

Vplyv teploty a času na aktivitu mitochondriálnej ATP-ázy a respiračnú aktivitu mitochondrií pečene

F. KLEMPOVÁ, V. ČEPKOVÁ

Mitochondrie sú najlepšie preskúmané štruktúrne elementy bunky. V mikroskopie sa javia ako podhlovasté alebo oválne telieska rôznej veľkosti — dlhé 0,5—3,0 μm a široké 0,1—0,6 μm podľa pôvodu biologického materiálu. Počet mitochondrií v bunke je taktiež rozličný.

V elektrónovom mikroskopе môžeme rozpoznať na tenkom reze membránovitú vnútornú štruktúru „cristae mitochondriales“. Takto sa štrukturálne dajú rozlišiť dva rôzne priestory — intrakristálny a intramitochondriálny. Intramitochondriálny priestor je bohatý na enzýmy, kých druhý pravdepodobne obsahuje rozpustné nízkomolekulárne látky. Obidva priestory sú oddelené dvojitoj membránou, ktorá obsahuje hodne lipidov (hlavne fosfolipídov — až 30%).

Vnútorná štruktúra mitochondrií sa líši tiež podľa orgánov. Pritom je pravidlom, že mitochondrie s mnohými lamelami (napr. v aeróbne pracujúcich svaloch) slúžia prevažne na dýchanie a produkcii energie; mitochondrie s malým počtom vnútorných membrán, (napr. pečeňových buniek) obsahujú mnoho syntetizujúcich enzýmov. (1).

Z mnohých enzýmových systémov mitochondrií treba na prvom mieste uviesť dýchací reťazec. Cytochróm c sa vyskytuje aj mimo mitochondrií, celý dýchací ferment (cytochromoxidáza) je však koncentrovaný v mitochondriách. Enzýmový systém možno dokázať i vo fragmentoch mitochondrií. Z čiastočne porušených mitochondrií sa teda dajú oddeliť časticie, ktoré ešte obsahujú časticie dýchacieho reťazca a ktoré sú nazvané „časticami prenášajúcimi elektróny“. Podľa Greena sa na výstavbe týchto častic zúčastňujú 4 komplexy: sukcinátdehydrogenáza, NADH-ubichinónreduktáza, ubichinón-cytochróm c-reduktaza a cytochrómoxidáza.

Okrem prenosu elektrónov a tvorby ATP je v mitochondriách lokalizovaný ešte cyklus kyseliny citrónovej. Jednotlivé enzýmy, ktoré v ňom spolupôsobia, sa súčasťou vyskytujú i v cytoplazme, celý cyklus však prebieha len v mitochondriach.

Pri rozpade na menšie časticie strácajú mitochondrie podľa stupňa deštrukcie postupne svoje pôvodné funkcie. Najprv sa znížuje aktivita oxidoredukčných enzýmov kyseliny citrónovej, potom aeróbna fosforylácia a najdlhšie zotrvava enzýmový systém prenášajúci elektróny.

Oxidačná fosforylácia (aeróbna fosforylácia) predstavuje pomerne zložitý komplex enzymatických procesov, ktorého výsledkom je syntéza ATP spojená

s transportom elektrónov dýchacím refazcom mitochondrií (2). Syntéza ATP je základnou funkciou mitochondrií.

Význam dýchacieho refazca s jeho redoxnou kaskádou spočíva teda v tom, že v jednotlivých stupňoch sa môže voľná energia oxidácie odvádzat vo forme chemickej energie a uskladňovať ako ATP. Tento proces nazývame „oxidačná fosforylácia“. Ak sa oxiduje 1 mól NADH pomocou $1/2 O_2$, uvoľní sa 52 kcal. Na tvorbu 3 mолов ATP z ADP a P_i treba 21 kcal. Z energetického hľadiska je teda táto reakcia možná. (Zodpovedá 40% účinnosti.) (1).

Pri štúdiu priebehov a mechanizmov reakcií fosforylovania v dýchacom reťazci sú dôležité špecifické inhibítory. Rozličné chemické štruktúry týchto agensov pomáhajú určiť chemickú štruktúru medziproduktov fosforylácie a aktívne centrá vo fosforylujúcim reťazci. Tieto inhibítory sú podľa mechanizmu účinku rozdelené do troch skupín.

Do prvej skupiny patria inhibítory prenosu elektrónov, t. j. prevažne látky, ktoré účinkujú prostredníctvom spojenia s jedným alebo niekoľkými prenášačmi elektrónov a nie s fermentami spriahnutia. Patrí k nim kyanid, amital, antimycin A, 2-heptyl-4-oxichinolín N-oxid a rotenón.

Druhá skupina sú skutočné rozpojovače, ktoré potláčajú fosforyláciu ADP, ale nevplývajú na rýchlosť prenosu elektrónov. Veľký význam rozpojovačov spočíva v tom, že stimulujú obvyčajne aktivitu latentnej ATP-ázy intaktných mitochondrií a potláčajú iné parciálne reakcie oxidačnej fosforylácie. Klasickým príkladom rozpojovačov je 2,4-dinitrofenol (DNP). K rozpojovacím agensom patrí tiež mnoho iných nitrofenolov a haloidofenolov, odporec vitamínu K dikumarol, antibiotiká polypeptidovej štruktúry gramicidín D, tyrocidín, niektoré zložité nitrity, mastné kyseliny s dlhým refazcom a arzenit.

K tretej skupine patria inhibítory oxidačnej fosforylácie. Charakteristickým predstaviteľom tejto skupiny je antibiotikum oligomycín; brzdí u intaktných mitochondrií (pevne spriahnuté) dýchanie a fosforyláciu. V rozpojenom stave nie je dýchanie ovplyvnené. Iné inhibítory, ktoré patria do tejto skupiny, sú antibiotiká: aurovertín, valinomycín, gaunidín (a niektoré jeho odvodneniny), kovoorganické zlúčeniny, trietylolovo a azid sodný. Hoci účinok týchto látok nie je úplne identický, všetky účinkujú prostredníctvom stechiometrického spojenia s niektorými medziproduktami v priebehu reakcie spriahnutia, blokujú cyklický priebeh oxidačnej fosforylácie a plne využívajú reakcie prenosu elektrónov a fosfátových skupín.

Týmto sa odlišujú od rozpojovacích agensov, ktoré rozbíjajú makroergické medziprodukty s regeneráciou komponentov, ktoré sú všeestranne plne aktívne. (3).

Treba povedať, že ATP-ázna reakcia je podmienená obratom reakcie tvorby ATP, ktorá je spojená s hydrolytickým rozpadom niektorých makroergických medziproduktov spriahnutého fosforylovania. Táto podrobnejšie preštudovaná reakcia je charakteristickým spôsobom stimulovaná DNP a inými rozpojovacími agensami, a to v inaktných mitochondriách i vo fosforylujúcich sub-mitochondriálnych fragmentoch. Inhibítory oxidačnej fosforylácie, napr. oligomycín a atraktílát potláčajú aktivitu ATP-ázy, stimulovanú DNP. Aktivitu ATP-ázy celkom potláčajú aj kyanidy. V súčasnosti je stále viac údajov o tom, že v závislosti od stimulujúceho agensu (DNP, arzenit) môže ATP-áza mitochondrií vyvolávať rozpad nie jedného, ale niekoľkých medziproduktov v refazci spriahnutých reakcií.

Boli získané výsledky o tom, že v mitochondriách existujú 2 alebo 3 ATP-ázy rozlišujúce sa charakterom závislosti od pH.

Experimentálna časť

Materiál

Pri sledovaných pokusoch sme používali hovädziu a bravčovú pečeň, ktorú sme odobérali z Bratislavského mäsového priemyslu — závod bitúnok asi 30—45 minút po zabítí zvieraťa. Približne 10—20 g vzorky sme vložili do ladiom chladeného izolačného média a čo najrýchlejšie sme ju prenesli do nášho laboratória a podrobili analýze.

Mitochondrie sme izolovali postupom podľa Johnsona a Lardyho (4). Pečeň sme za chladu (+3 °C — 0 °C) rozstříhali v médiu (250 mM sacharóza, 25 mM tris-HCl, 1 mM EDTA, 0,2% hovädzí sérumalbumín, konečné pH 7,4) a homogenizovali v Potter-Elvehjenovom homogenizátore za stáleho chladenia. Z homogenátu sme izolovali mitochondrie diferenciálou centrifugáciou. Vyizolované mitochondrie sme suspendovali do 1 ml média a uchovali až do použitia v lade.

V izolovaných mitochondriách sme stanovili koncentráciu bielkovín a sledovali sme vplyv teploty a času na aktivitu mitochondriálnej ATP-ázy (bez prídavku stimulátora a s prídavkom) i na respiračnú aktivitu.

Analytické metódy

Koncentráciu bielkovín sme stanovili reakciou Biureta, založenou na princípe kolorimetrického merania modrofialového zafarbenia (5).

Aktivitu mitochondriálnej ATP-ázy sme stanovili kolorimetrickým meraním uvoľneného anorganického fosfátu (6).

Respiračnú aktivitu — spotrebu kyslíka izolovaných mitochondrií sme stanovili polarograficky vibračnou zlatou elektródou (7).

Výsledky a diskusia

Výsledky meraní vplyvu teploty a času na aktivitu mitochondriálnej ATP-ázy bravčovej a hovädzej pečene sú uvedené v tabuľkách 1 a 2.

V čerstvej bravčovej pečeni DNP (2,4-dinitrofenol) stimuloval aktivitu ATP-ázy mitochondrií o 23%, MgCl₂ takmer dvojnásobne — o 183% a kombináciou DNP + MgCl₂ sa dosiahlo približne 2,5 násobné zvýšenie aktivity ATP-ázy (240%).

Po 4 dňoch skladovania pri teplote +10 °C zvýšila sa aktivita ATP-ázy oproti aktivite vzorky bez stimulátora prídavkom 0,02 ml DNP o 60%, 0,02 ml MgCl₂ o 321% a prídavkom 0,02 ml DNP + MgCl₂ o 335%. Po 12 dňoch bolo zvýšenie pridaním DNP 22%, MgCl₂ 77% a DNP + MgCl₂ 167%.

Pri teplote +1 °C bolo zvýšenie po 4 dňoch nasledovné: DNP 20%, MgCl₂ 181%, DNP + MgCl₂ 221%. Po 12 dňoch DNP 6,0%, MgCl₂ 77,5% a DNP + — MgCl₂ 142%.

Tab. 1. Vplyv teploty a času na aktivitu ATP-ázy mitochondrií bravčovej pečene

Reakčná zmes v objeme 1 ml obsahovala:

0,075 M sacharóza; 60 mM tris — HCl; 1 mM EDTA, 6 mM ATP; 2 mM 2,4-dinitrifenol alebo 2 mM MgCl₂ a mitochondrie (1 — 1,5 mg bielkovín); konečné pH 7,4. Po 10 min. inkubácie pri 37 °C uvoľnený anorganický fosfát sa stanovil v extrakte kyseliny trichlórooctovej.

Teplota skladov.	Čerstvá pečen	+10 °C		+1 °C		—5 °C	
		0	4	12	4	12	4
(μ mól P _i /mg bielkovín/10 min)							
Bez stimulátora	0,650	0,140	0,031	0,317	0,062	0,321	0,079
DNP	0,800	0,224	0,038	0,382	0,066	0,431	0,101
MgCl ₂	1,840	0,590	0,055	0,891	0,110	0,922	0,115
DNP + MgCl ₂	2,210	0,610	0,083	1,02	0,150	1,203	0,135

Tab. 1a

Teplota skladov.	Čerstvá pečen	+1 °C		+10 °C		—5 °C	
		0	4	12	4	12	4
Účinok stimulátora na aktivitu mit. ATP-ázy (%)							
Bez stimulátora	100	100	100	100	100	100	100
DNP	123,0	160,0	122,0	120,0	106,0	134,0	127,8
MgCl ₂	283,0	421,0	177,0	281,0	177,5	287,0	145,5
DNP + MgCl ₂	340,0	435,0	267,0	321,0	242,0	374,0	170,3

Pri teplote —5 °C bolo zvýšenie aktivity po 4 dňoch: DNP 34%, MgCl₂ 187%, DNP + MgCl₂ 274%. Po 12 dňoch: DNP 27,8%, MgCl₂ 45,5% a DNP + MgCl₂ 70,3%.

Z výsledkov vyplýva, že pri všetkých sledovaných teplotách zostáva zachované poradie účinnosti pridaných stimulátorov takto: DNP, MgCl₂, DNP + MgCl₂.

Tab. 2. Vplyv teploty a času na aktivitu ATP-ázy mitochondrií hovädzej pečene

Reakčná zmes a podmienky ako v tab. 1.

Teplota skladov.	Čerstvá pečen	+10 °C		+1 °C		—5 °C	
Dni skladov.	0	4	12	4	12	4	12
(μ mól Pi/mg bielkovín/10 min)							
Bez stimulátora	0,480	0,118	0,013	0,210	0,041	0,232	0,042
DNP	0,942	0,234	0,026	0,435	0,082	0,453	0,084
MgCl ₂	1,413	0,351	0,039	0,667	0,123	0,699	0,127
DNP + MgCl ₂	2,010	0,498	0,056	0,953	0,178	0,988	0,183

Tab. 2a

Teplota skladov.	Čerstvá pečen	+10 °C		+1 °C		—5 °C	
Dni skladov.	0	4	12	4	12	4	12
Účinok stimulátora na aktivitu mitochondriálnej ATP-ázy (%)							
Bez stimulátora	100	100	100	100	100	100	100
DNP	196,0	198,0	200,0	199,0	200,0	197,0	200,0
MgCl ₂	294,7	297,0	300,0	304,0	300,0	301,0	302,0
DNP + MgCl ₂	419,0	422,0	430,0	430,5	434,0	429,0	435,0

Ak hodnotíme účinok aktivátorov v porovnaní so vzorkami bez prídavku aktivátora pri sledovaných teplotách, vidíme, že aktivita sa najviac zvýšila po 4-dňovom skladovaní pri +10 °C (335%).

Z výsledkov môžeme tiež vidieť, že po 12 dňoch skladovania majú pridávané aktivátory klesajúci účinok. Kým sa u čerstvých mitochondrií prejavil napr. účinok DNP + MgCl₂ 2,5-násobným zvýšením aktivity oproti pôvodnej hodnote, po 12 dňoch už len približne 1,5 násobným zvýšením (167; 142%) pri teplotách +10 °C a + 1 °C, alebo ani jednonásobným zvýšením pri teplotách —5 °C.

Po 4 dňovom skladovaní pri teplotách +10 °C ani jeden z pridaných aktivá-

torov nezvýšil už aktivitu ATP-ázy na hodnotu ATP-áznej aktivity mitochondrií ničím neovplyvnenej čerstvej pečene.

Pri $+1^{\circ}\text{C}$ a -5°C po 4 dňoch skladovania mali MgCl_2 a DNP + MgCl_2 ešte taký stimulačný účinok, že zvýšili aktivitu ATP-ázy oproti jej pôvodnej hodnote (čerstvá pečeň bez stimulátora) o 37 a 42% (MgCl_2), resp. 56 a 85% (DNP + MgCl_2). DNP už nevykazoval takýto stimulačný účinok.

Po 12 dňoch skladovania v žiadnom sledovanom pokuse nedosiahla už aktivita ATP-ázy počiatočnú hodnotu (0,65). Pri $+10^{\circ}\text{C}$ sa znížila aktivita vzorky bez stimulátora na 4,8% počiatočnej hodnoty kým pripoužitím DNP + MgCl_2 činila 12,8% pôvodnej hodnoty; pri $+1^{\circ}\text{C}$ bez stimulátora 9,5%, pri DNP + MgCl_2 23%, pri -5°C bola aktivita ATP-ázy bez stimulátora 12,1%; prídavkom DNP + MgCl_2 20,7%.

Ak hodnotíme aktivitu ATP-ázy z hľadiska teploty a času, vidíme, že vo všetkých prípadoch je zníženie aktivity ATP-ázy mitochondrií s časom i teplotou. Najnižšia je aktivita ATP-ázy po 12 dňoch pri $+10^{\circ}\text{C}$ (bez stimulátorov i po ich pridaní), vyššia pri $+1^{\circ}\text{C}$ a najvyššia pri -5°C .

V mitochondriách izolovaných z hovädzej pečene (tab. 2) stimuloval DNP aktivitu ATP-ázy o 96%, MgCl_2 o 195% a DNP + MgCl_2 o 319%; znamená to teda, že opäť bol DNP + MgCl_2 účinnejší viac ako trojnásobne a MgCl_2 dvojnásobne v porovnaní s DNP.

Pri $+10^{\circ}\text{C}$ po 4 dňoch zostáva účinok stimulátorov v porovnaní s čerstvou pečeňou v percentuálnom vyjadrení prakticky nezmenený. Po 12 dňoch skladovania činil prírastok aktivity DNP 100%, MgCl_2 200% a DNP + MgCl_2 330 % oproti vzorke bez stimulátora, meranej v tom istom čase. Treba však poznamenať, že aj v tomto pokuse pri $+10^{\circ}\text{C}$ iba DNP + MgCl_2 po 4 dňoch stimuloval ešte aktivitu enzýmu na jej pôvodnú hodnotu (0,480). Ani DNP, ani samotný MgCl_2 takýto účinok nedosiahli. Po 12 dňoch činila aktivita ATP-ázy bez prídavku stimulátora už len, 2,0% pôvodnej hodnoty, s DNP 5,5%, s MgCl_2 8,5% a s DNP + MgCl_2 11,0%. Ak aktivity vzoriek na začiatku pokusu (bez i so stimulátormi) — boli 100, aktivita po 12 dňoch bola neselé 3,0%.

Pri $+1^{\circ}\text{C}$ za 4 dni vzrástla aktivita pridaním DNP do reakčnej zmesi o 100%, MgCl_2 o 200% a DNP + MgCl_2 o 334% v porovnaní so vzorkou bez stimulátora. Zistili sme, že prírastok aktivity, vyjadrený v percentách zostáva takmer nezmenený v porovnaní s čerstvou alebo 4 dni skladovanou pečeňou pri $+10^{\circ}\text{C}$. Obdobný je i prírastok aktivity po 12 dňoch. Po 4 dňoch zvýšil MgCl_2 aktivitu o 38,0%, DNP + MgCl_2 o 98,0% v porovnaní s pôvodnou čerstvou pečeňou. DNP už neaktivoval ATP-ázu na jej pôvodnú hodnotu.

Pri -5°C bol účinok stimulátorov obdobný ako pri $+1^{\circ}\text{C}$. Namerané hodnoty aktivity boli o niečo vyššie.

Z uvedených výsledkov možno konštatovať, že i výsledky pokusov s hovädzou pečeňou potvrdili poradie účinnosti stimulátorov, získané pri pokusoch s bravčovou pečeňou. Obdobné boli i výsledky týkajúce sa vplyvu teploty a času na aktivitu mitochondriálnej ATP-ázy.

Rýchlosť dýchania izolovaných mitochondrií z bravčovej a hovädzej pečene, ktorú sme sledovali na substrátoch: jantaran, malát + pyruvát, malát + citrát, malát + glutamát, malát + α -ketoglutarát sú uvedené v tabuľkách 3 a 4.

Výsledky uvedené v tab. 3 nám ukazujú, že najlepšie prebiehalo dýchanie, ak bol ako substrát použitý jantaran sodný. Rýchlosť spotreby kyslíka je 5—7-

Tab. 3. Respiračná aktívita mitochondrií bravčovej pečene

Reakčná zmes obsahovala v 2 ml: 0,25 M manitol, 10 mM KH_2PO_4 , 10 mM tris-HCl, 10 mM KCl, 10 mM jantaran (alebo iné substráty), mitochondrie (2—4 mg bielkovín), konečne pH 7,4. Teplota 30 °C; hodnoty sú priemerom viacerých experimentov.

Substrát	Spotreba O_2 (μ atóm 0) min/mg bielkovín
jantaran	21,9
malát + pyruvát	5,7
malát + citrát	4,8
malát + glutamát	5,2
malát + α -ketoglutarát	3,5

Tab. 4. Respiračná aktívita mitochondrií hovädzej pečene. Reakčná zmes a pracovné podmienky ako v tab. 3.

Substrát	Spotreba O_2 (μ atóm 0) min/mg bielkovín
jantaran	18,2
malát + pyruvát	3,6
malát + citrát	3,5
malát + glutamát	3,0
malát + α -ketoglutarát	3,1

-krát väčšia ako u ostatných použitých substrátov, medzi ktorými bol len veľmi malý rozdiel v spotrebe kyslíka. Podľa výsledkov teda možno konštatovať, že najvhodnejším substrátom pre sledovanie dýchania mitochondrií izolovaných z bravčovej pečene bol v podmienkach našich pokusov jantaran sodný.

Rýchlosť dýchania mitochondrií pečene skladovanej pri teplotách +10 °C, +1 °C a —5 °C počas 12 dní bola veľmi nízka, v niektorých prípadoch i nulová, ak boli použité substráty: malát + pyruvát, malát + citrát, malát + glutamát, malát + α -ketoglutarát. Spotreby kyslíka boli také nízke, že sme nemohli pokusy dostatočne vyhodnotiť.

Dýchanie so substrátom jantaranom sodným prebiehalo takto: pri +10 °C po 4 dňoch bolo veľmi nízke, takmer nulové; po 12 dňoch taktiež nulové.

Pri —5 °C a +1 °C po 4 dňoch rýchlosť spotreby kyslíka sa pohybovala od 7,5—8,0 μ atómov 0/min/mg bielkovín, čo je asi 25% rýchlosťi spotreby kyslíka mitochondriami vyizolovanými z čerstvej pečene. Po 12 dňoch skladovania pri tých istých teplotách rýchlosťi spotreby kyslíka mali hodnoty 2,25—2,50 μ atómov 0/min/mg bielkovín (asi 10%).

Ako vidieť z hodnôt v tab. 4 i, u mitochondrií hovädzej pečene prebiehalo dýchanie najintenzívnejšie v prostredí jantaranu sodného.

Vplyv sledovaných teplôt na rýchlosť dýchania izolovaných mitochondrií z hovädzej pečene za použitia vyššie uvedených substrátov je obdobný ako u bravčovej pečene. Pri jantarane bola spotreba kyslíka mitochondrií pri -5°C , $+1^{\circ}\text{C}$ po 4 dňoch skladovania $3,8$ — $4,1 \mu\text{atómov}/0/\text{min}/\text{mg bielkovín}$, čo je 20 — 22% hodnoty u čerstvej pečene. U bravčovej pečene bola spotreba kyslíka za to isté obdobie a pri tých istých teplotách asi 25% , čiže prakticky rovnaká.

Súhrn

Pri sledovaní priebehu zmien aktivity mitochondriálnej ATP-ázy bravčovej a hovädzej pečene pri teplotách $+10^{\circ}\text{C}$, $+1^{\circ}\text{C}$, -5°C , v časových intervaloch 0, 4, 12 dní sme zistili úmernosť medzi aktivitou enzýmu, časom a teplotou.

Úmerne s predĺžovaním času a vzrastom teploty klesala tiež účinnosť aktivátorov. Podľa účinnosti môžeme použité stimulátory zoradiť do nasledovného vzostupného radu: DNP, MgCl_2 , DNP + MgCl_2 .

Za uvedených podmienok uchovateľnosti klesala respiračná aktivita mitochondrií s predĺžovaním času a vzrastom teploty. V maximálnej dobe sledovania — 12 dní, boli namerané pri $+10^{\circ}\text{C}$ nulové hodnoty. Pri $+1^{\circ}\text{C}$ a -5°C namerané hodnoty boli približne 5 — 10% hodnôt čerstvej pečene.

Literatúra

1. Karlson, P.: Základy biochémie, Academia, Praha, 1971
2. Behúň, M. a kol.: Výskum inhibície rastu plesni na potravinárskych surovinách rastlinného pôvodu zo stažených klimatických podmienok, ZS, Bratislava, 1973, VÚP
3. Racker, E.: A mitochondrial factor conferring oligomycin sensitivity on soluble mitochondrial ATP-ase, Biochem. Biophys. Res. Commun., 10, 1963, s. 435
4. Johnson, D.: — Lardy, H. A.: Methods in Enzymology, 10, 1967, s. 94
5. Jacobs, E. E., Jakob, N., Sanadi, D. R., Bradley, L. R.: J. Biol. Chem. 223, 147 (1956)
6. Summer, J. B., Science, 100 413 (1944)
7. Kollár, K.: Acta Facult. Rev. Nat. Univ. Commeniane, 12, 371 (1968)

Влияние температуры и времени на активность АТП-азы митохондрий и на дыхательную активность митохондрий печени

Вы воды

При наблюдении за протеканием изменений активности АТП-азы митохондрий свиной и говяжьей печени при температурах $+10^{\circ}\text{C}$, $+1^{\circ}\text{C}$, -5°C , в промежутках времени 0,4, 12 суток мы установили пропорциональность между активностью энзима, временем и температурой.

Соразмерно с продлением времени и повышением температуры снижалось также действие активаторов. По действию мы можем выстроить применяемые стимуляторы в следующую восходящую прогрессию: DNP, MgCl_2 , DNP + MgCl_2 .

При упомянутых условиях сохранности снижалась дыхательная активность митохондрий с продлением времени и повышением температуры. В течение максимального времени наблюдения — 12 суток, были отмечены при $+10^{\circ}\text{C}$ нулевые значения. При $+1^{\circ}\text{C}$ и -5°C отмеченные значения составляли приблизительно 5 — 10% ценностей свежей печени.

Temperature and time effect on the mitochondrial ATP-ase and on the respiration activity of the liver mitochondria

Summary

The proportionality between the enzyme activity, time and temperature had been determined following the course of changes of the activity in mitochondrial ATP-ase of the porc and beef liver at temperatures +10 °C, +1 °C, -5 °C, in 0, 4, 12 days time intervals. The effectiveness of the activator was proportional with time prolonging and temperature increasing, reduced. According to the effect the used stimulators had been arranged in following ascent range: DNP, MgCl₂, DNP + MgCl₂. Under the shown preservation conditions the respiration activity was reduced with time prolonging and temperature increasing. In maximum followed time — 12 days, were at 10 °C — 0 values measured. Values measured at +1 °C and -5 °C, had approximatively reached the 5—10 % values of the fresh liver.