

Význam enzymů ve výživě člověka

Vendula Sedlačková

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Vendula SEDLAČÍKOVÁ**
Osobní číslo: **T10889**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin-specializace
Technologie mléka a mléčných výrobků**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Význam enzymů ve výživě člověka**

Zásady pro vypracování:

1. Charakteristika enzymů vyskytujících se v potravinách.
2. Vlivy působící na enzymovou aktivitu v potravinách.
3. Přirozené potravinové zdroje enzymů pro člověka.
4. Dopňkové zdroje enzymů.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] VODRÁŽKA, Z., RAUCH, P., KÁŠ, J. Enzymologie. 3. vydání. Praha, Vysoká škola chemicko-technologická, 1998. 171 str. ISBN 80-7080-330-4.

[2] MURRAY, Robert K. Harperova biochemie. Vyd. v ČR 4., V H & H 3. Praha: H & H, 2002, ix, 872 s. ISBN 80-7319-013-3.

[3] OPLETAL, Lubomír. Přírodní látky a jejich biologická aktivita. Vyd. 1. Praha: Karolinum, 2010, 378 s. ISBN 978-80-246-1884-5.

[4] Plant Foods for Human Nutrition. Springer Science & Business Media B.V.. ISSN 0921-9668

Vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Martina Bučková, Ph.D.

Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

16. ledna 2013

Termín odevzdání bakalářské práce:

2. května 2013

Ve Zlíně dne 4. února 2013



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 9.5.2013


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce je zaměřena na výskyt enzymů v potravinách a faktory ovlivňující jejich aktivitu. Pozornost je věnována enzymům, které se přirozeně vyskytují v potravinách, ale jsou zmíněny i enzymy přidávané do potravin z technologických důvodů. Význam enzymů ve stravě člověka je dán způsobem zpracování suroviny, podmínkami skladování i kulinární úpravou. Enzymy je možné přijímat také ve formě potravinových doplňků nebo léčiv.

Klíčová slova: enzymy, léčiva, potravinové doplňky

ABSTRACT

The bachelor thesis is focused on the enzymes presence in foodstuffs and the factors affecting their activity. The attention is also given to enzymes that naturally occur in foodstuffs but there are also mentioned the enzymes added to food for technological purposes.

The enzymes importance in the human diet is determined by the way of raw materials processing, storage conditions as well as culinary treatment. It is also possible to use enzymes in the form of food supplements or drugs.

Keywords: enzymes, drugs, food supplements

Na tomto místě chci poděkovat Mgr. Martině Bučkové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, vstřícný přístup a trpělivost při zpracování mé bakalářské práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1 ENZYMY	12
1.1 HISTORIE ENZYMŮ.....	12
1.2 STRUKTURA MOLEKUL, NÁZVOSLOVÍ A KLASIFIKACE ENZYMŮ	13
1.3 VYUŽITÍ ENZYMŮ	15
1.3.1 Biomedicínské aplikace	15
1.3.2 Využití enzymů v průmyslu a zemědělství	16
1.3.3 Využití enzymů v životním prostředí.....	16
1.3.4 DNA-technologie	17
2 ENZYMY VYSKYTUJÍCÍ SE V POTRAVINÁCH.....	18
2.1 ENZYMY ROSTLINNÉHO PŮVODU	18
2.2 ENZYMY ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU	20
2.3 ENZYMY MIKROBIÁLNÍHO PŮVODU	21
2.4 ENZYMY PŘIDÁVANÉ PŘI VÝROBĚ POTRAVIN	22
3 VLIVY PŮSOBÍCÍ NA ENZYMOVOU AKTIVITU.....	24
3.1 VLIV PODMÍNEK PROSTŘEDÍ NA ENZYMOVOU AKTIVITU.....	24
3.1.1 Vliv teploty.....	24
3.1.2 Vliv pH.....	25
3.1.3 Vliv aktivity vody	25
3.1.4 Ostatní vlivy	26
3.1.5 Enzymové změny	26
3.2 INHIBITORY ENZYMŮ	27
3.2.1 Inhibitory proteáz	28
3.2.2 Inhibitory sacharáz	29
4 PŘIROZENÉ POTRAVINOVÉ ZDROJE ENZYMŮ PRO ČLOVĚKA.....	30
4.1 OVOCE	30
4.2 ZELENINA.....	31
4.3 OBILOVINY.....	32
4.4 MLÉKO	32
4.5 VAJEČNÝ BÍLEK.....	33
4.6 MASO.....	33
4.7 MED	34
5 DOPLŇKOVÉ ZDROJE ENZYMŮ	36
5.1 LÉČIVA.....	36
5.2 POTRAVINOVÉ DOPLŇKY	38
5.2.1 Potravinové doplňky pro zvířata	39
5.2.2 Potravinové doplňky pro člověka.....	39
ZÁVĚR	41
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	42

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	49
SEZNAM OBRÁZKŮ	50
SEZNAM TABULEK.....	51

ÚVOD

Enzymy jsou biokatalyzátory, které urychlují a řídí biochemické reakce v živém organismu. Tělo si enzymy syntetizuje samo a také je přijímá potravou do gastrointestinálního traktu, kde se mohou účastnit procesu trávení.

Enzymy vyskytující se v potravinách mohou být rostlinného, živočišného, mikrobiálního původu, nebo se může jednat o enzymy záměrně přidávané do potravin. Enzymy hrají důležitou roli ve změnách při skladování a technologickém zpracování potravin. Enzymovou aktivitu lze ovlivnit změnou podmínek prostředí nebo přítomností inhibitorů enzymů.

Prospěšnost enzymů znaly již domorodé kmeny v dávné minulosti, které neměly o existenci těchto látek ani tušení, ale velmi dobře uměly využít blahodárné účinky rostlin obsahující enzymy. Mezi nejznámější patří bromelin z ananasu nebo papain z nezralé papáje. S rostoucími znalostmi o významu a působení enzymů se začaly postupně rozšiřovat vědomosti o jejich možném využití v léčbě řady onemocnění.

Organismus přijímá nejvíce enzymů ze syrové stravy, např. z ovoce, zeleniny, obilovin, mléko aj., nebo je může přijímat formou doplňků stravy. V organismu se enzymy uplatňují i jako léčiva, které napomáhají trávení, urychlují hojení ran, působí proti zánětlivým procesům a mnoha dalším.

Cílem této práce je zmapovat možné zdroje enzymů v naší stravě, shrnout vliv enzymů na lidský organismus a uvést faktory ovlivňující enzymovou aktivitu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ENZYMY

Pro všechny známé živé systémy je charakteristická snaha o zajištění přísunu stavebního materiálu a energie z okolí, využití na výstavbu jejich součástí a pro funkci organismu. Příroda tento problém vyřešila vytvořením spletité sítě chemických reakcí. Na vedení těchto chemických dějů a energetických přeměn se podílí velké množství biokatalyzátorů. Převažující skupinou jsou enzymy neboli bílkovinné makromolekuly, vykazující katalytickou aktivitu, při níž dochází k urychlování chemických přeměn [1-3].

Enzymy se nacházejí ve všech živých soustavách a díky jejich obrovské variabilitě představují nejpočetnější část bílkovin. Předpokládá se, že uvnitř nejjednodušší buňky se může nacházet více než 3000 různých enzymů. Enzymy vykazují druhovou specifitu, proto se jejich množství odhaduje až na miliardy [2, 4].

Poznatky o enzymech se zabývá samostatný vědní obor enzymologie. Její nejdůležitější směry tvoří:

- Studium struktury enzymových molekul a výklad jejich funkce ve stereochemických pojmech.
- Studium kinetiky enzymových reakcí.
- Odvození detailních reakčních mechanismů enzymových reakcí.
- Studium forem výskytu a lokalizace enzymů v živých systémech.
- Studium vztahu enzymů k patologii organismu.
- Používání enzymů k praktickým účelům.
- Příprava a studium bioanalogických látek s katalytickou funkcí a konstrukce umělých enzymů [1, 3].

1.1 Historie enzymů

Už v 18. století se datují první informace o biologických katalyzátorech, popisující trávící vliv žaludeční šťávy. J. Berzelius tušil existenci enzymů již v roce 1834, když napsal, že v rostlinách i živočišných probíhají tisíce katalytických reakcí. Nejprve tyto biokatalyzátory byly nazývány fermenty, jelikož byly odpovědné za rozkladné děje v živé přírodě a za procesy používané k výrobě nápojů a potravin. Termín fermentace byl zaveden v roce 1878. Pojmenování enzym (z řeckého *en zymé* = v kvasnicích) se připisuje

W. Kühnemu (1878). Prvním popsáním enzymem byla amyláza ze sladu v roce 1814. Následovala slinná amyláza a žaludeční proteáza pepsin. Koncem 19. století se začíná rozvíjet myšlenka o mechanismu katalytického účinku enzymů: teorie komplementarity, která popisuje vznik komplexu enzym-substrát jako meziprojektu enzymových reakcí. V roce 1913 E. Michaelis a M. Mentenová vytvořili kinetiku jednosubstrátových reakcí. V období studování enzymů jako biokatalyzátorů neznámého původu, bylo shromážděno velké množství experimentálního materiálu, což dokládá čtyřsvazkové dílo pod vedením berlínského profesora C. Oppenheimera v letech 1926-1929. Ve čtvrtém svazku Oppenheimerovy monografie nazvané „Die Technologie der Fermente“ z roku 1929 je uvedeno, že již v tomto počátečním období dochází k využívání enzymů v různých průmyslových odvětvích. Dodnes bylo popsáno přes 3000 různých enzymů. Počet enzymů se známou strukturou a mechanismem jejich katalytického účinku stále přibývá [1, 4].

1.2 Struktura molekul, názvosloví a klasifikace enzymů

Jako enzymy se označují proteiny, katalyzující chemické reakce v živé soustavě, které určují jejich směr a specifčnost. Specifčnost rozumíme, že každý enzym přeměňuje zcela určité látky. Látky měnící se účinkem enzymů nazýváme substráty. Podstata specifčnosti spočívá v trojrozměrné konfiguraci enzymů. Polypeptidový řetězec nebo řetězce enzymové molekuly jsou vzájemně poskládány tak, že se vytvoří v enzymu tzv. aktivní místo (centrum), mající svým tvarem a složením afinitu k určitému substrátu. Substrát se váže k enzymu většinou vodíkovými vazbami, van der Waalsovými silami nebo hydrofobními interakcemi. Mnohé enzymy potřebují ke katalytickému účinku (přeměně substrátu) ještě neproteinovou složku nazývanou kofaktor. Funkce kofaktoru spočívá v přenosu atomů nebo elektronů z jednoho substrátu na další. Kofaktor pevně vázan na proteinovou složku enzymů se označuje jako prostetická skupina. Je-li kofaktor vázan slabě a může se od proteinové složky snadno oddělovat (disociovat), označuje se jako koenzym, přičemž proteinová složka enzymů se nazývá apoenzym. Komplex apoenzymu a koenzymu se označuje jako holoenzym. Apoenzym musí mít specifické vazebné místo jak pro substrát, tak i pro koenzym [5].

Z počátku se používaly triviální názvy enzymů. Zpravidla s koncovkou – in. Dodnes se některé z nich používají (např. trypsin, pepsin). Později se začala využívat koncovka – áza. Název byl tvořen podle charakteru katalyzované reakce (hydroláza, oxidáza), nebo podle substrátu, jehož přeměnu enzym katalyzoval (lipáza, amyláza). S narůstajícím

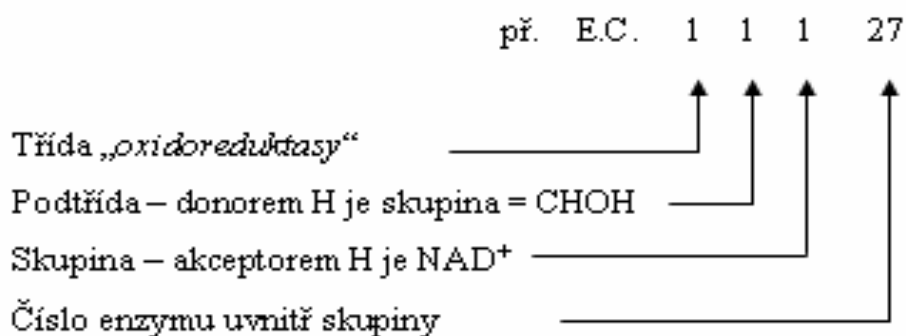
počtem poznávaných enzymů v roce 1961 zavedla mezinárodní komise biochemie systémové názvy enzymů, které rozdělila do šesti tříd [1, 5, 6, 7].

Následující tabulka uvádí základní klasifikaci enzymů.

Tabulka 1: Základní klasifikace enzymů [7]

Třída	Katalyzovaná reakce	Koncovky časté v triviálních názvech
<i>Oxidoreduktázy</i>	intramolekulárně oxidačně-redukční reakce	<i>dehydrogenázy</i>
<i>Transferázy</i>	přenos skupin atomů mezi molekulami	<i>kinázy</i>
<i>Hydrolázy</i>	štěpení hydrolyzovatelných vazeb za účasti vody	-
<i>Lyázy</i>	štěpení a tvorba C-C, C-O, C-N vazeb bez účasti vody	<i>syntázy</i>
<i>Isomerázy</i>	stereochemické změny uvnitř molekul (intramolekulární ox.-red. reakce a přenosy skupin)	-
<i>Ligázy</i>	syntéza energeticky náročných vazeb C-C, C-O, C-N za současného rozkladu látky uvolňující energii	<i>syntetázy</i>

Základní třídy se dělí na podtřídy, skupiny a podskupiny. Tím dochází k vytvoření čtyřmístného číselného kódu (E. C.) pro pojmenování daného enzymu. Systémové číslo pak vyjadřuje zařazení enzymů v dané klasifikaci EC (viz. Obr. 1). Systémové názvy enzymů jsou zpravidla složité, proto se většinou pro praktické účely používají triviální názvy [4, 6].



Obrázek 1 Zařazení enzymu v klasifikaci EC [6]

1.3 Využití enzymů

Obor enzymové inženýrství neboli enzymová technologie se zabývá uplatňováním enzymů v praxi. Průmyslová výroba, čištění a stabilizace enzymů z rostlinných, živočišných a mikrobiálních zdrojů umožňuje široké využití v průmyslu. Enzymové preparáty jsou dnes běžně využívány např. při výrobě biologicky aktivních detergentů, v textilním a papírenském průmyslu. V potravinářském průmyslu se enzymy používají v pivovarnictví, sýrařství, pekárenství a mnoha dalších (viz. Kap. 2) [8-11].

1.3.1 Biomedicínské aplikace

Život bez enzymů by nebyl možný. Enzymy regulují rychlost fyziologických procesů a mají klíčové poslání ve zdraví i nemoci. Ve zdravém organismu probíhají všechny fyziologické pochody regulovaným způsobem a je udržovaná homeostáza. Při patologických stavech může být homeostáza výrazně poškozena. Např. porušením tkáně charakterizující jaterní cirhózu se zhoršuje schopnost buněk vytvářet enzymy katalyzující metabolický proces jakým je syntéza močoviny. Dochází k neschopnosti převádět toxický amoniak na netoxickou močovinu, což má za následek intoxikaci amoniakem a konečné jaterní kóma [6].

Existence polymorfismů některých enzymů významně ovlivňuje příslušné metabolické dráhy v organismu a může zvýšit riziko rozvoje řady nemocí. Je zřejmé, že substituce aminokyselin nacházejících se v aktivním místě enzymů zásadně ovlivňuje jejich katalytickou aktivitu. Moderním směrem v humánní medicíně je právě studium strukturních polymorfismů a katalytické aktivity enzymů pro diagnostiku některých chorob. Nové postupy se opírají o studium změn v trojrozměrné struktuře proteinů v souvislosti s modifikací vybraných aminokyselin. Kompletní diagnostické postupy však dosud nebyly publikovány [12].

Věda se také již dlouho zabývá využitím restričních enzymů v medicíně. Restriční enzymy štěpí DNA na specifických místech, což umožňuje provedení cílených změn v molekule DNA. Příkladem využití těchto postupů v humánní medicíně je geneticky upravený enzym, který je testován pro odstranění buněk infikovaných virem HIV v organismu [13, 14].

Nevýhodou nativních enzymů je jejich nestabilita a krátká životnost, což s sebou nese vyšší finanční nároky, a také možnost vzniku imunitních reakcí v organismu. Tyto

nevýhody lze částečně eliminovat imobilizací enzymů na různých nosičích. Imobilizované enzymy mohou být použity jako léčiva pro lokální nebo systémové aplikace, trombolytickou terapii a pro léčbu nádorových onemocnění. Také je lze využít pro přípravu tzv. umělých buněk na bázi semipermeabilních mikrokapslí [15, 16].

1.3.2 Využití enzymů v průmyslu a zemědělství

V textilním průmyslu se využívají enzymy k biotechnologickým procesům jako je zpracování bavlny a vlny, předmývání látek, srážení škrobu, bio-barvení při zpracování denimových látek a zlepšování fixace barvy ve vláknech [17].

V kožedělném průmyslu se využívají proteázy k odstraňování chlupů a činění kůží. Odstraňování chlupů se může provádět za pomoci enzymů, ale také bez nich. Technologicky i ekologicky výhodné je použití enzymů v kombinaci s vápenatým roztokem. Dalším procesem je úprava kůží činěním, aby kůže byla měkká a pružná. Dříve se používaly bakteriální enzymy ptačího trusu nebo psích výkalů, později pankreatické enzymy. V současnosti se aplikují bakteriální proteázy z *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens* a *Aspergillus oryzae*, nebo také jejich směsi s přídavkem pankreatických enzymů [1, 17].

V současné době jsou enzymy běžnou součástí pracích prostředků. Používají se proteázy, amylázy, lipázy a celulázy. Činnost enzymů závisí zejména na teplotě a pH prací lázně. Optimální teplota se pohybuje v rozmezí 10-60 °C a pH 6-12. Jejich funkce spočívá v hydrolýze vysokomolekulárních látek (proteiny, polysacharidy) nerozpustných ve vodě, na kratší molekuly s vyšší rozpustností ve vodě, což vede k lepšímu oddělování od tkaniny. Enzymy se využívají při výrobě práškových i kapalných detergentů [1, 10].

Využití enzymů v zemědělství souvisí zejména se snahou zvýšit efektivnost výkrmu zvířat, proto se do krmných směsí přidávají proteázy spolu s dalšími enzymy. Jejich účinek spočívá v částečné hydrolýze bílkovin, což zlepšuje jejich využitelnost. Při přípravě syntetických mlék a mléčných náhražek pro selata a telata jsou proteázy nezbytnou součástí přispívající k hydrolýze sojových bílkovin. Aditiva na bázi enzymů se přidávají také do siláže za účelem zvýšení obsahu zkvasitelných cukrů [1, 17, 18].

1.3.3 Využití enzymů v životním prostředí

Stanovením enzymové aktivity půdy lze hodnotit kvalitu půdy a identifikovat případnou kontaminaci. Mnoho studií prokázalo citlivost aktivity enzymů v půdě na činnosti

související s úpravou půdy, jako je obdělávání půdy, organické a zelené hnojení a používání herbicidů [19].

Používáním nových technologií v průmyslu se začalo hromadit velké množství sloučenin a cizorodých látek v životním prostředí. Jsou to sloučeniny vyráběné v zemědělství a průmyslu, často vykazující negativní účinek na zdraví lidské populace. Enzymy z živočišných i mikrobiálních organismů jsou schopny metabolizovat tyto polutanty životního prostředí a tím se podílet na odstraňování ekologických zátěží [20].

1.3.4 DNA-technologie

Většina metod molekulární biologie je závislá na využití enzymů, jejichž substrátem jsou nukleové kyseliny. Předností enzymových reakcí je jejich přísná specifita a možnost pracovat s malým množstvím materiálu. Enzymy používané v DNA-technologiích se dělí podle typu reakcí:

- Enzymy syntetizující nukleové kyseliny (polymerázy).
- Enzymy modifikující nukleové kyseliny (fosfatázy, metylázy, kinázy).
- Enzymy spojující nukleotidové řetězce (ligázy).
- Enzymy odbourávající nukleotidové kyseliny (nukleázy).

Restrikční endonukleázy jsou bakteriální enzymy, štěpící dvoušroubovici DNA, která se do bakteriálních buněk dostává např. infekcí bakteriofágem. Cizí DNA je restriktázou rozštěpena a vlastní DNA je zpravidla chráněna metylací DNA. Při úpravách rekombinantní DNA se používají i další enzymy. Velký význam má zejména DNA-ligáza, umožňující spojování konců dvou vláken fosfodiesterovou vazbou (např. fragmenty vzniklé štěpením restrikčními endonukleázami). Různé typy ligáz, izolované z různých mikroorganismů se mohou mírně lišit ve své specifitě a mohou vyžadovat mírně odlišné reakční podmínky.

Díky novým genetickým metodám se zvyšují možnosti pro výzkum, diagnostiku a léčbu lidských chorob (viz. Kap. 1.3.1) [13, 14].

Metody genového inženýrství mají také své široké uplatnění pro vývoj nových tzv. transgenních organismů, nebo rostlin odolných vůči klimatickým podmínkám (Bt-kukuřice, sója, bavlník, řepka olejka, rajčata a tabák) [14].

2 ENZYMY VYSKYTUJÍCÍ SE V POTRAVINÁCH

V potravinách se enzymy vyskytují přirozeně, nebo jsou přidávány v rámci technologických úprav. Přítomnost enzymů v potravinách může být pro výslednou kvalitu výrobku významná (např. dozrávání ovoce, změny v mase během zrání, mléčné kvašení aj.), ale v určité fázi je obvykle nutné enzymovou aktivitu potlačit, aby nedošlo k dalšímu nežádoucímu rozkladu potraviny (např. enzymové hnědnutí potravin). Pokud enzymová aktivita přijatých enzymů zůstane v trávicím traktu zachována, přispívá k procesu trávení a doplňuje účinky trávicích enzymů (viz. Kap. 5). Enzymy přidávané do potravin jsou považovány za potravinářsky přídatné látky, vyžadující zvláštní souhlas příslušného orgánu, zabývající se kvalitou potravin [10, 21, 22].

Jednou z hlavních funkcí enzymů v těle je účast při procesu trávení. Enzymy štěpí jednotlivé složky potravy (cukry, tuky, bílkoviny) na jednodušší části, které se využívají ke stavbě těla nebo jako zdroj energie [21, 23].

Enzymy vyskytující se v potravinách lze podle původu rozdělit do tří základních skupin: enzymy rostlinného, živočišného a mikrobiálního původu [11, 24, 25].

2.1 Enzymy rostlinného původu

Enzymy rostlinného původu patří mezi nejrozšířenější. U jednotlivých druhů a odrůd ovoce mají enzymy různou aktivitu. Vývoj, zrání a rozklad plodů způsobuje činnost enzymů.

Během zrání probíhá v plodech činností enzymů nejvíce biochemických a fyzikálně-chemických procesů. Ve zralých plodech aktivita enzymů ubývá [8, 11, 23].

Následující tabulka předkládá některé druhy enzymů v rostlinných potravinách, rok výzkumu dokumentuje první publikované informace:

Tabulka 2: Enzymy v rostlinné potravě [21]

Potravina	Autor výzkumu	Rok výzkumu	Enzymy
Banány	K. Kondo a kol.	1928	amyláza, maltáza, sacharáza
Brambory	R. Pressey	1968	invertáza

Cukrová třtina	C. E. Hartt	1934	amyláza, kataláza, ereptáza, invertáza, maltáza, oxidáza
Fazol obecný	J. Laberre a kol.	1946	amyláza, proteáza
Houby	M. E. Dodonowa a kol.	1930	maltáza, glykogenáza, amyláza, proteáza, kataláza
Hroznové víno	A. T. Markh. Kol.	1957	
Jablka	M. Lieberman a kol.	1966	peroxidáza
Jahody	I. Reifer a kol.	1968	dehydrogenáza
Kukuřice	V. N. Padwardhan a kol.	1929	amyláza
Mango	A. K. Matto a kol.	1968	peroxidáza, kataláza, fosfatáza
Pšenice	D. V. Karmerker a kol.	1930	amyláza
Pšenice	J. D. Mounfield	1938	proteáza
Rajčata	H. Naito a kol.	1938	oxidáza
Rýže	D. V. Karmerker a kol.	1931	amyláza
Zelí	R. Rubin a kol.	1935	amyláza

Enzymy rostlinného původu jsou důležitým činitelem při výrobě piva. Pivo vzniká zkvašením cukerného roztoku, jež se získává enzymovou hydrolýzou sladového škrobu, vytvářejícím se při uměle vyvolaném a regulovaném klíčení ječmene. Obilka sladového ječmene obsahuje fosfatázy, amylolytické, proteolytické a cytolytické enzymy, aktivující se při klíčení ječmene. Fosfatázy štěpí fosforečnanové ionty, cytázy jsou enzymy, štěpící buněčné stěny. Proteázy štěpí bílkoviny a amylázy jsou schopné štěpit škrob. Enzymy se účastní nejen fáze klíčení ječmene, ale i dalších procesů při výrobě piva [9, 10].

Enzymy se využívají i při výrobě vína. Přirozeně se vyskytují stopy enzymů v třapině, slupce, dužině a semenech vinných hroznů. V hroznech působí přirozené pektolytické

enzymy, aktivující se především po utržení hroznů. Enzymy se účastní procesu fermentace, kdy přeměňují cukry hroznů na odpovídající množství alkoholu a oxidu uhličitého za vzniku tepla [10, 26].

Podobným způsobem se využívají enzymy v lihovarnickém odvětví. Musí být vhodně zvoleny sacharidické suroviny tak, aby při daném enzymovém vybavení mikroorganismu docházelo k optimální zkvasitelnosti sacharidů. Mezi suroviny používané pro výrobu lihovin patří ovoce (jablka, hrušky, švestky aj.), nebo škrobnaté suroviny (pšenice, žito, triticales, ječmen aj.). Složené sacharidy jsou před fermentací hydrolyzovány na jednoduché cukry, působením vlastních hydrolytických enzymů [9, 10].

V pekárenské technologii při procesech kvašení (fermentace) produkují kvasinky oxid uhličitý. Působením enzymů se mění fyzikální vlastnosti těsta. Při běžném kynutí těsta dochází nejprve k fermentaci přirozených cukrů v mouce. Pak následuje fermentace maltózy. Maltóza vzniká působením enzymů amyláz na moučný škrob. Mouka obsahuje aktivní enzym (amyláza), jehož účinek doplňují enzymy droždí (maltáza), štěpící maltózu na jednoduchý cukr glukózu. Žitná mouka má dostatek enzymů, tyto enzymy odbourávají ze škrobu opět zkvasitelné cukry a zajišťují tak plynulé kvašení. Pšeničná mouka má zpravidla nedostatek enzymů. Do pekařských pšeničných těst se přidávají enzymové přípravky, jejichž podstatou je amyláza různého původu. Některé přípravky obsahují i proteázy, vyvolávající štěpení bílkovin. Tyto enzymy jsou vhodné pro mouky s vysokým obsahem lepku [9, 11].

2.2 Enzymy živočišného původu

Enzymy živočišného původu nevykazují takovou aktivitu jako enzymy rostlinného původu. Mezi nejvýznamnější enzymy patří enzymy štěpící tuky a způsobující chuťové a čichové závady v mase. Důležitý je enzym lipáza, jenž je katalyzátorem deesterifikace tuků [8, 11, 23].

Následující tabulka předkládá některé druhy enzymů v živočišných potravinách, rok výzkumu dokumentuje první publikované informace:

Tabulka 3: Enzymy v živočišné potravě [21]

Potravina	Autor výzkumu	Rok výzkumu	Enzymy
Maso	M. B. Berman	1967	katapsin
Med	C. C. Gilette	1931	kataláza
Med	R. E. Lothrop	1931	amyláza
Mléko	K. G. Weckel	1938	kataláza, galaktáza, laktáza, amyláza, oleináza, peroxidáza, dehydrogenáza, fosfatáza
Vejce	H. Lineweaver a kol.	1948	trybutyrináza, lipáza, fosfatáza, peptidáza, peroxidáza, kataláza, oxidáza, amyláza

V mlékárenském průmyslu se enzymy využívají při výrobě sýrů, kde se používají syřidla, jejichž aktivní složkou je enzym chymosin. Klasické syřidlo se získává jako extrakt z žaludku sajících telat. Vzhledem k omezeným zdrojům se využívají enzymové preparáty živočišného, rostlinného a mikrobiálního původu. K syřidlům živočišného původu patří pepsinové syřidlo [9, 10].

2.3 Enzymy mikrobiálního původu

Enzymy mikrobiálního původu se mohou projevovat negativním způsobem, kdy zapříčiňují vady konzerv, jako jsou bombáže. Pozitivní vliv mají při biologických konzervacích, například u mléčného a alkoholového kvašení. Jejich pozitivního účinku se průmyslově využívá při výrobě enzymových preparátů [1, 8, 11, 24].

Mikroorganismy také produkují enzymy, které mají svůj význam v trávicím traktu hospodářských zvířat. Zde pomáhají průběhu mikrobiální fermentace. Nejvíce aktivních mikrobiálních enzymů se nachází v předžaludku přežvýkavců, ve slepých střevech drůbeže, ve slepých nebo tlustých střevech všežravců a nepřežvýkavých býložravců [18].

2.4 Enzymy přidávané při výrobě potravin

Kromě výše uvedených enzymů přirozeně se vyskytujících v potravinářských surovinách je nutné také zmínit enzymy, které se přidávají do potravin z technologických důvodů při výrobě, zpracování, přípravě, úpravě, balení nebo skladování potravin. Potravinářské enzymy musí být schváleny a používány pouze pokud splňují kritéria nařízení evropského parlamentu a rady (ES) č. 1332/2008 [10, 11, 28].

Jako všechny aditivní látky, tak i enzymy přidávané do potravin z technologických důvodů se označují písmenem „E”. Například jako látka ošetřující mouky se používá enzym glukózooxidáza (E1102), jako stabilizátor se využívá enzym invertáza (E1103), a enzym lysozym se využívá jako konzervant (E1105) [10, 11, 23, 28, 29].

V potravinářském průmyslu mají enzymy významnou roli. Používají se při výrobě pečiva, sýrů, mastných výrobků, cukrovinek a alkoholických nápojů. Na evropském trhu je k dispozici 235 různých enzymů pro výrobu potravin a krmiv. Většina enzymů se vyrábí fermentací za použití mikroorganismů nebo geneticky modifikovaných mikroorganismů. Pět enzymů bylo izolováno ze zvířat a šest z rostlin. Při výrobě vína je schváleno použití pektolytických enzymů, ureázy, β -glukanázy a lysozymu. V ovocných šťávách se smí použít amylolytické, proteolytické a pektolytické enzymy. Jako aditiva jsou povoleny lysozym a invertáza. Ke koagulaci mléka je možné použít enzym chymosin, jako syřidlo při výrobě sýrů [10, 11, 26, 30].

Při výrobě piva se využívají jako náhrada a podpora sladových enzymů průmyslové amylázy, glukanázy a proteinázy. Pro zlepšení filtrovatelnosti piva se používá enzym β -glukanáza [9, 10].

Firma Novozymes vyvinula specializovaný enzym Ultraflo Max, usnadňující filtraci při výrobě piva, bez ohledů na použitý druh sladu. Filtrační proces má za cíl odstranit z piva kalící látky a docílit požadovanou čírost. Některé komponenty buněčné stěny sladu určují viskozitu, průběh a rychlost filtrace. Při použití filtračních enzymů schopných rozkládat tyto součásti sladu dochází ke snížení viskozity a zlepšení filtrovatelnosti piva. Výhodou této technologie by mělo být usnadnění filtrace a snížení nákladů spojených s čištěním filtrů [31].

Vhodnou alternativou živočišných syřidel jsou syřidla mikrobiální, používaná v mlékárenském průmyslu. Hlavními producenty mikrobiálních syřidel jsou *Rhizomucor*

miehei a *Cryphonectria parasitica*. Vzhledem k nízkým cenám a propracovaným způsobům použití při výrobě určitých sýrů se staly mikrobiální proteázy trvalou položkou na trhu syřidlových enzymů [1, 10].

V pekárenském průmyslu se používají ke zkrácení doby kynutí a mechanického hnětení plísňové proteázy, především z *Aspergillus oryzae*. Některé světlé pšeničné mouky mívají nedostatek zkvasitelných cukrů a diastatických enzymů, proto se tyto enzymy přidávají do kynutých těst. Jedná se o sladové, bakteriální a plísňové amylázy. Úkolem amyláz je zvýšení objemu výrobku, zlepšení textury střídky a barvy chleba [1, 9, 11, 27].

3 VLIVY PŮSOBÍCÍ NA ENZYMOVOU AKTIVITU

Činnost enzymů souvisí s jejich aktivitou. Aktivita enzymů je formulována jako rychlost katalyzované reakce. Základní jednotkou je katal. 1 katal (kat) udává množství enzymů, způsobující přeměnu jednoho molu substrátu za sekundu. Pro praktické využití je tato jednotka velká, proto se používají její zlomky (μkat nebo nkat) [6].

Enzymy v mnoha směrech předčí umělé katalyzátory. Jsou účinnější, vykazují reakční nebo účinkovou specifitu k typu katalyzované reakce i přeměňovaným substrátům. Pracují za normálních podmínek (většinou neutrální pH, normální tlak a tělesná teplota). Jejich účinek je snadno regulovatelný ovlivněním vnějších podmínek [3, 6].

3.1 Vliv podmínek prostředí na enzymovou aktivitu

Regulaci enzymové aktivity lze snadno provést změnou podmínek vnějšího prostředí, které zásadním způsobem ovlivňuje kinetiku enzymových procesů. Účinnost enzymů závisí na řadě činitelů, především na pH, teplotě, složení prostředí, koncentraci enzymů, přítomnosti inhibitorů a aktivátorů, vodní aktivitě a na dalších vlivech [2, 4, 8, 11, 23].

3.1.1 Vliv teploty

S rostoucí teplotou se zvyšuje rychlost enzymových reakcí. Enzymy vykazují obvykle největší aktivitu při teplotách kolem 37°C. Převážná část enzymů ztrácí aktivitu přibližně při teplotách 55-60°C. Existují i enzymy termofilních bakterií, které jsou aktivní při teplotách kolem 85°C. Při překročení kritické hodnoty enzymových reakcí dojde k tepelné denaturaci bílkovinné molekuly enzymů a rychlost enzymové reakce začne klesat. [1, 6, 8, 11].

Při kulinárních úpravách, nebo při zpracování potravin nad teplotu 40°C se enzymy ničí. Tělo si všechny potřebné enzymy vyrábí samo, ale pokud přijme enzymy z potravy v aktivní formě, mohou tyto enzymy podpořit rozklad složek potravy v gastrointestinálním traktu. Metody zkoumající enzymovou inaktivaci mohou být velkou pomocí při hodnocení aktivity enzymů při tepelném zpracování. To se týká procesů zahrnujících různé teploty a vlhkosti, jako je pečení, vaření, sušení, odpařování, grilování, smažení aj. [11, 21, 32].

Zajímavé je také studium vlivu nižších a vyšších teplot na enzymovou aktivitu, uplatňující se např. během skladování. Bylo zjištěno, že účinek antioxidačních enzymů v brokolici

ve srovnání s pokojovými a vyššími teplotami je mnohem výraznější při teplotách nižších než 10°C [33].

3.1.2 Vliv pH

Každý enzym vykazuje optimální aktivitu v určité hodnotě pH prostředí. Optimum účinnosti má většina enzymů v rozmezí pH 4,5-8. Při extrémních hodnotách pH jsou enzymy inaktivovány. Výjimkou jsou trávicí enzymy žaludku, jako je pepsin, který má pH optimum v oblasti 1,5-2,5, pankreat, jehož šťáva obsahuje enzym trypsin, má pH optimum 7,5-10 a pankreatická lipáza má optimální pH 8,0 [1, 6, 11].

Při extrémních hodnotách pH, může docházet k ireverzibilní denaturaci bílkovinné složky. Při technologickém zpracování se využívá účinku enzymů (např. v kvasném průmyslu), ale i jejich inaktivace (např. při snaze zabránit enzymovému hnědnutí ovoce- snížením pH pod 3,0 přidávkem kyseliny) [8, 11, 23].

Z hlediska kyselosti lze potraviny rozdělit:

- Velmi kyselé (pH<4,0) = ovoce
- Málo kyselé (pH 4,0-6,5) = zelenina, ovoce
- Nekyselé (pH>6,5) = maso, mléko, vejce [24, 25].

Při studiu vlivu pH na aktivitu či ztrátu aktivity (denuraci) fosfolipáz a proteáz v mase bylo zjištěno, že nízké pH masa způsobuje nižší schopnost vázat vodu a tím přispívá ke snížení kvality masa. Biochemické vlastnosti bílkovin za nízkého, normálního a vysokého pH masa zůstávají podobné i po zmrazení [34].

3.1.3 Vliv aktivity vody

Aktivita vody v potravinách ovlivňuje organoleptické vlastnosti potravin (barva, vůně, chuť, textura) a jejich údržnost. V potravinách dochází ke změně obsahu vody při kulinárním a technologickém zpracování potravin, ale i při různých způsobech skladování. Obsah vody v potravinách se zpravidla snižuje při tepelném zpracování (vaření, pečení, smažení, grilování, pražení, sušení), ale i při zmrazování a rozmrazování potravin [23].

Některé enzymy jsou účinné i za velmi nízké koncentrace vody, kdy jsou pozastaveny mikrobiální změny (např. u neblanširované sušené zeleniny). Pro enzymovou aktivitu je důležitá voda volná, resp. relativní vlhkost potraviny. Pro většinu mikroorganismů je optimální aktivita vody 0,98. K inhibici řady enzymových reakcí dochází při snížení aktivity vody pod hodnotu 0,8 [8, 24, 25].

3.1.4 Ostatní vlivy

K dalším způsobům, jak inaktivovat enzymy patří mechanický tlak, ionizující záření a inaktivace na fázovém rozhraní. V některých případech se ionizující záření používá i ke sterilaci potravin [23].

Pšeničné klíčky mají výrazně špatnou trvanlivost a stabilitu při skladování vzhledem k vysoké úrovni enzymové aktivity lipázy a přítomnosti nenasycených tuků. Pro udržení výživové hodnoty a možnosti využití klíčků pro přípravu dalších výrobků je nezbytná jejich stabilizace. Účinkem γ -záření bylo dosaženo inaktivace lipázy bez významné ztráty životně důležitých živin. Kvalita pšeničných klíčků zůstala zachována [35].

3.1.5 Enzymové změny

V důsledku technologického zpracování (lisování, loupání i pomalé rozmrazování vlivem tvorby ledu) potravinářských surovin dochází k enzymovým změnám. Při enzymových změnách dochází k narušení organizace pletiv a tkání. K inaktivaci enzymů dochází především zahřevem. Enzymové procesy se nejčastěji uplatňují při skladování potravin, zejména u čerstvého ovoce, zeleniny a u výrobků, které nebyly dostatečně inaktivovány před dalším zpracováním (sušení, zmrazování) [21, 33, 36].

Enzymové změny ovlivňují také organoleptické vlastnosti potravin. Můžeme je rozdělit do 4 skupin:

- Degradace pektinových látek.
- Enzymové hnědnutí.
- Hydrolýza kyanogenních glykosidů.
- Oxidace mastných kyselin [24, 25].

Následující tabulka popisuje enzymy podílející se na enzymových změnách a důsledky těchto procesů v potravinách.

Tabulka 4: Rozdělení enzymových změn v potravinách [25]

Skupina enzymů	Důsledky změn
lipogenázy, proteázy, lipázy	změna chuti a vůně (cizí pachy, chutě, nesprávně vyrobená zmrazovaná zelenina apod.)
pektolytické a celulolytické enzymy	změny konzistence (měknutí, tvorba sedimentu v citrusových nápojích apod.)

polyfenoloxidázy, chlorofyláza a částečně peroxidáza	změny barvy (enzymové hnědnutí, degradace chlorofylu)
askorbát oxidáza, thiamináza, polyfenoloxidáza	snížení nutriční hodnoty (rozklad vitamínů, snížení stravitelnosti bílkovin)

Mezi enzymové změny patří i reakce enzymového hnědnutí, které spočívají v enzymové oxidaci fenolových sloučenin některými oxidoreduktázami za přítomnosti vzdušného kyslíku. Enzymové hnědnutí potravin řadíme zpravidla do kategorie nežádoucích reakcí. Matematické modelování kinetiky procesů přitahuje rostoucí zájem v různých oblastech výzkumu. Pro modelování procesů enzymového hnědnutí je nezbytné vyhodnotit účinnost procesů používaných k získávání čerstvého vzhledu potraviny a určení její trvanlivosti. Je-li známá závislost rychlosti hnědnutí na teplotě, lze jeho výskyt v zásadě předvídat. Navíc, to může také pomoci v pochopení chemie a mechanismu reakce [25, 37, 38].

K reakcím enzymového hnědnutí může také docházet při zpracování mořských živočichů (krabi, garnáti). Ne vždy se však jedná o žádoucí změny. U některých potravin jsou tyto reakce žádoucí, protože vytvářejí charakteristické aroma a vůni produktů (např. fermentace čaje, kakaa a oliv) [39].

Pro zlepšení kvality a zabránění hnědnutí čerstvě krájených produktů byl zkoumán chloritan sodný, známý pro své antimikrobiální účinky. Mechanismus účinku chloritanu probíhá dvěma způsoby: inaktivací oxidáz, jejichž substrátem jsou polyfenolické sloučeniny a oxidační degradací fenolických substrátů [40].

3.2 Inhibitory enzymů

Inhibitory enzymů jsou látky, které negativně ovlivňují nutriční hodnotu potravin, sloužící k přímé spotřebě. Současně tyto látky inhibují enzymové reakce, uplatňující se v posklizňovém dozrávání potravin. Tím prodlužují dobu jejich skladovatelnosti, což lze považovat za pozitivní efekt [8, 11, 23].

Obilí, ořechy, semínka atd. jsou bohatým zdrojem enzymů, ale zároveň obsahují také inhibitory enzymů, které způsobují výrazné zpomalení či úplné zastavení enzymových reakcí [11, 22].

Inhibitory enzymů blokují různým způsobem funkci trávicích enzymů v trávicím traktu, zejména inhibitory proteáz. Méně významné jsou inhibitory sacharáz [37, 39].

3.2.1 Inhibitory proteáz

Z výživového hlediska řadíme mezi inhibitory proteáz proteiny nebo polypeptidy, schopné inhibovat trávicí enzymy proteázy. Přirozeně se vyskytují v luštěninách, obilovinách a dalších potravinách rostlinného původu, jako rajčata, nebo brambory [8, 23].

Inhibitory proteáz se klasifikují podle druhu proteáz, které mohou inhibovat. Rozeznáváme:

- Inhibitory serinových proteáz, např. trypsinu, plazminu, chymotrypsinu.
- Inhibitory sulfhydrylových proteáz, např. pepsinu, trombinu.
- Inhibitory kyselých proteáz, např. kathepsinu D.
- Inhibitory metaloproteáz, např. karboxypeptidázy slinivky.

Nejvýznamnější jsou inhibitory serinových proteáz, zahrnující dvě základní skupiny inhibitorů:

- Inhibitory KUNITZOVA TYPU (TI).
- Inhibitory BOWMANOVA-BIRKOVA TYPU (BBI).

Příkladem inhibitorů Kunitzova typu jsou inhibitory ze sójových bobů. Inhibitory Bowmanova-Birkova typu jsou např. v pohance obecné, kde je přítomen inhibitor BTI (z angl. *Buckwheat Trypsin Inhibitor*) [38, 40].

Inhibitor trypsinu se v semenech rostlin nachází od zanedbatelného po velmi hojné množství. Záleží na druhu a odrůdě luskovin. Inhibitor trypsinu může projít žaludkem nezměněný, je stabilní vůči pepsinu a nízkému pH. Inhibitory způsobují ztrátu síry, což potlačuje růst bílkoviny v semenech luskovin a ty mají nedostatek sirných aminokyselin. Na druhou stranu inhibitory proteáz jsou považovány za přírodní bioaktivní látky, působící jako antikarcinogenní činitel. Jsou účinné v prevenci nebo zamezení karcinogenní indukované transformaci *in vitro* a karcinogenezi ve zvířecích studiích [41].

Inhibitory proteáz plní v rostlinách ochrannou funkci, jako je např. ochrana cytosolu vůči endogenním proteázám při porušení buněk. Jejich dalším úkolem je zajištění zásoby proteinů v době klíčení a ochrana pletiv proti elicitorům (viry, houby, bakterie) a

predátorům. Inhibitory proteáz lze snadno eliminovat tepelným ošetřením (vaření, pražení, extruze). Snížení aktivity závisí na teplotě a době zahřívání, obsahu vody a velikost částic materiálu [8, 37, 39].

3.2.2 Inhibitory sacharáz

Inhibitory sacharáz v rostlinných pletivech plní také ochrannou funkci. Stěny rostlinné buňky jsou tvořeny převážně z polysacharidů, spojených v silné a pružné síť. Určují tvar buněk a tvoří rozhraní mezi buňkou a prostředím. Chce-li patogenní organismus proniknout přes buněčnou stěnu a infikovat tak rostlinu, vylučuje degradační enzymy, které způsobují narušení buněčné stěny. Obranou rostlin jsou inhibitory, blokující činnost těchto mikrobiálních enzymů [42].

Obiloviny, cereální výrobky (žito, pšenice, chléb) obsahují proteiny inhibující živočišné, ale ne rostlinné amylázy. V hlízách brambor jsou přítomny inhibitory invertázy. Význam těchto inhibitorů je však zanedbatelný. V důsledku schopností některých inhibitorů omezit rozklad a využitelnost sacharidů by v budoucnu mohly být využity jako preparáty pro redukční diety [8, 37, 39].

4 PŘIROZENÉ POTRAVINOVÉ ZDROJE ENZYMŮ PRO ČLOVĚKA

Člověk již odnepaměti přijímá několik měsíců po narození s mateřským mlékem řadu enzymů. Mateřské mléko je zdrojem všech látek, které organismus potřebuje. Je také bohatým zdrojem aktivních enzymů, obsahující enzymy lipáza, amyláza, kataláza, oleináza, peroxidáza, dehydrogenáza a fosfatáza S dalšími enzymy živočišného původu se setkáváme v mase, mléce, vejcích a medu. Hojné zastoupení enzymů rostlinného typu je v obilovinách, luskovinách, ovoci, zelenině, mořských řasách atd. [10, 11, 21, 43].

Jedním z hlavních úkolů enzymů trávicího traktu je účast při trávení. Enzymy štěpí jednotlivé složky potravy (cukry, tuky, bílkoviny) na jednodušší části, které jsou využívány při stavbě organismu, nebo jako zdroj energie. Naše tělo je schopno v průběhu trávení vyloučit všechny druhy enzymů, potřebné ke strávení pozřené stravy. Syrové potraviny nevytvářejí tak vysokou produkci enzymů jako vařené potraviny. Vytváří se i menší množství žaludeční kyseliny, umožňující exogenním enzymům štěpit potravu delší dobu. Pro správnou činnost organismu tělo potřebuje nejen trávicí enzymy, ale také enzymy metabolismu [4, 21, 23].

Dnešní doba je charakteristická mimo jiné tím, že velká část potravin do těla přichází po technologických úpravách, díky kterým došlo ke změně či úplné inhibici enzymové aktivity (viz kap. 3). Co se týká obsahu enzymů, které by mohly mít v trávicím traktu člověka pozitivní vliv na trávení, jsou vzhledem k popsaným vlivům nejvýhodnější syrové (neupravené) potraviny jako čerstvé ovoce a zelenina, obilné klíčky, med...[21, 23].

4.1 Ovoce

Mezi plody, obsahující významné množství aktivních enzymů s pozitivním účinkem na gastrointestinální trakt člověka lze zařadit ananas, papáju a mango. Účinek přítomných enzymů je však významný také pro biomedicíncké aplikace, hojení ran a v kosmetice [11, 23, 44].

Takovým enzymem, je např. enzym bromelin, který patří do skupiny proteolytických enzymů. Získává se z plodů, případně z celé rostliny ananasu. Svým účinkem je řazen mezi trávicí enzymy, hydrolyzující proteiny na oligopeptidy a aminokyseliny. Enzymový preparát na bázi bromelinu vykazuje tlumící účinek na růst maligních buněk a současně dochází k inhibici agregace trombocytů. Spojením fibrinolytické aktivity bromelinového

preparátu a zvýšené hladiny AMP může být klíčem k popisovaným antikarcinogenním účinkům. Enzym bromelin vykazuje protizánětlivý efekt a je doporučován i při akutních postoperačních a posttraumatických stavech. V kombinaci s trypsinem se bromelin využívá perorálně při osteoartritidě [45, 46].

Papain je proteolytický enzym ze šťávy z nezralých plodů papáji. Je to směs papainu, papajapeptidázy, chymopapainu A a chymopapainu B. Aktivita směsi závisí na jejím aktuálním složení. Používá se jako prostředek usnadňující optimalizaci trávení. Perorálně je využíván při zánětech a edémech po prodělaných chirurgických zákrocích a traumatech, nebo také při zánětech hrtanu a jícnu. Lokálně se využívá při čištění infikovaných ran [45, 47].

Enzym papain se také využívá ve farmaceutických, kosmetických a výživových oblastech. Účelem studií je vyhodnotit účinnost kosmetických přípravků s obsahem papainu přes histologické vyšetření pomocí světelné mikroskopie [44].

Dužina a slupka manga je zdrojem bioaktivních látek, jako jsou polyfenoly, karotenoidy, vitamín C a E, vláknina a enzymy. Obsahuje enzymy proteázy, peroxidázy a oxidázy polyfenolů. Slupky manga se mohou dále zpracovávat, jako přísada do pekařských výrobků, snídaňových cereálií, těstovin a nápojů [48].

4.2 Zelenina

Epidemiologické studie dokazují, že brukvovitá zelenina (bílé a červené zelí, květák, růžičková kapusta, brokolice a kapusta) má antikarcinogenní vlastnosti. Výsledky z pokusů na zvířatech ukazují snížení chemicky indukované formace nádorových buněk [49].

Zelí jako brukvovitá zelenina je bohatým zdrojem živin a antioxidantů. Provádí se rozsáhlé výzkumy zkoumající variabilitu enzymových antioxidantů (superoxid dismutáza, kataláza, peroxidáza) v genetických liniích. Výsledky naznačují, že antioxidační enzymy jsou vhodným materiálem pro hybridizaci, čehož by se mohlo využít ve šlechtitelství ke zvýšení kvality a trvanlivosti produktů. [50].

Z různých fermentovaných rostlin byly izolovány bakterie mléčného kvašení, aby se zjistila enzymová aktivita enzymu β -glukosidázy. Výsledky dokazují, že největší aktivita izolovaného enzymu β -glukosidázy byla v kysaném zelí [51].

4.3 Obiloviny

Mnoho evropských zemí používá pšenici jako hlavní složku krmných směsí pro drůbež. Proto byl studován vliv enzymů, jako doplňku stravy na tělesnou hmotnost a účinnost přeměny krmiva u brojlerových kuřat krmených pšenicí. Konečným cílem bylo zjištění vlivu enzymů na viskozitu tráveniny. Výsledky naznačují, že enzymy, jako doplněk stravy v pšenici vykazují vliv na využitelnost krmiva zejména v prvních 4 týdnech života [17, 24, 52].

Pšeničné otruby jsou dobrým zdrojem nejen vlákniny. Nalezení mechanismu, podle kterého pšeničné otruby chrání proti rakovině tlustého střeva či prsu ve studiích na potkaních, by mohlo být prospěšné i pro člověka. Výsledky naznačují, že strava tvořená z pšeničných otrub je vhodným modelem ke snížení produkce mutagenních metabolitů [24, 53].

4.4 Mléko

Mléko je tekutina běložluté barvy, nasládlé chuti a typické vůně. Je produktem mléčných žláz savců. Kravské mléko obsahuje velké množství enzymů. Kravské mléko je bohatým zdrojem nejen vitamínů, ale i bílkovin, lipidů, sacharidů a minerálních látek. Enzymy se do kravského mléka dostávají syntézou v mléčné žláze, přechodem z krve dojnice a mikrobiálními enzymy, které se do mléka dostávají z kontaminující mikroflóry. Studie původních enzymů v mléce má dlouhou historii. V mléce bylo nalezeno asi 70 domorodých enzymů, některé z nich jsou významné především pro výrobu mléka a mléčných výrobků z technologického hlediska. Enzymy v mléce se liší svou funkcí, stabilitou při zpracování a významem pro spotřebitele. Mléko a mléčné enzymy mají velmi důležitou roli, podílí se na kontrole sekrece mléka, vývojových etapách (involuce), posílení imunitního systému a prevenci oxidativního poškození základních živin. Mléčné enzymy spolu s dalšími komponenty tvoří v mnoha případech komplexní metabolické dráhy. Mezi enzymy v mléce patří laktoperoxidáza, lipáza, fosfatázy (alkalické i kyselá), proteáza a enzym lysozym. Ke konzumaci mléka v dnešní době patří neodmyslitelně pasterizace. Pasterizací se ničí bakterie a některé enzymy. Termorezistence nativních enzymů je různorodá, ztráta aktivity některých enzymů slouží jako indikátor pro průkaz tepelného ošetření mléka v mlékárenském průmyslu [9, 11, 21, 54, 55].

Význam enzymů jako krmivářských aditiv už byl zmíněn v kap. 1.3.2. Zvýšení nákladů na krmivo při použití růstových stimulátorů a antibiotik v živočišné výrobě poskytly dostatečnou motivaci zdokonalit používání přídatných látek enzymů v krmivech pro přežvýkavce. Studie prokázaly pozitivní vliv zvýšené stravitelnosti krmiva na dojivost u dojnic, kterým bylo podáváno krmivo s přidavkem fibrinolytických enzymů. Účinek však závisí na podávané dávce [1, 13, 56].

4.5 Vaječný bílek

Vaječný bílek je jednou ze stavebních součástí vejce. Vyživuje vejce a slouží jako ochranné prostředí. Vaječný bílek obsahuje enzym lysozym, který řadíme do skupiny hydrolytických enzymů, mající antibakteriální účinek. Podrobné studie enzymu lysozymu byly prováděny z bílku vajec slepic a emu. Při dlouhodobém skladování ztrácí lysozym své antibakteriální vlastnosti. Účinek lysozymu bývá inhibován heparinem, polysacharidy, glutamylpolypeptidem a DNA. Vaječný bílek obsahuje také enzym glykozidázu, katalázu, peptidázu a esterázu [23, 57].

Zajímavostí je, že lysozym v nativním stavu, izolovaný ze slepičích, husích a želvích bílků má sladkou chuť, ale lidský lysozym je bez chuti. Enzymovou aktivitu i sladkou chuť slepičího lysozymu ruší tepelná denaturace a redukce disulfidových můstků. Naopak, modifikací karboxylových skupin aminomethansulfonovou kyselinou ztrácí lysozym enzymovou aktivitu, ale sladkou chuť si zachovává [58].

Antibakteriálního účinku lysozymu se využívá v řadě farmakologických preparátů (viz. Kap. 5) [59].

4.6 Maso

Význam enzymů masa ve výživě je dán tepelným opracováním suroviny, což s sebou nese denaturaci bílkovin, včetně enzymů. Hlavní roli hrají především enzymatické změny, které ve svalovině probíhají při a po usmrcení zvířete. Ve svalovině jatečných zvířat probíhají enzymové reakce energetického a látkového metabolismu. Tyto reakce jsou spojeny s fyziologickými funkcemi a biologickou strukturou živých tkání. Katabolickými (degradačními) procesy se získává energie pro anabolické (syntetické) procesy. Aktivita nativních enzymů vyžaduje optimální podmínky, jako je aerobní prostředí, příjem potravy, vylučování metabolitů, optimální pH a teplotu organismu. Usmrcením jatečného zvířete se enzymové reakce změň. Zastaví se přísun kyslíku a potravy, sníží se teplota tkání, mění

se pH. Metabolické produkty se začínají hromadit ve tkáních při přerušení krevního oběhu. V postmortálním období působí nativní enzymy. Tento proces označujeme autolýzou (samovolný rozklad masa) [9, 11, 23].

Oxidační procesy vedou ke zhoršení kvality masa. Aktivita lipolytických a proteolytických enzymů patří mezi důležité aspekty ovlivňující kvalitu masa. Maso obsahuje také antioxidační enzymy, jako přirozený ochranný systém organismu. Aktivita antioxidačních enzymů je pro každé zvíře jiná [11, 60].

V současnosti se zvýšil zájem o prokázání autentičnosti a čerstvosti masa. Metoda schopná rozlišit čerstvé maso od rozmraženého je založena na stanovení enzymového profilu. Tato metoda se označuje HADH (enzymatická β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenázová metoda). Patří mezi spektrofotometrické metody, sledující pokles absorbance [61].

4.7 Med

I když z nutričního hlediska není význam enzymů v medu popsán, jde o velmi důležité látky, které jsou nezbytné pro tvorbu medu z nektaru a medovice. Vzhledem k tomu, že jsou enzymy termolabilní, může jejich snížený obsah indikovat nevhodné a nežádoucí tepelné ošetření medu. S časem skladování se rovněž snižuje aktivita enzymů.

Enzymy přítomné v medu můžeme rozdělit podle původu do 3 skupin:

1. Enzymy včelího původu:

Přeměna nektaru nebo medovice na med probíhá působením enzymů hypopharyngeálních žláz včel. Patří zde enzymy invertáza, glukosidáza a amyláza.

2. Enzymy pocházející z jiného sociálního hmyzu:

Nejen včely, ale i jiné druhy hmyzu (vosy, mravenci, čmeláci) mohou vylučovat invertázu do šťáv rostlin. Současně vylučuje tento hmyz glukózooxidázu, tento glukózooxidázový systém slouží k ochraně proti patogenním mikroorganismům.

3. Enzymy rostlinného původu

Med může obsahovat enzymy přítomné v nektaru, medovici nebo pylu, jejich obsah bývá ovlivněn druhem rostliny. Patří zde enzymy kataláza a kyselá fosfatáza.

Enzymová aktivita medu je způsobena převážně sekretem hltanových žláz včel. Nejdůležitějšími enzymy jsou invertáza a diastáza. Významným je především stanovení aktivity diastázy, která se vyjadřuje tzv. Shadeho číslem (počet ml 1% škrobového roztoku, který je hydrolyzován 1g medu za 1 hodinu při 40°C a pH 5,3). Podle požadavků EU by měl mít přírodní med 8° Shadeho jednotek. Nižší hodnoty poukazují na nevhodné zahřívání nebo skladování medu [62].

5 DOPLŇKOVÉ ZDROJE ENZYMŮ

Pokud jsou enzymy do stravy přidávány formou doplňků, musí být podávány v dávkách, nedosahujících dávek terapeutických. Největší část tvoří enzymy podporující trávení spolu s dalšími látkami, podporující fyziologické pochody v gastrointestinálním traktu. Zde se podílí na rozkladu přijaté potravy na menší, jednodušší látky, absorbované přes střevní stěnu do krve a transportované k buňkám. Během procesu stárnutí dochází k úbytku produkovaných enzymů a tím i ke zhoršení procesu trávení, k oslabení imunity a k různým metabolickým poruchám. Enzymy v enzymových preparátech jsou živočišného i rostlinného původu. Také jsou produkovány v geneticky modifikovaných kmenech *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* nebo *Saccharomyces cerevisiae*. Tyto kmeny jsou považovány za bezpečné z potravinářského hlediska [45, 63].

Hlavním příznakem nedostatku proteáz je alkalizace krve. Dochází k otokům a špatnému trávení, vedoucímu k syndromu toxického tračnicku, který může skončit až rakovinou tlustého střeva. Nedostatek lipáz vede ke zvýšení hladiny cholesterolu a triacylglycerolů v krvi, k obezitě a diabetu. Může dojít k vážným onemocněním srdce i cév, chronickým únavám a svalovým křečím. U absence amyláz v lidském těle se zvyšuje náchylnost vzniku abscesů, kožních a plicních onemocnění, jako jsou opary, ekzémy, astma nebo atopické dermatitidy [16, 59, 63].

Enzymoterapie je terapie založená na podávání komplexu přírodních proteolytických enzymů, tvořených z enzymů rostlinného (Bromelain, Papain) a živočišného (trypsin, chymotrypsin) původu. Proteolytické přípravky jako je Wobenzym® a Phlogenzym® jsou široce využívány pro tzv. enzymovou terapii u lidí i zvířat. Enzymy v tabletách jsou chráněny speciálním obalem, před poškozením v kyselém prostředí žaludku a před vlastními trávicími enzymy v GIT člověka nebo zvířete. Obal se rozpouští až v dolní části tenkého střeva, kde probíhá uvolnění enzymových molekul při zachování jejich aktivity. Tyto přípravky mají prokázat účinek na imunitní systém ovlivněním zánětlivých reakcí v organismu. Enzymoterapie se zdá být užitečnou v léčbě kardiovaskulárních, onkologických, střevních, virových a dědičných onemocnění [15, 16, 59, 64].

5.1 Léčiva

Pankreatické a proteolytické enzymy se využívají mimo jiné i k substituční léčbě při onemocnění trávicího ústrojí.

- Pankreatické enzymy

Při poruše zevní sekrece pankreatu se používá substituční směsi trávicích enzymů, označujících se jako pankreatin nebo pankrealipáza. Obsahují amylázu, proteázu a lipázu. Pankreatin rozkládá tuky na glycerol a mastné kyseliny, hydrolyzuje proteiny a přeměňuje škrob na dextriny a glukózu. Nejdůležitější složkou je lipáza, která odstraňuje steatoreu.

- Proteolytické enzymy

Trypsin, chymotrypsin, papain a bromelin představují proteolytické enzymy. Kromě místního použití v dermatologii se začaly používat rovněž perorálně k terapii některých celkových onemocnění. Tyto léčivé přípravky se používají při chronické i akutní revmatické chorobě, jako pomocné léčivo při nádorových onemocněních nebo jiných chorobných stavech [16, 59, 65].

Současná farmakologie rozlišuje enzymoterapii substituční a systémovou. Cílem substitučního podávání trávicích enzymů je odstranění poruch digesce potravy, vyvolávaných nejčastěji insuficiencí pankreatické sekrece trávicích enzymů. Základní složkou enzymových přípravků je především pankreatická lipáza, případně v kombinaci s amylázou a menším podílem proteináz. Tyto enzymy jsou zásadně podávány s potravou. Naproti tomu pro systémovou enzymoterapii je proteolytický účinek zásadní, a proto jsou pro ni používány především proteinázy živočišného a rostlinného původu. Jejich částečná resorpce střevní sliznicí v intaktní formě je základem účinku těchto přípravků, které se zásadně podávají na lačno [16, 59].

Následující tabulka vyjadřuje rozdíly mezi substituční a systémovou enzymoterapií:

Tabulka 5: Rozdíly mezi substituční a systémovou enzymoterapií [16]

	Substituční enzymoterapie	Systémová enzymoterapie
Použité enzymy	lipáza ve formě pankreatinu nebo čištěná pankreatická lipáza s vyšší lipolytickou schopností	kombinace živočišných a rostlinných proteáz
Léková forma	enterosolventní tablety	enterosolventní tablety (výjimečně tablety pro přípravu klyzmatu)
Resorpce	nepředpokládá se	je základní podmínkou pro dosažení předpokládaného systémového účinku
Doba podávání	současně s potravou - digestivní účinek	zásadně nalačno

Specifického účinku enzymů bylo využito k přípravě mnoha enzymových léků pro široké spektrum poruch. Proteolytické a glykolytické enzymy se využívají pro léčbu poškozené tkáně. K léčení infekčních onemocnění se využívá enzym lysozym, jako přirozeně se vyskytující antibakteriální činidlo (viz. Kap. 4.5.). Lysozym by mohl otevřít některé zajímavé možnosti v léčbě HIV infekce. Jsou prováděny studie vlivu enzymů na rakovinné buňky. Nedávné studie ukázaly, že enzym arginin deamináza může potlačit lidský melanom a hepatocelulární karcinomy. Další enzym-Oncaspar prokázal zlepšení výsledků při léčbě dětí s diagnostikovanou akutní lymfoblastickou leukémií. V posledních desetiletích byl zaznamenán velký pokrok v biotechnologiích, který umožnil farmaceutickým společnostem vyrábět bezpečnější a levnější enzymy se zvýšenou účinností a specifíčností [59, 66].

Část světové populace trpí nesnášenlivostí laktózy. Těmto lidem příjem mléka a produktů z mléka může způsobovat vážné střevní potíže. Předběžné ošetření mléka enzymem laktózy (β -galaktozidázy) převádí laktózu na glukózu a galaktózu. Tyto monosacharidy mohou být konzumovány bez problémů i pro člověka s nesnášenlivostí laktózy. Neutralact® je název enzymatického přípravku získaného z homologického kmene rDNA *Kluyveromyces lactis*. Tento enzymový přípravek byl podroben sérii toxikologických testů, aby se prokázala bezpečnost pro použití v mlékárenském průmyslu. Výsledky neprokázaly žádné klinické příznaky toxicity nebo změny chování, související s léčbou [67].

Prováděné výzkumy zjistili pokrok ve vývoji pilulky, která by mohla pomoci při trávení lepku, lidem trpících celiakií. Celiakie je onemocnění, při kterém lepek obsažený v pšenici, ječmeni nebo rýži způsobuje zánětlivé onemocnění v trávicím traktu. Enzymy v žaludku lepek rozkládají na peptidy, které u celiaků způsobují bolestivé symptomy. V současné době je jedinou léčbou bezlepková dieta. Nový enzym (KumaMax) rozkládá více než 95% peptidů, souvisejících s celiakií v kyselém prostředí žaludku. Tento enzym se zdá být silným kandidátem jako perorální léčivo pro celiaky [68].

5.2 Potravinové doplňky

Účinnost a složení enzymových přípravků bývají předmětem vášnivých diskusí. Účinnými molekulami zde bývají proteolytické enzymy rostlinného i živočišného původu adjustované do enterosolventního obalu. V tenkém střevě pak dochází k jejich absorpci, a to především endocytózou enterocyty, membranózními buňkami Peyerových plaků či toulavými lymfocyty. Rovněž je diskutována možnost přestupu přes otevřená spojení mezi

jednotlivými enterocyty. V krvi jsou resorbované enzymy vázány na transportní proteiny, čímž se zakryje jejich potencionální antigenicita. Krevní cestou jsou tyto enzymy roznášeny do místa zánětu či pouhého otoku, kde odbourávají různé zánětlivé působy, produkty koagulace, ale i řadu dalších látek, což v konečném důsledku vede k obnovení porušené mikrocirkulace, zmenšení otoku, respektive hematomu, snížení bolestivosti, a nakonec i k urychlenému hojení [29].

5.2.1 Potravinové doplňky pro zvířata

Exogenní enzymy jsou přidávány do krmných směsí, jako jsou zrniny, zejména ječmen a rýže. Napomáhají ke zlepšení stravitelnosti živin a následným změnám střevní mikroflóry [18].

Používání exogenních enzymů pro zlepšení růstu a produkci je běžné. Mechanismem účinku je odstranit antinutriční faktory, čímž se zvýší nutriční hodnota krmiva. Vláknina bývá považována u zvířat jako antinutriční faktor, snižující trávení živin, především proteinů, aminokyselin a minerálních látek. V některých studiích byla zaznamenána i zvýšená produkce mléka, doplněním fibrinolytických enzymů do stravy (viz. Kap. 4.4) [18, 39, 59].

Průmyslově vyráběné enzymy jsou stále více využívány jako doplňkové látky pro zlepšení nutričních vlastností masa hospodářských zvířat. Výsledky ukazují na prospěšnost enzymových diet. Pokud jsou dietní enzymy účinné jako modifikátory fermentace v batoru zvířat, musí odolávat i enzymové proteolýze mikroorganismů po dostatečně dlouhou dobu. Většina komerčních enzymových přípravků se skládá ze směsi hydrolytických enzymů [1, 18, 21, 70].

5.2.2 Potravinové doplňky pro člověka

Je známo, že výživa dítěte, kojící matky, sportovců i seniorů by měla být pestrá a vyvážená. Doporučený příjem ovoce a zeleniny v potravě bývá cca 1,5-2 kg na týden. V ovoci, zelenině, mléku a obilovinách se nachází spousta enzymů, působících blahodárně na náš organismus [71].

Mezi doplňky stravy můžeme zařadit mladou pšenici i zelené řasy. Spirulina je sinice vyráběná ze dvou druhů sinic: *Arthrospira platensis* a *Arthrospira maxima*, za účelem výroby potravin, potravinových doplňků, nebo tablet. Patří mezi modrozelené řasy, obsahující chlorofyl a barvivo fytocyanin. Je velmi bohatá na enzymatické pigmenty, které

tělo využívá pro správnou funkci organismu. Spirulina přispívá ke snižování sezonních pylových alergií, napomáhá při redukci váhy, podporuje nárůst červených krvinek a imunitní systém. Je užitečná při prevenci a léčbě nádorových onemocnění a potlačuje množení celé řady virů.

Mladá pšenice obsahuje vyvážené množství všech živin, které jsou potřebné ke správné funkci organismu. Důležitým enzymem v mladé pšenici je superoxid dismutáza (SOD), který hraje důležitou roli při ochraně proti působení radiace, zánětlivým procesům a při podpoře buněčné regenerace.

Velmi oblíbené jsou klíčky Alfaly (vojtěšky), které obsahují velké množství enzymů. Esenciálních, které si tělo neumí samo vyrobit a je odkázáno na jejich příjem potravou obsahuje 8, mezi které patří: lipázu, amylázu, koagulázu, emulzin, invertázu, pektinázu a proteázu. Jako potravní doplněk se využívají mladé výhonky, které se suší a melou na prášek, nebo se z nich vyrábí džus. Vojtěška napomáhá trávení, snižuje hladinu krevního cukru a podporuje regeneraci a hojení poranění [72].

ZÁVĚR

Použití enzymů ve všech oblastech lidské činnosti je „rozsáhlé“ a tato práce určitě nevystihuje všechny obory. Je zde shrnuto zastoupení enzymů v běžných potravinách, popřípadě v potravinových doplňcích. Pozornost je věnována také faktorům, které ovlivňují enzymovou aktivitu při zpracování, skladování nebo kulinární úpravě potravin.

Přítomnost enzymů ve stravě má pro organismus zásadní význam. Pokud člověk přijímá pouze tepelně a chemicky upravenou stravu, dochází k tomu, že organismus si všechny potřebné enzymy musí vyprodukovat sám. Přirozeně se vyskytují enzymy v ovoci, zelenině, obilovinách, mléku, masu, medu, vejcích apod. Enzymové doplňky stravy můžeme přijímat ve formě tablet, pilulek nebo prášku. Mezi enzymové doplňky stravy můžeme zařadit řasu spirulinu, zelený ječmen, vojtěšku nebo také enzymové preparáty typu Wobenzym, Prevenzym apod. Doplňky stravy nejsou určeny jako náhrada pevné stravy, ale jako její součást.

Studium enzymů a možností ovlivnění jejich aktivity a substrátové specifity přináší řadu nových aplikací, především v humánní medicíně. V současnosti je stále více využívána nová léčebná metoda tzv. systémová enzymoterapie, která cíleně používá směsi rostlinných a živočišných enzymů ve formě tablet. Aby nedocházelo v žaludku k poškození kyselými trávicími šťávami, podávají se v tabletách, kde jsou chráněny speciálním obalem. Rozpouštějí se až v prostředí tenkého střeva, kde dochází k vstřebávání části enzymů do krevního oběhu a tkání. Pak působí v celém organismu, např. v místech zánětu, poranění apod.

V potravinářském průmyslu se už odnedávna používají enzymy v procesech fermentace, v medicíně se využívají jako léčiva, v zemědělství jako přísady do krmných směsí a také mají svůj význam v DNA-technologiích.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] VODRÁŽKA, Z., RAUCH, P., KÁŠ, J. *Enzymologie*. 3. Vydání. Praha, Vysoká škola chemicko-technologická, 1998. 171 str. ISBN 80-7080-330-4.
- [2] ELLIOTT, William H a Daphne C ELLIOTT. *Biochemistry and molecular biology*. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, c2005, xxviii, 582 s. ISBN 0199271992.
- [3] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D., BUDÍNSKÝ, P. *Potravinářská biochemie II.*, 1. vydání. Zlín: UTB ve Zlíně, Academia Centrum, 2006, ISBN 80-7318-395-1.
- [4] VODRÁŽKA, Z. *Biochemie*. 1. vydání. Praha, Scientia, spol. s.r.o., pedagogické nakladatelství, 1998. 161 str. ISBN 80-7183-083.
- [5] ROSYPAL, Stanislav. *Úvod do molekulární biologie: Díl první*. (Informační makromolekuly-Molekulární biologie prokaryot). 3. vyd. Brno: Stanislav Rosypal, 1999, 300 s. ISBN 80-902-5620-1.
- [6] MURRAY, Robert K. *Harperova biochemie*. Vyd. V ČR 4., V H&H 3. Praha: H&H, 2002, ix, 872s. ISBN 80-7319-013-3.
- [7] *Základy biochemických procesů*. Distanční text, UTB ve Zlíně, [online],[cit. 2012-12-20]. Dostupné z WWW:<http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0112_zaklady_biochemickyh_procesu_distancni_text/M0112_zaklady_biochemickyh_procesu_distancni_text.pdf>.
- [8] *Chemie a analýza potravin*. Distanční text, UTB ve Zlíně, [online], [cit. 2013-2-21]. Dostupné z WWW:<http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0028_chemie_a_analyza_potravin/distancni_text/M0028_chemie_a_analyza_potravin_distancni_text.pdf>.
- [9] KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2009, 536 s. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-051-4.
- [10] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin II*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2002, 236 s. ISBN 80-708-0510-2.
- [11] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin I*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2002, 300 s. ISBN 80-708-0509-9.
- [12] KUROVA, V. S., I. N. KUROCHKIN, G. R. KALAMKAROV, A. E. BUGROVA, K.Yu. FEDORTCHENKO a S. D. VARFOLOMEEV. Structural and catalytic polymorphism of human enzymes: Novel potential platforms for

- biomedical diagnostics. *Biotechnology Advances*. 2009, roč. 27, č. 6, s. 945-959. ISSN 07349750.
- [13] FITZGERAND-HAYES, M., REICHSMAN, F., DNA and Biotechnology (3rd. Edition). *Elsevier*. 2010, s. 429, ISBN 978-0-08-091635-4.
- [14] ROSYPAL, Stanislav. *Úvod do molekulární biologie: Díl čtvrtý. Rostlinné viry, priony, molekulární evoluce, vznik života, základní metody molekulární biologie, genové inženýrství, genová terapie*. 3. vyd. Brno: Stanislav Rosypal, 2000, s.904-1200. ISBN 80-902-5624-4.
- [15] TORCHILIN, V. P. Immobilised enzymes as drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*. roč. 1, č. 1, s. 41-86. ISSN 0169409x.
- [16] LINCOVÁ, Dagmar a Hassan FARGHALI. *Základní a aplikovaná farmakologie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, 2007, xxiv, 672 s. ISBN 978-807-2623-730.
- [17] BEILEN, Jan B. Van a Zhi LI. Enzyme technology: an overview. *Current Opinion in Biotechnology*. 2002, roč. 13, č. 4, s. 338-344. ISSN 09581669.
- [18] RADA, Vojtěch a Jaroslav HAVLÍK. *Enzymy ve výživě hospodářských zvířat*. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, 2010, 37 l. ISBN 978-80-7403-065-9.
- [19] GARCÍA-RUIZ, Roberto, Victoria OCHOA, M. Belén HINOJOSA a Jose Antonio CARREIRA. Suitability of enzymes activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry*. 2008, roč. 40, č. 9, s. 2137-2145. ISSN 00380717
- [20] *Enzymy metabolizující kontaminanty životního prostředí*. *Chemické listy*, 98, 876-890 (2004). [online]. [cit. 2013-3-22]. Dostupné z WWW:<<http://www.chemicke-listy.cz>>.
- [21] HOWELL, E., *Enzymová výživa. Jak jsou enzymy důležité*. Pragma, Praha, 1985. 197 str., ISBN 80-7205-109-1.
- [22] HOLZAPFEL, W. H., R. GEISEN a U. SCHILLINGER. Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. *International Journal of Food Microbiology*. 1995, roč. 24, č. 3, s. 343-362. ISSN 01681605.
- [23] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin I. Rozš. a přeprac. 3. vyd.* Tábor: OSSIS, 2009, xxii, 580 s. ISBN 978-80-86659-17-6.

- [24] ROP, O., VALÁŠEK, P., HOZA, I. *Teoretické principy konzervace potravin I: Hlavní konzervářské suroviny*. Zlín, Univerzita Tomáše Bati, 2005. 130 str. ISBN 80-7318-339-0.
- [25] INGR, Ivo. *Základy konzervace potravin*. Vyd. 3., přeprac. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007, 119, [18] s. ISBN 978-80-7375-110-4.
- [26] *Výroba réвовých a ovocných vín*. Distanční text, UTB ve Zlíně, [online], [cit. 2013-3-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.primat.cz/utb-ft/predmety/vyroba-alkoholickych-a-neaolkoholickych-napoj-u-q13051/vino-m98065/download>>.
- [27] MÜLLEROVÁ, M., SKOUPIL, J. *Technologie pro 4. ročník střední průmyslové školy studijního oboru zpracování mouky*. Vyd. 1. Praha: SNTL, 1988, 235 s.
- [28] Úř. Věst. L354, 31. 12. 2008, s. 7. [online], [cit. 2013-3-26].
- [29] SLÍVA, Jiří a Juraj MINÁRIK. *Doplňky stravy*. Vyd. 1. Praha: Triton, 2009, 124 s. ISBN 978-807-3871-697.
- [30] *Nová regulace enzymů v EU nařízení 13332/2008*. [online], [cit. 2013-3-26]. Dostupné z WWW: <<http://www.bezpecnostpotravin.cz/nova-regulace-enzymu-v-eu-narizenim-1332-2008>>.
- [31] Enzyme improves beer filtration. *Filtration*. 2007, roč. 44, č. 6, s. 10-. ISSN 00151882.
- [32] PERDANA, J., M. B. FOX, M. A. I. SCHUTYSER a R. M. BOOM. Enzyme inactivation kinetics: Coupled effects of temperature and moisture content. *Food Chemistry*. 2012, roč. 133, č. 1, s. 116-123. ISSN 03088146.
- [33] ZHANG, Zi, Kohei NAKANO, Shigenori MAEZAWA a R. M. BOOM. Comparison of the antioxidant enzymes of broccoli after cold or heat shock treatment at different storage temperatures: Coupled effects of temperature and moisture content. *Postharvest Biology and Technology*. 2009, roč. 54, č. 2, s. 101-105. ISSN 09255214.
- [34] CHAN, Jacky T. Y., Dileep A. OMANA, Mirko BETTI a R. M. BOOM. Effect of ultimate pH and freezing on the biochemical properties of proteins in turkey breast meat: Coupled effects of temperature and moisture content. *Food Chemistry*. 2011, roč. 127, č. 1, s. 109-117. ISSN 03088146.

- [35] JHA, Pankaj Kumar, V. B. KUDACHIKAR a Sourav KUMAR. Lipase inactivation in wheat germ by gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*. 2013. ISSN 0969806x.
- [36] KYZLINK, Vladimír. *Principles of food preservation*. New York: Elsevier, 1990, 598 s. ISBN 04-449-8844-0.
- [37] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. 2. upr. vyd. Tábor: OSSIS, 2002, 331 s. ISBN 80-866-5903-8.
- [38] QUEVEDO, R., B. RONCEROS, K. GARCIA, P. LOPEZ a F. PEDRESCHI. Enzymatic browning in sliced and pureed avocado: A fractal kinetic study. *Journal of Food Engineering*. 2011, roč. 105, č. 2, s. 210-215. ISSN 02608774.
- [39] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3*. 2. upr. vyd. Tábor: OSSIS, 2002, 331 s. ISBN 80-866-5903-8.
- [40] HE, Qiang, Yaguang LUO a Pei CHEN. Elucidation of the mechanism of enzymatic browning inhibition by sodium chlorite. *Food Chemistry*. 2008, roč. 110, č. 4, s. 847-851. ISSN 03088146.
- [41] GUILLAMÓN, Eva, Mercedes M. PEDROSA, Carmen BURBANO, Carmen CUADRADO, María de Cortes SÁNCHEZ a Mercedes MUZQUIZ. The trypsin inhibitors present in seed of different grain legume species and cultivar. *Food Chemistry*. 2008, roč. 107, č. 1, s. 68-74. ISSN 03088146.
- [42] LAGAERT, Stijn, Tim BELIENEM a Guido VOLCKAERT. Plant cell walls: Protecting the barrier from degradation by microbial enzymes. *Seminars in Cell*. 2009, roč. 20, č. 9, s. 1064-1073. ISSN 10849521.
- [43] *Plant foods for human nutrition*. ISBN 0921-9668.
- [44] TRAVERSA, Eduardo, Gláucia Maria MACHADO-SANTELLI a Maria Valéria Robles VELASCO. Histological evaluation of hair follicle due to papain's depilatory effect. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007, roč. 335, 1-2, s. 163-166. ISSN 03785173.
- [45] OPLETAL, Lubomír. *Přírodní látky a jejich biologická aktivita*. Vyd. 1. Praha: Karolinum, 2011, 378 s. ISBN 978-802-4618-845.
- [46] CHOBOTOVA, Katya, Ann B. VERNALLIS a Fadzilah Adibah Abdul MAJID. Bromelain s activity and potential as an anti-cancer agent: Current evidence and perspectives. *Cancer Letters*. 2010, roč. 290, č. 2, s. 148-156. ISSN 03043835.

- [47] ZULLI, Gislaine, Patrícia Santos LOPES, Maria Valéria Robles VELASCO, Mara Tania Silva ALCÂNTARA, Sizue Ota ROGERO, Ademar Benévolo LUGAO a Monica Beatriz MATHOR. Influence of gamma radiation onto polymeric matrix with papain. *Radiation Physics and Chemistry*. 2010, roč. 79, č. 3, s. 286-288. ISSN 0969806x.
- [48] AJILA, C. M., S. G. BHAT a U. J. S. PRASADA RAO. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. *Food Chemistry*. 2007, roč. 102, č. 4, s. 1006-1011. ISSN 03088146.
- [49] STEINKELLNER, Hans, Sylvie RABOT, Christian FREYWALD, Eva NOBIS, Gerlinde SCHARF, Monika CHABICOVSKY, Siegfried KNASMÜLLER a Fekadu KASSIE. Effects of cruciferous vegetables and their constituents on drug metabolizing enzymes involved in the bioactivation of DNA-reactive dietary carcinogens. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2001, 480-481, s. 285-297. ISSN 00275107.
- [50] SINGH, B. K., S. R. SHARMA a B. SINGH. Antioxidant enzymes in cabbage: Variability and inheritance of superoxide dismutase, peroxidase and catalase. *Scientia Horticulturae*. 2010, roč. 124, č. 1, s. 9-13. ISSN 03044238.
- [51] JANG, M. H., E. H. PARK, J. G. YU, D. H. KIM, N. S. HAN a M. D. KIM. Isolation of highly efficient β -glucosidase producing lactic acid bacteria from Korean fermented vegetable Kimchi. *Journal of Biotechnology*. 2010, roč. 150, s. 368-369. ISSN 01681656.
- [52] STEENFELDT, Sanna, Anette MÜLLERTZ a J FRIS JENSEN. Enzyme supplementation of wheat-based diets for broilers. *Animal Feed Science and Technology*. 1998, roč. 75, č. 1, s. 27-43. ISSN 03778401.
- [53] HELSBY, Nuala A, Shuotun ZHU, Amira E PEARSON, Malcolm D TINGLE a Lynnette R FERGUSON. Antimutagenic effects of wheat bran diet through modification of xenobiotic metabolising enzymes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2000, roč. 454, 1-2, s. 77-88. ISSN 00275107.
- [54] KELLY, A. L. a P. F. FOX. Indigenous enzymes in milk: A synopsis of future research requirements. *International Dairy Journal*. 2006, roč. 16, č. 6, s. 707-715. ISSN 09586946.

- [55] SILANIKOVE, Nissim, Uzi MERIN a Gabriel LEITNER. Physiological role of indigenous milk enzymes: An overview of an evolving picture. *International Dairy Journal*. 2006, roč. 16, č. 6, s. 533-545. ISSN 09586946.
- [56] HOLTSHAUSEN, L., Y. H. CHUNG, H. GERARDO-CUERVO, M. OBA a K. A. BEAUCHEMIN. Improved milk production efficiency in early lactation dairy cattle with dietary addition of a developmental fibrolytic enzyme additive. *Journal of Dairy Science*. 2011, roč. 94, č. 2, s. 899-907. ISSN 00220302.
- [57] MAEHASHI, Kenji, Mami MATANO, Tomohiro IRISAWA, Masataka UCHINO, Yutaka KASHIWAGI a Toshihiro WATANABE. Molecular characterization of goose- and chicken-type lysozymes in emu (*Dromaius novaehollandiae*): Evidence for extremely low lysozyme levels in emu egg white. *Gene*. 2012, roč. 492, č. 1, s. 244-249. ISSN 03781119.
- [58] *Necukerné přírodní látky sladké chuti*. Chemické listy, 101, 44-54 (2007). [online]. [cit. 2013-3-13]. Dostupné z WWW:<<http://www.chemicke-listy.cz>>.
- [59] VELLARD, Michel. The enzyme as drug: application of enzymes as pharmaceuticals. *Current Opinion in Biotechnology*. 2003, roč. 14, č. 4, s. 444-450. ISSN 09581669.
- [60] HERNÁNDEZ, P., L. ZOMEÑO, B. ARINO a A. BLASCO. Antioxidant, lipolytic and proteolytic enzyme activities in pork meat from different genotypes. *Meat Science*. 2004, roč. 66, č. 3, s. 525-529. ISSN 03091740.
- [61] BALLIN, N. Z. Authentication of meat and meat products. *Meat Science*. 2010, roč. 86, č. 3, s. 577-587. ISSN 03091740.
- [62] VORLOVÁ, Lenka. *Med: souborná analýza*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, 2002, 67 s. ISBN 80-730-5450-7.
- [63] SLÁMOVÁ, K. *Enzymy prodávané jako potravní doplňky*. Bioprospect 17 (2), 28, 1997.
- [64] BIZIULEVIČIUS, Gediminas A. Where do the immunostimulatory effects of oral proteolytic enzymes (systemic enzyme therapy) come from? Microbial proteolysis as a possible starting point. *Medical Hypotheses*. 2006, roč. 67, č. 6, s. 1386-1388. ISSN 03069877.

- [65] SLÍVA, Jiří a Martin VOTAVA. *Farmakologie. 1. vyd.* V Praze: Triton, 2010, 238 s. ISBN 978-807-3874-247.
- [66] GUO, Zheng, Anders F. VIKBJERG a Xuebing XU. Enzymatic modification of phospholipids for functional applications and human nutrition. *Biotechnology Advances*. 2005, roč. 23, č. 3, s. 203-259. ISSN 07349750.
- [67] COENEN, T. M. M, A. M. C BERTENS, S. C. M DE HOOG a C. M VERSPEEK-RIP. Safety evaluation of a lactase enzyme preparation derived from *Kluyveromyces lactis*. *Food and Chemical Toxicology*. 2000, roč. 38, č. 8, s. 671-677. ISSN 02786915.
- [68] GORDON, Sydney R., Elizabeth J. STANLEY, Sarah WOLF, Angus TOLAND, Sean J. WU, Daniel HADIDI, Jeremy H. MILLS, David BAKER, Ingrid Swanson PULTZ a Justin B. SIEGEL. Computational Design of an α -Gliadin Peptidase. *Journal of the American Chemical Society*. 2012-12-19, roč. 134, č. 50, s. 20513-20520. ISSN 0002-7863.
- [69] BOWMAN, G. R., K. A. BEAUCHEMIN a J. A. SHELFORD. The Proportion of the Diet to which Fibrolytic Enzymes are Added Affects Nutrient Digestion by Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 2002, roč. 85, č. 12, s. 3420-3429. ISSN 00220302.
- [70] MORGAVI, Diego P., C. James NEWBOLD, David E. BEEVER a R. John WALLACE. Stability and stabilization of potential feed additive enzymes in rumen fluid. *Enzyme and Microbial Technology*. 2000, roč. 26, 2-4, s. 171-177. ISSN 01410229.
- [71] PÁNEK, Jan. *Základy výživy*. 1. vyd. Praha: Svoboda Servis, 2002, 207 s. ISBN 80-863-2023-5.
- [72] DALLEN, M. *Zelené potraviny. Když je jídlo našim lékem*. Blue step spol. s.r.o., Praha, 2012, 113str., ISBN 978-80-254-4590-7.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

- E. C. Enzyme commission.
GIT Gastrointestinální trakt.
ATP Adenosintrifosfát.
AMP Adenosinmonofosfát.

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1</i> Zařazení enzymu v klasifikaci EC [6]	14
---	----

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Základní klasifikace enzymů [7]	14
Tabulka 2: Enzymy v rostlinné potravě [21]	18
Tabulka 3: Enzymy v živočišné potravě [21]	21
Tabulka 4: Rozdělení enzymových změn v potravinách [25]	26
Tabulka 5: Rozdíly mezi substituční a systémovou enzymoterapií [16]	37