

Vplyv stupňa zrelosti na enzymatickú aktivitu peroxidáz

Š. ŠULC, E. JAKŠOVÁ

Počas dňa, pri sledovaní teploty a času na aktivitu peroxidáz sa ukázalo, že tato závisí od uvedených faktorov, čo je v priamej súvislosti s intenzitou asimilácie (1). Ďalej sme zistili, že aktivita peroxidáz nezávisí od ranosti sort, ale od druhu drobného ovocia. Aktivita peroxidáz sa mení počas niekoľkoročného obdobia, a sú určité roky, kedy výrazne stúpne (2).

Je známe, že počet enzymov závisí od vývojového stupňa príslušného živého objektu. S postupným vývojom filogenetickej rady a s rastúcou diferenciáciou buniek stúpa i počet enzymov. Z tohto dôvodu ani pri jednom druhu organizmu nie je konštantný počet enzymov. Každý druh rastlín, živočíchov alebo mikroorganizmov má svoje vlastné enzymy, ktoré sú väčšinou druhotne špecifické, t. j. svojou typickou bielkovinovou štruktúrou sú charakteristické pre určitý druh (3, 4, 5, 6).

Ako sa mení počet enzymov od vývojového stupňa, tak častokrát závisí enzymatická aktivita od stupňa vývoja rastlín, živočíchov alebo mikroorganizmov. Tak sa napr. zistilo, že pri starnutí jabloňového listu dochádza skoro k úplnej inaktivácii peroxidáz, pričom súčasne prudko vzrástá enzymatická aktivita polyfenoloxidáz (7, 8, 9).

Na zistenie závislosti enzymatickej aktivity peroxidáz od stupňa zrelosti urobili sme nasledovné pokusy:

Usporiadanie pokusov:

Pre pokusy sme vybrali bobuľovité ovocie, a to: jahody, maliny, čierne ríbele a egreš, kde sme sledovali aktivitu peroxidáz v troch stupňoch zrelosti.

Prvý stupeň zrelosti (plody zelené). V tomto stupni zrelosti boli plody dokonale vyvinuté, avšak zelenej farby, tvrdej konzistencie, chuti výrazne kyslej a bez vône.

Druhý stupeň zrelosti. Pri tomto stupni zrelosti sa plody začali vyfarbovať, boli polotvrdej konzistencie, chuti málo výraznej — kyslej a slabovo intenzívnej vône.

Tretí stupeň zrelosti. Plody boli správne vyfarbené, typickej farby pre určitý druh bobuľovitého ovocia, charakteristickej chuti, intenzívnej — typickej

vône. Pokusné ovocie v tomto stupni zrelosti zodpovedalo podmienkam pre konzervovanie.

Pokusné sorty:

jahody:	Senga Sengana
maliny	Pruská
čierne ríbezle	Hviezda Chicaga
egres	Hansa

Použité sorty bobuľovitého ovocia vypestovali pracovníci Šlachtiteľského a semenárskeho podniku – Šlachtiteľská stanica Bojnice, podľa poľnohospodárskej metodiky.

Aktivitu peroxidáz sme stanovili hneď po odtrhnutí plodu podľa Morrisona (10). Teplota sa merala pod listami drobného ovocia.

Výsledky pokusov

V tabuľke 1–4 je uvedený vplyv stupňa zrelosti na aktivitu peroVidáz pri jahodách Senga Sengana, Pruská, Hviezda Chicaga a Hansa.

V grafe 1 a 2 je znázornený vplyv stupňa zrelosti na aktivitu peroxidáz pri jahodách – Senga Sengana a Hviezda Chicaga, rok 1967.

Diskusia

Z urobených pokusov sme získali tri základné poznatky o aktivite peroxidáz.

a) Prvá časť pokusov nám ukázala, že plody v prvom stupni zrelosti majú najvyššiu aktivitu peroxidáz, ktorá klesá v ďalších stupňoch zrelosti.

Zistenú skutočnosť si vysvetľujeme tak, že v uvedenom stupni zrelosti v dôsledku vysokej intenzity fotosyntézy odchádza do plodov najviac asimilátov, napr. monosacharidov, disacharidov atď. a tiež rôznych metabolítov, ako sú napr. peroxidické zlúčeniny. Zvýšená koncentrácia peroxidických zlúčenín potom priamo ovplyvňuje aktivitu peroxidáz v skúmanom ovoci.

Tabuľka 1. Vplyv stupňa zrelosti na aktivitu peroxidáz pri jahodách – Senga Sengana

Čas v hod.	Zelený vyvinutý plod			Mierne červený zapálený			Botanickej zrelosti			Priemer teplôt °C		
	1965	1966	1967	1965	1966	1967	1965	1966	1967	1965	1966	1967
2			88,0			238,2			55,6			5,8
4	56,7			114,3			473,3			12,1		
6	122,5	21,7	48,3	152,5	51,0	123,3	372,5	226,7	231,7	15,0	16,3	9,2
8	15,0		31,7		40,0	101,3			145,0	165,0		20,5
10	75,0	11,7	24,0	95,0	27,7	91,7	135,0	119,0	153,3	21,5	24,0	14,7
12		10,0	30,0		25,0	53,3			95,0	132,3		26,7
14	57,5	17,7	37,3	80,0	30,0	80,0	112,5	105,0	118,3	22,0	23,5	16,7
16		26,7	44,3		43,0	116,7			135,0	206,7		22,0
18	107,5	38,7	50,0	135,0	56,7	146,7	230,0	142,7	246,7	18,0	21,0	16,3
20		46,7	67,3		60,0	190,0			183,3	373,3		18,3
22			73,7			200,0				466,6		
24			87,0			236,7			533,3			7,8

Tabuľka 2. Vplyv stupňa zrelosti na aktivitu peroxidáz pri malinách – Pruská

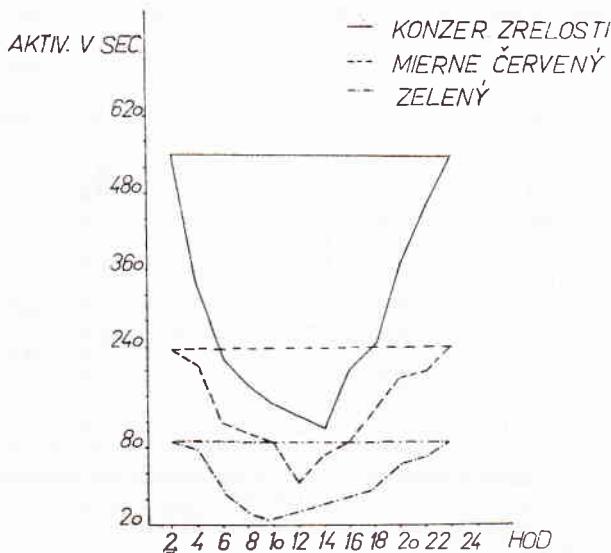
Čas v hod.	Zelený vyvinutý plod			Mierne červený zapálený			Botanickej zrelosti			Priemer teplôt °C		
	1965	1966	1967	1965	1966	1967	1965	1966	1967	1965	1966	1967
2			26,0			27,3			28,7			12,2
4		32,7	10,0		24,0	14,3		20,5	20,0		11,2	12,5
6	8,5	32,5	11,0	11,0	21,5	12,7	16,6	15,5	15,3	17,0	12,2	14,6
8		31,5	7,0		29,5	8,7		13,0	12,3		12,7	18,0
10	5,0	31,5	7,0	6,5	21,5	9,3	7,6	13,5	10,0	22,3	12,8	20,3
12		27,5	12,0		18,5	16,0		12,5	19,7		13,5	22,5
14	6,0	35,5	13,0	7,3	21,5	13,7	8,6	13,5	11,7	21,7	14,2	22,7
16		33,5	13,0		30,5	13,7		15,5	15,7		14,8	23,3
18	10,0	45,0	17,0	13,0	31,5	20,3	15,3	25,5	17,0	21,0	13,3	21,3
20		67,0	23,7		42,5	24,0		30,5	27,0		13,0	18,2
22			27,0			29,0			35,3			15,8
24			31,3			31,7			36,3			14,3

Tabuľka 3. Vplyv stupňa zrelosti na aktivitu peroxidáz pri čiernych ríbezliach – Hviezda Chicaga

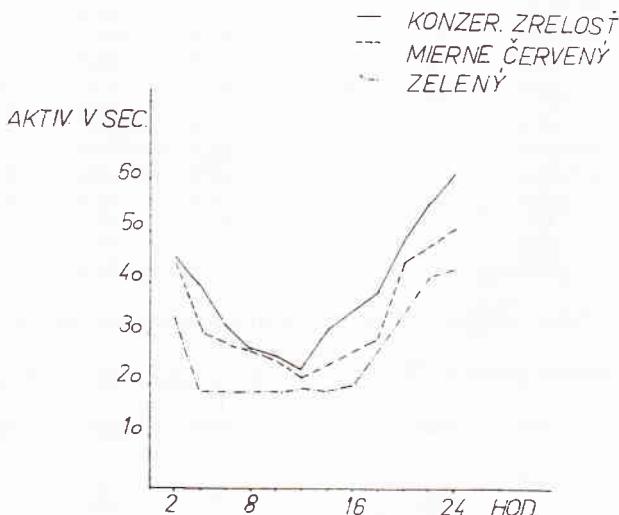
Čas v hod.	Zelený vyvinutý plod		Mierne červený zapálený		Botanickej zrelosti		Priemer teplôt °C	
	1966	1967	1966	1967	1966	1967	1966	1967
2		32,7			41,6		45,3	
4	331,0	19,0	300,0	30,7	26,0	40,7	11,2	12,5
6	199,3	18,0	204,0	20,0	22,3	32,3	12,2	14,7
8	163,0	19,0	185,7	26,3	21,7	27,3	12,7	18,0
10	164,7	17,7	117,0	24,7	17,3	26,3	12,8	20,5
12	113,7	19,0	80,7	22,7	21,0	24,0	13,5	22,3
14	52,0	17,7	31,0	24,0	23,7	32,0	14,2	22,7
16	27,7	20,3	28,0	25,0	27,0	32,3	14,8	23,5
18	65,7	27,0	66,7	28,3	39,3	38,3	13,3	28,3
20	72,3	43,3	57,3	45,7	43,3	49,3	13,0	18,2
22		43,3		44,7		56,3		15,8
24		44,0		52,0		62,0		14,3

Tabuľka 4. Vplyv stupňa zrelosti na aktivitu peroxidáz pri egreši – Hansa

Čas v hod.	Zelený vyvinutý		Polotuhá konzistencia		Botanickej zrelosti		Priemer teplôt °C	
	1966	1967	1966	1967	1966	1967	1966	1967
2		18,3		19,7		24,3		12,2
4	35,0	17,0	30,0	18,7	25,0	22,0	11,2	12,5
6	27,0	19,7	16,5	20,3	18,7	21,3	12,2	14,7
8	30,6	18,3	17,5	21,0	17,7	21,7	12,7	18,0
10	29,0	14,0	18,3	18,7	17,0	18,7	12,8	20,5
12	18,5	12,7	17,0	16,7	14,2	18,3	13,5	22,3
14	17,5	19,3	13,5	20,7	17,0	21,0	14,2	22,7
16	18,0	20,0	17,0	21,0	18,3	20,7	14,8	23,5
18	21,3	22,5	18,5	27,3	21,3	28,3	13,3	21,2
20	24,5	25,1	20,5	29,0	23,0	33,0	13,0	18,2
22		28,3		28,0		31,0		15,8
24		32,0		30,0		37,3		14,3



Graf 1. Vplyv stupňa zrelosti na aktivitu peroxidáz pri jahodách Senga Sengana rok 1967



Graf 2. Vplyv stupňa zrelosti na aktivitu peroxidáz pri čiernych ríbezliach Hviezda Chicaga

V druhom stupni zrelosti, a tým viac v treťom stupni zrelosti bola intenzita fotosyntézy neustále nižšia, v dôsledku tejto skutočnosti odchádzalo do plodov menej asimilátov, a tým aj metabolítov, čo ovplyvnilo koncentráciu peroxidických zlúčenín, v dôsledku čoho došlo k zníženiu aktivity peroxidáz.

b) V druhej časti pokusov sme zistili, že môže dôjsť i k opačnej skutočnosti,

t. j. aktivita peroxidáz je najnižšia v prvom stupni zrelosti, kým v ďalších stupňoch zrelosti neustále stúpa.

Uvedenú skutočnosť sme poznali pri malinách a čiernych ríbezliach v r. 1966.

Ked' porovnáme podmienky pokusov v tomto roku s podmienkami pokusov v iných rokoch, vidíme, že teplota okolia v ostatných orkoch bola vyššia ako v r. 1966. Napr. pri malinách o 6. hodine bola teplota 17°C v r. 1965 a $14,6^{\circ}\text{C}$ v r. 1967, kým v r. 1966 bola $12,2^{\circ}\text{C}$. O 14. hodine bola teplota okolia $21,7^{\circ}\text{C}$ v r. 1965 a $22,7^{\circ}\text{C}$ v r. 1967, v r. 1966 bola teplota okolia iba $14,2^{\circ}\text{C}$. O 18. hodine bola teplota $21,0^{\circ}\text{C}$ v r. 1965 a $18,2^{\circ}\text{C}$ v r. 1967, kým v roku 1966 bola $13,0^{\circ}\text{C}$.

Zo zistenia rozdielnosti teplôt usudzujeme, že v r. 1966 teplota počas dňa mala podstatný vplyv na intenzitu fotosyntézy, čo spôsobilo jej výrazné zníženie. V dôsledku tejto skutočnosti odišlo do plodov menšie množstvo asimilátov – a tým aj peroxidických zlúčenín v prvom stupni zrelosti. Uvedený stav zapríčinil zníženie aktivity peroxidáz v nezrelem ovoci.

c) Za vhodných podmienok fotosyntézy aktivita peroxidáz závisela od teplôt a času a jej priebeh možno charakterizovať nasledovne:

Od včasných ranných hodín intenzita fotosyntézy a teplota stúpala, až dosiahla svoje maximum. Za uvedené obdobie vzrást aktivity peroxidáz si vysvetľujeme tak, že v čase vzrástu asimilácie v liste vznikli asimiláty, napr. monosacharidy, disacharidy, polysacharidy, kyseliny atď. a rôzne metabolity, ako sú peroxidické zlúčeniny. V listoch nahromadené asimiláty a metabolity potom odchádzali do plodov. V dôsledku stúpnutia koncentrácie peroxidických zlúčenín v plodoch a teploty okolia došlo k vzrástu aktivity peroxidáz, čo spôsobilo zníženie koncentrácie peroxidických zlúčenín.

Krátky čas pred- a popoludní dochádza k zníženiu intenzity fotosyntézy, pričom v tomto období teplota a aktivita peroxidáz ďalej stúpla. Tento rozdielny stav medzi asimilačnou intenzitou a aktivitou peroxidáz si vysvetľujeme tým, že listy, ktoré sú bohaté na asimiláty, ako i na metabolity, odchádzajú do plodov drobného ovicia. Týmto stavom dochádza k zvýšeniu koncentrácie peroxidických zlúčenín v plodoch, pričom zvýšenou teplotou sa vytvorila vhodné podmienky pre aktivitu peroxidáz, v dôsledku čoho táto stúpa pri uvedených podmienkach.

V neskorších popoludňajších hodinách dochádza k vzrástu asimilačnej intenzity, t. j. táto prichádza do svojho druhého maxima, ktoré je však nižšie ako v predpoludňajších hodinách. V tomto čase denná teplota a aktivita peroxidáz mierne poklesla. Vzťah medzi asimilačnou intenzitou a aktivitou peroxidáz pri poklesе teploty môžeme si vysvetliť tým, že pri druhom maxime fotosyntézy vzniklo v listoch už menej asimilátov, a tým aj menšie množstvo peroxidických zlúčenín ako v predpoludňajších hodinách. Týmto stavom vznikli podmienky, že z listu do plodov odchádzalo menej asimilátov a metabolítov, čím došlo k zníženiu koncentrácie peroxidických zlúčenín v plodoch. Okrem toho nastalo zníženie teploty. Uvedené faktory zapríčinili zníženú aktivitu peroxidáz v plodoch drobného ovicia.

Po 20. hodine, až do neskorých ranných hodín intenzita asimilačných pochoden bola minimálna, pričom aktivita peroxidáz sa málo zmenila, avšak teploty mierne poklesli. Približne rovnakú aktivitu peroxidáz si vysvetľujeme tým, že v neskorých večerných a nočných hodinách nastal určitý rovnovážny stav me-

dzi teplotou, koncentráciou peroxidov a aktivitou peroxidáz, a tento stav sa zmenil iba v ranných hodinách, keď intenzita asimilačných pochodov stúpla v závislosti od teploty a času.

Keď vychádzame z prác o vplyve aktivity peroxidáz a teploty na oxidáciu kyseliny l-askorbovej (11, 12, 13), prichádzame k názoru, že na mraziarenské spracovanie sú vhodné iba plody drobného ovocia v botanickej zrelosti, lebo majú najnižšiu koncentráciu peroxidických zlúčenín, ktoré podmieňujú aktivitu peroxidáz.

V pokusoch budeme pokračovať, aby sme si niektoré úvahy o aktivite peroxidáz spresnili a tým vytvorili vhodnejšie podmienky pre úchovu ovocia a zeleniny pomocou chladiarenských, mraziarenských, extrémne nízkych teplôt a nových metód spojených s chladom.

Súhrn

Sledovali sme vplyv stupňa zrelosti na enzymatickú aktivitu peroxidáz. Na pokusy sme mali: jahody, maliny, čierne ríbezle a egreš. Aktivita peroxidáz sa stanovila hneď po odtrhnutí plodu, pričom sa merala teplota okolia. Z urobených pokusov sme získali základné poznatky o aktivite peroxidáz. V prvej časti pokusov sa ukázalo, že plody v prvom stupni zrelosti majú najvyššiu aktivitu peroxidáz, ktorá klesá v ďalších stupňoch zrelosti. V druhej časti pokusov sme dospeli k výsledku, že môže nastaviť i tá skutočnosť, že aktivita peroxidáz je najnižšia v prvom stupni zrelosti, kým v ďalších stupňoch zrelosti neustále stúpa. Túto skutočnosť si vysvetľujeme znížením teploty počas vegetácie.

Za vhodných podmienok fotosyntézy aktivita peroxidáz závisí od teploty a času. V ranných hodinách je aktivita peroxidáz najnižšia a predpoludním výrazne stúpa, načo k večeru klesá. V nočných hodinách je aktivita peroxidáz celmi nízka. Uvedené zmeny aktivity peroxidáz súvisia s intenzitou fotosyntézy.

Literatúra

1. Šulc Š. – Zváčová A., Štúdium enzymatickej aktivity peroxidáz. Bulletin SPA – VÚP, ročník VIII., 1969, č. 4.
2. Šulc Š. a iní, Stanovenie klimatotechnických podmienok skladovaných potravín chladom. Čiastková záverečná správa ÚVÚPP, rok 1969.
3. Sicho Vl., Potravinárska biochemie. SNTL – Nakladatelství technické literatury – Nakladatelstvo ALFA, n. p. Bratislava, Praha 1969.
4. Kretovič V. L., Základy biochemie rostlin, ČAV, Praha, 1954.
5. Kostíř J., Obecná biochemie, SNTL Praha, 1960.
6. Kyžlink V., Základy konzervácie potravín, SNTL, Praha, 1958.
7. Neilande J. B. – Stumpf P. K., Úvod do enzymologie, ČAV, Praha, 1961.
8. Rubin B. A., Fyziologie rostlin. ACADEMIA. Nakladatelství Československé akademie věd. Praha, 1966.
9. Summer Sommer, Encyklopédia fyziologie rastlín, XII/1, 1960, s. 365–367, Berlín.
10. Morris H., Reagenčný papier na zistenie peroxidázy. Agr. Food. Chem. 6, s. 383–384, 1958.

Влияние степени спелости на энзимитическую активность пероксидаз

Выводы

Мы наблюдали за влиянием степени спелости на энзиматическую активность пероксидаз. Для опытов мы выбрали клубнику, малину, черную смородину и крыжовник. Активность пероксидаз мы определяли немедленно после сбора фруктов, причем мы измеряли температуру среды. На основании опытов мы получили основные познания об активности пероксидаз. В первой части опытов мы установили, что у фруктов в первой степени спелости наибольшая активность пероксидаз, которая понижается в следующих степенях спелости. Во второй части опытов мы определили, что может случиться, что активность пероксидаз будет самая низкая в первой степени спелости, пока в следующих степенях спелости она постоянно повышается. Этот факт мы объясняем понижением температуры во время вегетации.

В подходящих условиях фотосинтеза активность пероксидаз зависит от температуры и времени. Утром активность пероксидаз самая низкая и до обеда она выразительно повышается а к вечеру она понижается. Ночью активность пероксидаз очень низка. Данные изменения пероксидаз связаны с интенсивностью фотосинтеза.

Influence of maturity degree on enzymatic activity of peroxidases

Summary

The influence of maturity degree on enzymatic activity of peroxidases was studied. At the disposal for experiments were: strawberries, raspberries, black currants and gooseberries. The activity of peroxidases has been determined immediately after picking the fruit and at the same time the temperature of the environment was measured. The fundamental informations about activity peroxidases from said experiment have been gathered. The first part of experiments has shown that the activity of peroxidases is the highest in the fruits of first degree of maturity and declines in further degrees of maturity. In the second part of experiment demonstrated also the possibility of the lowest activity of peroxidase in first degree of maturity with continuous rising in additional degrees of maturity. This fact is explicable by lowering the temperature during vegetation.

In suitable conditions of photosynthesis the activity of peroxidases depends on the temperature and time. In the small hours of the morning the activity of peroxidases is the lowest and significantly rises during the forenoon, declining towards evening. In night hours the activity of peroxidases is very low. The said changes in activity of peroxidases are connected with intensity of photosynthesis.