaturerhöhung in °C, die zur Verringerung des D-Wertes auf ein Zehntel führt.

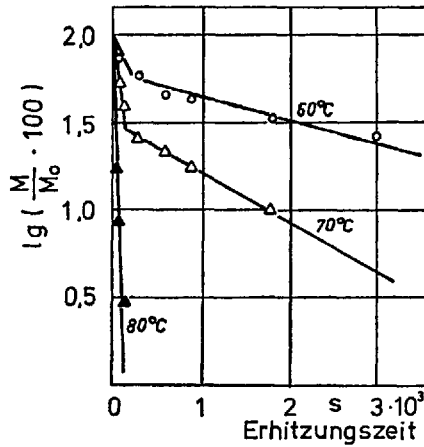


Abb. 4. Hitzeeinaktivierung von Spinatperoxidase (Suspension) bei verschiedenen Temperaturen in Abhängigkeit von der Erhitzungszeit bei pH 6,0.

extrahierte Peroxidase (siehe 2.1.2.) in 0,1 M Phosphatpufferlösung von pH 6,0 hitzeinaktiviert. In Abbildung 3 sind die Inaktivierungskurven dargestellt. Bei Temperaturen von 60 ° bis 70 °C treten wie bei Meerrettich-Peroxidase Knickpunkte auf. Die Temperaturabhängigkeit der Enzyminaktivierung (z-Wert) wurde aus den D-Werten ermittelt. Die extrahierte Spinatperoxidase weist bei pH 6,0 einen kleineren z-Wert auf als Meerrettichperoxidase ($z = 13$ °C gegenüber 25,5 °C, siehe Tab. 2).

3.2.2. Peroxidase in der Spinatsuspension

Die Ergebnisse sind in Abbildung 4 und Tabelle 2 dargestellt. Im Vergleich zum z-Wert bei extrahierter Spinatperoxidase wurde in der Suspension ein höherer Wert gemessen.

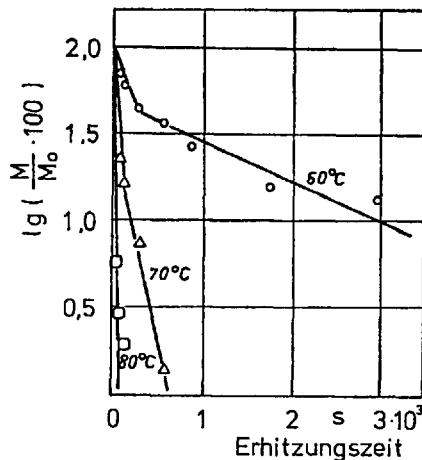


Abb. 5. Hitzeeinaktivierung von Spinatperoxidase (Extrakt) bei verschiedenen Temperaturen in Abhängigkeit von der Erhitzungszeit bei pH 6,0.

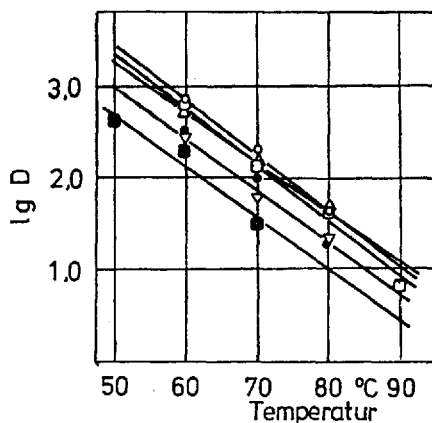


Abb. 6. D-Werte von Spinatperoxidase (Extrakt) in Abhängigkeit von der Temperatur bei verschiedenen pH-Werten. pH-Wert: ● 4,0, ○ 5,0, △ 5,5, □ 6,0, ▽ 7,0, ■ 8,0.

3.2.3. Peroxidase im Extrakt

In Abbildung 5 ist die Inaktivierungskurve bei pH 6,0 als typisches Beispiel dargestellt. Abbildung 6 gibt die Abhängigkeit der D-Werte von der Temperatur bei verschiedenen pH-Werten wieder; die entsprechenden Zahlen sind u. a. aus Tabelle 2 zu ersehen. Die D-Werte sind im Bereich von pH 5,0 und 6,0 größer als bei pH 4,0, 7,0 und 8,0. Das bedeutet, daß die Spinatperoxidase im Extrakt bei pH 5,0 und 6,0 am hitzeresistentesten ist. Die z-Werte sind dagegen im Bereich von pH 4 bis 8 unabhängig vom pH-Wert. Sie liegen zwischen 16,8 und 18,3 und sind somit deutlich höher als der z-Wert des extrahierten Enzyms bei pH 6,0.

3.3. Verhalten der hitzebehandelten Peroxidase beim Lagern

3.3.1. Meerrettich-Peroxidase

Es wurde festgestellt, daß nach Erhitzung auf 60 ° bis 90 °C für die im Verlaufe einer 20stündigen Lagerung bei Zimmertemperatur eintretende Regenerierung nur der pH-Wert, nicht aber Temperatur und Erhitzungsdauer entscheidend sind, wie dies bereits Lu und Whitaker (3) beobachtet hatten. Die in Tabelle 3 aufgeführten Werte sind entsprechende Mittelwerte für Temperaturen von 60 °C bis 90 °C. Man kann aus Tabelle 3

Tab. 3. Regenerierung der auf 60° bis 90 °C erhitzten Meerrettich-Peroxidase (Mittelwert von 10 bis 12 Messungen bei 60, 70, 80 und 90 °C), bezogen auf das Ausgangsmaterial. Lagerung 20 h bei Zimmertemperatur.

pH	% Regenerierung
4	-13,4
5	6,8
6	5,4
7	10,5
8	7,1

Tab. 4. Regenerierung der auf 100° bis 120° C erhitzten Meerrettich-Peroxidase, bezogen auf das Ausgangsmaterial. Lagerung 20 h bei Zimmertemperatur (Mittelwert aus 2 bis 3 Messungen).

pH	% Regenerierung		
	100°	110°	120° C
6	15,8	13,6	21,8

entnehmen, daß die Regenerierung bei pH 7,0 und 8,0 größer ist als bei niedrigeren pH-Werten. Bei pH 4,0 wurde das Enzym während der Lagerung weiter inaktiviert.

Peroxidase, die auf 100 ° bis 120 °C erhitzt wurde, zeigte eine wesentlich stärkere Neigung zur Regenerierung als das auf 60 ° bis 90 °C erhitze Enzym. Daher sind die Daten für den Temperaturbereich von 100 ° bis 120 °C in Tabelle 4 getrennt dargestellt. Der Mittelwert der Regenerierung betrug bei pH 6 etwa 17 %.

3.3.2. Spinat-Peroxidase

Aus Tabelle 5 ist zu ersehen, daß sich die Peroxidase im Spinatextrakt zwischen pH 5,5 und 8,0 deutlich regenerierte, während die Restaktivität im Gegensatz dazu bei pH 4,0 und 5,0 abnahm. Vergleicht man die Regenerierung der Peroxidase in den verschiedenen Spinatauszügen bei pH 6,0, so zeigt die isolierte Spinat-Peroxidase eine geringere Regenerierungsneigung, als dies im Extrakt und in der Suspension zu beobachten war.

Im Vergleich zur Meerrettich-Peroxidase trat bei Spinat-Peroxidase eine etwas stärkere Regenerierung im Bereich von pH 5,5 bis 8,0 auf. Dagegen verminderte sich bei der Spinat-Peroxidase die Aktivität bei pH 5,0, während Meerrettich-Peroxidase bei diesem pH noch eine deutliche Regenerierung erkennen ließ.

4.0. Diskussion

Vergleicht man den hier ermittelten z-Wert für Meerrettich-Peroxidase in Phosphatpufferlösung ($z = 24,3$ °C bei pH 7,0) mit dem von Joffe und

Tab. 5. Regenerierung der erhitzten Spinat-Peroxidase (Mittelwert von 10 bis 12 Messungen bei 50 bis 90° C). Lagerung 20 h bei Zimmertemperatur.

Spinatauszug	pH	% Regenerierung
Isoliertes Enzym	6,0	5,7
Extrakt	4,0	-11,0
	5,0	- 5,5
	5,5	12,1
	6,0	8,0
	7,0	13,1
	8,0	8,0
Suspension	6,0	9,6

Ball (4) angegebenen Wert ($z = 27,6^\circ\text{C}$ bei pH 7,0) – beide wurden unter vergleichbaren Bedingungen ermittelt –, so stimmen die Werte relativ gut überein. Da der Verlauf der Hitzeinaktivierung der Peroxidase sehr stark von der Enzymherkunft und von Milieufaktoren abhängt, ist dies bei unmittelbaren Vergleichen mit den in der Literatur angegebenen z -Werten zu berücksichtigen. Die z -Werte schwanken zwischen 16° und 48°C (9, 10, 11, 12) je nach Herkunft des Enzyms und dessen Zustand beim Erhitzen. Die D -Werte schwanken ebenfalls sehr, je nach Ausgangsmaterial und Milieufaktoren. Für Spinat-Peroxidase sind verschiedene z -Werte in der Literatur zu finden. Mit dem von Resende und Mitarb. (10) gefundenen z -Wert für Spinatpüree ($16,1^\circ\text{C}$) stimmt der in der vorliegenden Arbeit ermittelte Wert (18°C , s. Tab. 2) relativ gut überein. Die z -Werte 33°C und 45°C , die Duden und Mitarb. (6) für Frühjahrs- und Herbstspinat ermittelten, weichen dagegen stark davon ab. Dieser relativ große Unterschied ist wahrscheinlich durch das verschiedene Erhitzungsverfahren bedingt, da die genannten Autoren den Spinat in Form von Blättern blanchiert hatten. Dieser Unterschied kann analog der Beobachtung von Winter (13) so erklärt werden, daß die Zerfallgeschwindigkeit von der Stückgröße und damit der Wärmeleitung abhängt.

Die Inaktivierung der hier untersuchten Enzyme verläuft bei Temperaturen unter 90°C in zwei Phasen, die durch Knickpunkte in den Inaktivierungskurven markiert sind. Da wegen der Existenz einer langsamen Inaktivierungsphase noch nach längerer Erhitzungszeit eine Restaktivität nachzuweisen ist, besonders wenn eine sehr empfindliche Nachweismethode angewendet wird, kann die zweite langsame Phase zu Schwierigkeiten bei der Kontrolle des Blanchierprozesses führen.

Böttcher (14) gab an, wie eine verbleibende Peroxidase-Restaktivität zu bewerten ist, um den optimalen Blanchiergrad bei Gemüse erkennen zu können. Dabei wurden etwa 1–10 % Restaktivität je nach Gemüseart für optimal gehalten. Sofern Wasserstoffperoxid, das erste Substrat für Peroxidase, in Gemüse nicht vorhanden ist, kann die Anwesenheit einer Peroxidase-Restaktivität für die Lebensmittelqualität bedeutungslos sein. So fanden Bruemmer und Mitarb. (15) trotz Vorhandensein von Peroxidase in Orangensaft keine Oxidationsprodukte. Duden (17) demonstrierte, daß die in Apfelsaft vorhandene erhebliche Peroxidaseaktivität keine Oxidationswirkung ausübt, was eindeutig auf das Fehlen von H_2O_2 zurückgeführt werden konnte. Pincent (16) stellte im Falle von Erbsen fest, daß wahrscheinlich die regenerierte Peroxidase während der Lagerung keine Qualitätsverschlechterung verursachte.

Vergleicht man die Inaktivierungsdaten im Modellsystem mit denen im natürlichen Milieu, so findet man eine gewisse Diskrepanz. Extrahierte Spinatperoxidase in Pufferlösung verhält sich anders als das Enzym im Spinatextrakt bzw. in der Suspension (s. Tab. 2). Die Verschiedenheit des thermischen Verhaltens der Enzyme beruht wahrscheinlich auf den verschiedenen Milieubedingungen, unter denen die thermische Behandlung durchgeführt wurde.

Zusammenfassung

Die thermische Inaktivierung und das Lagerungsverhalten von Peroxidase aus Meerrettich und Spinat wurden in definierten Systemen, bei Spinat auch

innerhalb des natürlichen Verbandes, untersucht. Die Inaktivierungskurven wiesen bei beiden Enzymen einen Knickpunkt auf, der bei niedrigen Temperaturen deutlich, bei höheren Temperaturen dagegen nicht mehr erkennbar war. Aus den Inaktivierungskurven wurden D-Werte ermittelt, aus denen sich z-Werte von 25,5 °C für Meerrettich-Peroxidase, von 13 °C für isolierte Peroxidase und von 18 °C für Peroxidase im Spinatextrakt ergaben. Meerrettich-Peroxidase war bei pH 6,0 und Spinat-Peroxidase zwischen pH 5,0 und 6,0 besonders hitzeresistent; bei pH 4,0 waren beide sehr hitzelabil. Die aus Spinat isolierte Peroxidase verhielt sich beim Erhitzen anders als das Enzym in Spinat-Extrakt oder -Suspension. Die beobachtete Diskrepanz deutet die Nichtübertragbarkeit gewisser Modelluntersuchungen auf Lebensmittel an. Erhitzte Peroxidasen aus Meerrettich und Spinat zeigten eine Regenerierung während der Lagerung, die vom pH-Wert abhängig war.

Summary

The thermal inactivation and storage behaviour for horseradish and spinach peroxidases were investigated in defined systems, in spinach also within its natural environment. The inactivation curves of either enzyme show a sharp bend which is clearly visible at low, but not at higher temperatures. The D-values were taken from the inactivation curves. z-values resulting from the D-values were 25.5 °C for horseradish peroxidase, 13 °C for isolated peroxidase and 18 °C for peroxidase in spinach extract. Horseradish peroxidase was relatively heat-resistant at pH 6.0, spinach peroxidase at pH 5.0-6.0; both enzymes were found to be highly susceptible to heat at pH 4.0. Peroxidase isolated from spinach responded differently to heating than the enzyme in spinach extract or suspension. This discrepancy indicates that certain model experiments cannot be transferred to foods. Heated peroxidase from horseradish and spinach were found to regenerate during storage; the extent of regeneration depended on the pH.

Literatur

1. Loncin, M., *Verfahrenstechnik* 7, 195 (1973).
2. Paulus, K. *Die Ernährungswirtschaft/Lebensmitteltechnik* 18, 12 (1971).
3. Lu, A. T., J. R. Whitaker, *J. Food Sci.* 39, 1173 (1974).
4. Joffe, F. M., C. O. Ball, *J. Food Sci.* 27, 587 (1962).
5. Winter, E., *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* 145, 3 (1971).
6. Duden, R., A. Fricker, K. Heintze, K. Paulus, H. Zohm, *Lebensm.-Wiss. u. Technol.* 8, 147 (1975).
7. Delincée, H., *Lebensm.-Wiss. u. Technol.* 8, 217 (1975).
8. Park, K. H., Dissertation Uni. Karlsruhe 1976.
9. Farkas, D. F., S. A. Goldblith, B. E. Proctor, *Food Eng.* 28, 262 (1956).
10. Resende, R., F. J. Francis, C. R. Stumbo, *J. Food Technol.* 23, 63 (1969).
11. Zoueil, M. E., W. B. Esselen, *Food Res.* 24, 119 (1959).
12. Vetter, J. L., A. I. Nelson, M. P. Steinberg, *Food Technol.* 12, 244 (1958).
13. Winter, E., *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* 141, 201 (1969).
14. Böttcher, H., *Die Nahrung* 19, 173 (1975).
15. Bruemmer, J. H., B. Roe, E. R. Bowen, *J. Food Sci.* 41, 186 (1976).
16. Pinsent, B. R. W., *J. Food Sci.* 27, 120 (1962).
17. Duden, R., *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* 125, 382 (1964).

Anschrift der Verfasser:

K. H. Park und A. Fricker, Institut für Lebensmittelchemie der Bundesforschungsanstalt für Ernährung, 7500 Karlsruhe.