

# Glykolytická sústava enzýmov niektorých lyofilizovaných potravín

FR. KLEMPOVÁ, I. STEIN

Pri anaerobnom procese získavania bunečnej energie rozkladá sa 12 H- a 6 C-atómov obsahujúca hexóza na dve 3 C-atómové triózy, ktoré sa ďalšími reakciami menia na kyselinu pyrohroznovú.

Kyselina pyrohroznová je spojovacím článkom medzi anaerobným dýchaním (glykolýzou) a medzi aerobným dýchaním (biologickou oxidáciou), pri ktorom sa v cykle trikarbónových kyselín, za účasti vzdušného kyslíka oxiduje na  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ .

Dekompozícia hexózy na kyselinu pyrohroznovú je proces katalyzovaný skupinou enzýmov a koenzýmov, ktorých harmonická kooperácia pri degradácii a pravdepodobne i pri syntéze sacharózy (1) dáva podklad pre domnienku, že ich možno považovať za stabilnú sústavu, ktorá sa za určitých podmienok funkčne prejavuje ako stabilný celok dnes už známych enzýmov a koenzýmov.

Stabilita závisí od pôsobenia jednotlivých komponentov sústavy. Inhibíciou blokujúcou pôsobenie jedného komponenta poruší sa stabilita a komplex enzýmov sa inaktivuje. Možno predpokladať, že sa aktivita inhibíciou rovnomerne blokujúcou pôsobenie jednotlivých komponentov reverzibilne inhibuje a že odstránením inhibítorov opäť nadobudne pôvodnú katalytickú schopnosť.

Sublimačné sušenie je jeden z technologických spôsobov inhibície aktivity natívnych enzýmov a teda aj enzýmov glykolytickej sústavy. Predpokladali sme, že dehydratáciou bunečného obsahu sa aktivita enzýmov glykolytickej sústavy rovnomerne inhibuje, zloženie komplexu enzýmov sa neporuší a rehydratáciou reakčného prostredia sa reaktivuje.

V nasledovnom predkladáme výsledky štúdia aktivity enzýmov glykolytickej sústavy po rehydratácii rôznych druhov lyofilizovaného hrášku, petržlenu, karfiolu, rajčín, kalerábu, zeleru, kukurice, špenátu, fazuľky, tekvice, mrkvy, malín, brusníc, čučoriedok, sliviek a jablk.

## Metodika a výsledky

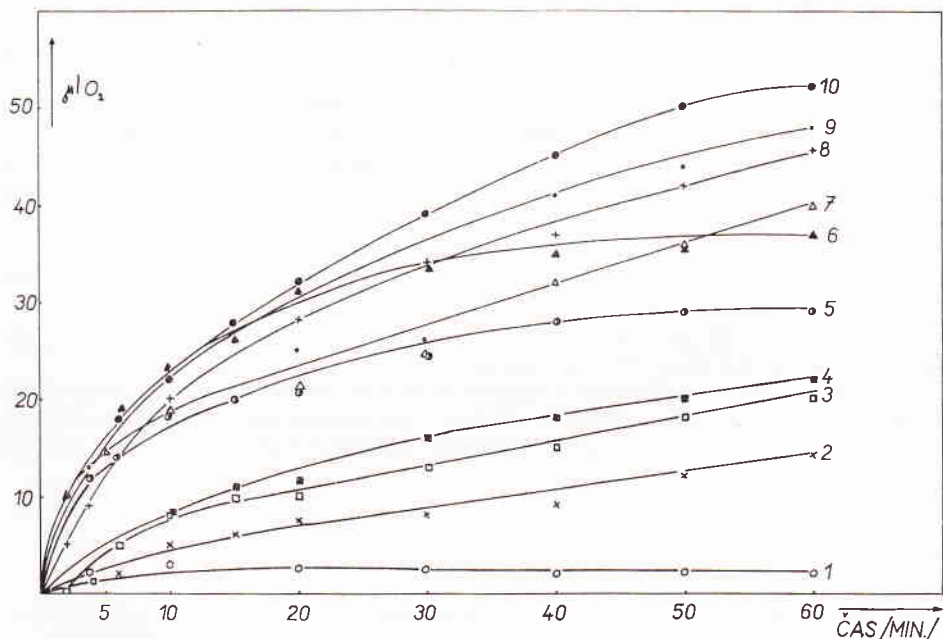
Vzorky na lyofilizáciu sme odoberali z výrobnéj linky závodu z práčky, poť. po blanširovaní (pri 93—95 °C, 3—5 min. a schladení). Vzorky malín, brusníc, čučoriedok, sliviek a jablk boli zo závodov spracujúcich lesné a iné ovocie. Po umytí a vysušení medzi filtračnými papiermi sme vzorky zmrazili na -30 °C,

lyofilizovali na laboratórnom prístroji (pracovný tlak 0,05—0,01 mm Hg, max. ohrev 30 °C, doba lyofilizácie 6—8 hodín, bez ohrevu 15 °C, doba lyofilizácie 16—18 hodín. Vlhkosť je uvedená v tab.

Extraktly sme pripravili vyluhovaním pri 20 °C po dobu 60 min. za občasného premiešania zmesi 1 g lyofilizovaného preparátu a 25 ml vody. Po odcentrifugovaní (10 000 ot/min.) nerozpustného podielu na stanovenie aktivity glykolytického komplexu enzýmov sme použili číry supernatant.

Aktivitu glykolytického komplexu extraktov sme stanovili manometrickou metódou (2). Mierou aktivity bolo množstvo CO<sub>2</sub> (1) enzymaticky uvoľneného dekarboxyláciou kyseliny pyrohroznovej a redukciou acetaldehydu pôsobením rastlinnej sústavy enzýmov. Hlavný priestor Warburgovej nádoby obsahoval 0,2 ml 0,22 · 10<sup>-3</sup> M roztoku difosfopyridínukleoidu 0,2 ml 0,22 · 10<sup>-3</sup> M roztoku kyseliny adenosíntrifosforečnej 0,2 ml 0,18 M roztoku MgCl<sub>2</sub>, 1,0 ml 0,25 M zmesi regulátorov Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> a KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> o pH 6,5, 0,2 ml redistilovanej vody 0,05 ml toluénu a 1,0 ml extraktu. Bočné ramienko obsahovalo 0,2 ml 0,22 M roztoku glukózo-1-fosfátu a 0,2 ml 0,44 M roztoku fruktózy. Po odstránení vzduchu plynným N<sub>2</sub> (zbaveným O<sub>2</sub>) a vytemperovaní na 30° sledovali sme vývoj CO<sub>2</sub> v tab. uvedených časových intervaloch.

Glykolytickú aktivitu vyjadrujeme produkciou 10 μl CO<sub>2</sub> za 60 min. (2) resp. μl CO<sub>2</sub> vytvorených katalytickou účinnosťou 1 mg enzymatickej sušiny za 60 min.



Graf 1. Aktivita sústavy glykolytických enzýmov lyofilizovaného 1. blanšírovaného hrášku Edelperle, 2. petržlenu, 3. rajčín, 4. jablka, 5. zeleru, 6. brusnic, 7. hrášku Kelvedon, 8. karfiolu, 9. hrášku Edelperle, 10. sliviek.

Extrakt y z lyofilizovanej kukurice (jedlej), mrkvy, tekvice, fazuľky, špenátu, kalerábu, malín a čučoriedok nevykazovali glykolytickú aktivitu. Nazdávame sa, že priebehom lyofilizácie komplex enzým ov sa rozložil a preto sa rehydratáciou neaktivoval.

Tabuľka 1  
Glykolytická aktivita

Druh	Vlh- kosť %	Extrakt		Minúty												Ga	CO <sub>2</sub>
		suš. %	pH	2	4	6	10	15 μl	20 CO <sub>2</sub>	30	40	50	60	mg suš.			
Hrach Edel- perle čerst.	2,5	4,16	6,1	10	13	—	18	—	25	26	41	44	48	4,8	1,15		
Hrach Edel- perle blanš.	1,80	2,39	5,8	5	2	—	3	—	2	2	2	2	2	0,2	0,08		
Hrach Kelvedon	3,0	2,84	6,0	14	14	—	19	—	21	24	32	36	40	4,0	1,40		
Petržlen	6,5	1,93	5,2	0	0	2	5	6	7	8	9	12	14	1,4	0,72		
Karfiol	4,0	1,66	5,2	5	9	15	20	27	28	34	37	42	46	4,6	2,76		
Rajčiny	3,3	2,71	3,9	0	1	5	8	10	10	13	15	18	20	2,0	0,74		
Zeler	6,2	1,57	5,8	10	12	14	17	20	21	24	28	29	29	2,9	1,84		
Brusnice	2,2	1,99	3,2	10	13	19	23	26	31	34	35	12	37	3,7	1,86		
Slivky	3,9	2,21	3,9	9	12	18	22	27	31	39	45	50	52	5,2	1,62		
Jablká	6,8	2,11	3,7	4	5	5	8	11	11	16	18	20	22	2,2	1,04		

## Diskusia

Niektoré extrakt y pripravené z lyofilizovaných produktov vykazujú pozoruhodnú glykolytickú aktivitu. Extrakt y z iných preparát ov takúto schopnosť nemajú. Komplex glykolytických enzým ov rôznych materiálov nezdá sa byť rovnako odolný proti vplyvom, ktorým je vystavený obsah bunky pri sublimáčnom sušení. Väčšia stabilita glykolytického komplexu sa prejavuje v tom, že inhibícia je reverzibilná a rehydratáciou reakčného prostredia sa aktivita vracia. Irreverzibilná inhibícia (inaktivácia) extrakt ov mohla nastať rozložením komplexu enzým ov alebo inaktiváciou jedného alebo viacerých komponentov sústavy.

Blanširovaním sa aktívna sústava glykolytických enzým ov zeleného hrášku irreverzibilne inhibovala.

Stabilita komplexu glykolytických enzým ov reverzibilne inhibovaných lyofilizáciou má význam pri skladovaní lyofilizovaných výrobkov, ktorých natívne

enzýmy neboli inhibované predchádzajúcimi operáciami, napr. blanširovaním. Zmenou vlhkosti výrobku počas skladovania môže nastať aj reaktivácia glykolytických enzýmov a nimi katalyzovaný vznik reaktívnej kyseliny pyrohroznovej môže vytvoriť podklad pre ďalšie chemické zmeny (vznik kyseliny mliečnej, etanolu a i.), v ktorých reakčné produkty môžu ovplyvniť kvalitu výrobku.

### S ú h r n

Enzýmy glykolýzy tvoria komplex, ktorý sa u niektorých látok lyofilizáciou inhibuje, u iných irreverzibilne inaktivuje. Inhibícia je reverzibilná, rehydratáciou reakčného prostredia sa celý komplex enzýmov reaktivuje.

### L i t e r a t ú r a

1. Turner, J. F., Biosynthesis of Sucrose, *Biochem. J.* **67**, 450 (1957)
2. Gibbs, M., Turner, J. F., *Enzymes of Glycolysis* v Linskens, H. F., Sandal, B. D., Tracey, M. V., *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, **7**, 520 (1964).

## Гликолитическая система ферментов некоторых сублимационно сушеных пищевых продуктов

### Выводы

Гликолитические ферменты представляют комплекс, который сублимационной сушкой у некоторых продуктов ингибируется, у некоторых irreverzibilно инактивируется. Ингибирование является reversible; регидратацией реакционной среды весь комплекс ферментов реактивируется.

## Glycolytic Enzymes in Some Freeze-dried Foods

### Summary

Glycolytic enzymes create the complex inhibited in some substances by the freeze-drying and irreversibly inactivated in others. The inhibition is reversible, by the rehydration of the reaction environment the whole complex of the enzymes is reactivated.