

## PRÍSPEVOK K POZNANIU VPLYVU NÍZKÝCH TEPLÓT NA AKTIVITU GLYKOLYTICKÝCH ENZÝMOV MÄSA

I. STEIN, F. KLEMPOVÁ, E. MORÁROVÁ

Svalstvo zvierat obsahuje polysacharid glykogén (0,5—2,0 %), ktorý sa za katalytického pôsobenia sústavy enzýmov (enzýmov glykolízy) komplikovaným reakčným postupom štiepa na kyselinu mliečnu. Menšia časť kyseliny sa rozkladá na  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ , väčšia sa resyntetizuje na glykogén.

Po smrti zvierat konverzia glykogénu na kyselinu mliečnu pokračuje, ale resyntéza na glykogén už nenastáva. Vo svalstve dochádza k hromadeniu kyseliny, k zvýšeniu pH mäsa, ktoré z pôvodného pH 6,94 pred porážkou sa zvýší na pH 5,96 až 5,7 u hovädzieho a z pH 5,90 až na 5,4 u bravčového mäsa. Po dosiahnutí určitého maxima sa vytváranie kyseliny mliečnej spomalí a pri pH 5,3—5,2 následkom inhibície glykolytických enzýmov sa zastaví (bez ohľadu na to, či glykogén bol úplne vyčerpaný alebo nie).

Odbúranie glykogénu v svalstve je dôležitou zložkou procesu zrenia mäsa. Vznikajúca kyselina (mäso-) mliečna zabráňuje rozkladu bielkovín až na amoniak a vytvára optimálne podmienky pre zložitý pochod zrenia, ktorým nadobúda mäso svoju kulinársku hodnotu.

Rýchlosť, ktorou sa kyselina vytvára, závisí od obsahu uhľohydriátorov (glycidov) vo svalstve, od veku organizmu a najmä od teploty mäsa, pri ktorej glykolíza prebieha. Pri biokinetickej optime je rýchlosť glykolízy relatívne najväčšia; teplotami pod optimum sa proces glykolízy spomaľuje.

Pri technologickej spracovanej mäse zmrazením sa priebeh glykolízy spomaľuje postupným znižovaním teploty zvieracieho tela tak, aby proces dozrievania netrval dlhšie ako 72 hod. (Vo svalstve hovädzieho dobytka dosiahne sa maximum kyseliny mliečnej za 48 hodín). Zvieracie telo po porážke teplé 37—40 °C sa nechá na bitúnku vypariť, predchladí sa, vloží do chladiarne, kde sa schladí na 7—10 °C. V odvešovni mraziarne sa schladí na 2 až 4 °C a v zmrzavacom zariadení sa zmrází za 48 hodín na —7 °C. Takto zmrazené mäso sa skladuje v mraziacich komorách pri —18 °C.

Miesto postupného schladzovania uvažuje sa o zavedení spôsobu zmrzovania mäsa teplého, ihned po porážke (jednostupňové zmrzovanie). V tejto súvislosti študovali sme vplyv rýchleho zmrzovania, resp. nízkych teplôt na aktivitu enzýmov katalyzujúcich tvorbu kyseliny mliečnej v mäse.

### Enzymy glykolízy

Konverziu glykogénu katalyzujúce enzýmy, medziprodukty konverzie a koenzýmy, ktoré sa na pochode zúčastňujú, sú dnes známe (1). Sú uložené v svalových bunkách. Bielkovina svalstva myozín sa považuje za identickú s adenosin trifosfátázou (2) myogén obsahuje aldolázu,  $\alpha$ -glycerofosfátdehydrogenázu

a mnohé iné enzymy. Podľa Kenetha a Bailey-a (3) obsahuje myogénová frakcia asi 10 % triozofosfátdehydrogenázy, 10 % kreatinfosfokinázy, 2 % fosforylázy a asi 5 % aldolázo-izomerázy. Mnohé enzymy, najmä enzymy cyklu trikarbonových kyselin, enzymy oxydačného odbúrania tukov sú uložené v mitochondriách a ostatných časticach svalových buniek.

Aktivitu glykolytických enzymov možno sledovať stanovením množstva konverzii glykogénu vznikutej kyseliny mliečnej.

### Materiál a metóda

Kyselinu mliečnu sme stanovili metódou Burkera a Summersona (4) kolorimetricky, pomocou p-oxydifenu za prítomnosti medi.

Zo zvieracieho tela na bitúnku vyoperovaný sval sme zomleli na faširovacom stroji. 5 g mäsa zmiešali sme s 25 ml redestilovanej vody a vložili na 5 min. do vriaceho vodného kúpeľa. Po schladení sme 10 min centrifugovali (3500 O/min); z centrifugátu sme odpipetovali 0,1 ml supernatantu, zmiešali s 5,9 ml 2,2 % roztoku síranu meďnatého, pridali na špičku noža hydroxyd vápenatý a ponechali za občasného premiešania stáť 30 min. pri laboratórnej teplote. Zmes sme centrifugovali a z centrifugátu odpipetovali 0,5 ml supernatantu. K roztoku sme z byretu prikvapkávali za stáleho miešania a chladenia ľadom — 3 ml konc.  $H_2SO_4$ . Po 5 min. státia v 25 °C teplom vodnom kúpeli vložili sme skúmaku na 2 min. do vriaceho vodného kúpeľa, opäť schladili na 25 °C a ponechali 5 min. stáť. Potom sme pridali 1 kvapku 4 % roztoku síranu meďnatého a 1 kvapku p-oxydifenu (1,5 % roztok v 0,5 % NaOH). Po premiešaní sme ponechali zmes stáť 25 min. v 25 stupňovom kúpeli za občasného premiešania a 5 min. bez miešania. Túto zmes sme poverili 90 sekúnd vo vriacom vodnom kúpeli, ochladili pod vodovodom na izbovú teplotu, nechali stáť 5 min. a kolorimetrovali na Zeissovom spektrofotometri pri 560  $m\mu$  (zelený filter) proti blanku. Intenzita zafarbenia je úmerná množstvu kyseliny mliečnej. Jej množstvo sme vypočítali pomocou kalibračnej krivky. Na zostavenie kalibračnej krivky sme použili roztok 106 mg litnanu mliečneho v 100 ml redestilovanej vody. Z roztoku sme zriedením pripravili 100 až 1000 mg % množstvá kyseliny mliečnej a stanovili ich extinkciu (Obr. 1).

Asi hodinu po porážke zvieraťa sme vyoperovali na bitúnku svaly *Musculus psoas minor* (hovädzí) resp. bravčové pliecko (ďakujeme touto cestou ss. MUVDr. Filovi a Repkovi za poskytnutú pomoc) a zomleli na faširovacom stroji. Do väčšieho počtu téglíkov z PVC navázili sme presne 5 g homogenátu, schladili, resp. zmrazili na inkubačnú teplotu (5, 0, -5 a -20 °C) a po dosiahnutí žiadanej teploty stanovili sme obsah kyseliny mliečnej. Toto množstvo sme považovali za nultú hodnotu. Vytemperované vzorky vložili sme do ľadničky, pot. chladiarenského boxu, inkubovali rôzne dlhú dobu pri príslušnej teplote a stanovili obsah kyseliny mliečnej. Rozdiel medzi počiatocným a konečným obsahom kyseliny mliečnej je výrazom aktivity sústavy glykolytických enzymov za daných podmienok.

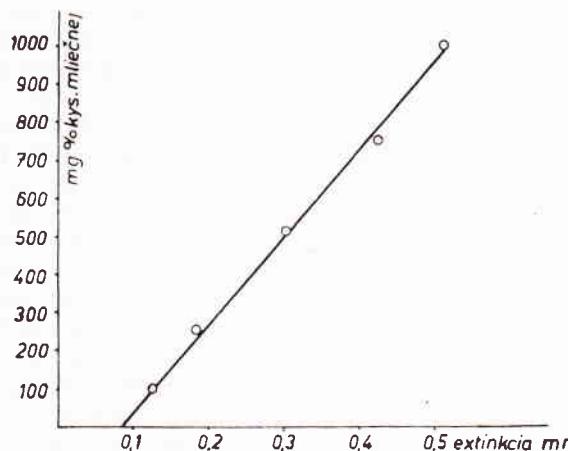
### Výsledky

#### 1. Reakčná rýchlosť glykolýzy

Priebeh konverzie glykogénu a sacharidov svalstva na kyselinu mliečnu katalyzovaný sústavou glykolytických enzymov v závislosti od času sleduje chod monomolekulovej reakcie.

Tabuľka 1a. Priebeh glykolýzy v závislosti od času. M. psoas minor, hovädzí:  
60 min. po porážke, 74, 85 % vody, 120 mg % kyseliny mliečnej

| t°  | Čas v hodinách         |    |     |     |     |       |       |     |
|-----|------------------------|----|-----|-----|-----|-------|-------|-----|
|     | 2                      | 6  | 24  | 48  | 72  | 96    | 120   | 168 |
|     | mg % kyseliny mliečnej |    |     |     |     |       |       |     |
| +5  | 77                     | 90 | 256 | 339 | 404 | klesá |       |     |
| 0   | 54                     | 82 | 110 | 285 | 382 | 450   | klesá |     |
| -5  | 55                     | 75 | 86  | 110 | 140 | 165   | 235   | 275 |
| -20 | 35                     | 55 | 67  | 76  | 85  | 140   | 185   | 255 |



Obr. 1. Kalibračná krivka pre kyselinu mliečnu

Tabuľka 1b. Bravčové pliecko: 60 min. po porážke, 70,9 % vody,  
360 mg % kyseliny mliečnej

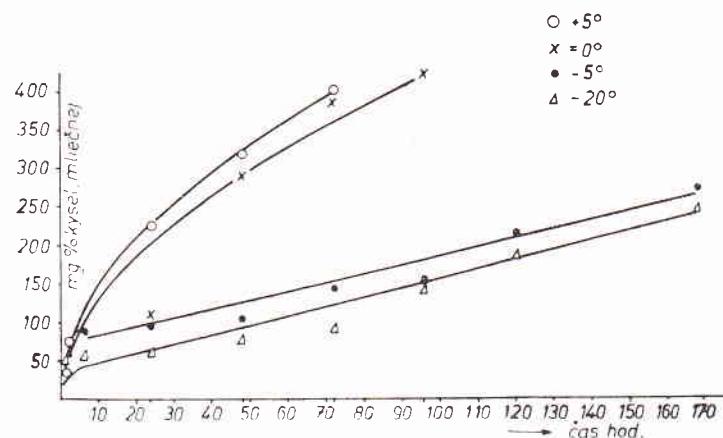
| t°  | Čas v hodinách         |     |     |       |       |     |  |
|-----|------------------------|-----|-----|-------|-------|-----|--|
|     | 2                      | 5   | 20  | 44    | 92    | 116 |  |
|     | mg % kyseliny mliečnej |     |     |       |       |     |  |
| +5  | 45                     | 225 | 315 | klesá |       |     |  |
| 0   | 37                     | 119 | 262 | 332   | klesá |     |  |
| -5  | —                      | 110 | 233 | 240   | 250   | 269 |  |
| -20 | 67                     | 102 | 187 | 248   | 299   | 324 |  |

Podľa vzorca monomolekúlnej reakcie možno vypočítať relatívne množstvo kyseliny mliečnej vzniknutej za určitú dobu. Koeficient reakčnej rýchlosťi

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x} \quad (1)$$

( $t$  = čas,  $a = 1$ ,  $x$  = množstvo vzniknutej kyseliny mliečnej v mg), vyjadruje relativnu aktivitu enzýmov glykolytickej sústavy za danej teploty.

Približne monomolekulárny priebeh tvorby kyseliny mliečnej ostáva neporušený i pri nízkych teplotách. Multienzymatický komplex glykolytických enzýmov sa nízkymi teplotami nerozčleňuje.



Obr. 2. Priebeh glykolýzy v závislosti od času (M. psoas minor — hovädzí)

Tabuľka 2a. Musculus psoas minor hovädzí

| t°  | Čas v hodinách |        |         |        |        |        |        | Priemer k |
|-----|----------------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|-----------|
|     | 6              | 24     | 48      | 72     | 96     | 120    | 169    |           |
| +5  | 0,0156         | 0,0122 | 0,00845 | 0,0072 | —      | —      | —      | 0,01036   |
| 0   | 0,0141         | 0,0051 | 0,0071  | 0,0067 | 0,0062 | —      | —      | 0,00784   |
| -5  | 0,0129         | 0,0039 | 0,0024  | 0,0021 | 0,0019 | 0,0023 | 0,0018 | 0,00389   |
| -20 | 0,0093         | 0,0012 | 0,0016  | 0,0012 | 0,0016 | 0,0018 | 0,0017 | 0,00262   |

Tabuľka 2b. Bravčové pliecko

| t°  | Čas v hodinách |       |       |       |        |        | Priemer k |
|-----|----------------|-------|-------|-------|--------|--------|-----------|
|     | 2              | 5     | 20    | 44    | 92     | 116    |           |
| +5  | 0,0230         | 0,051 | 0,019 | —     | —      | —      | 0,0359    |
| 0   | 0,019          | 0,025 | 0,015 | 0,009 | —      | —      | 0,0204    |
| -5  | 0,007          | 0,023 | 0,033 | 0,006 | 0,0031 | 0,0027 | 0,0158    |
| -20 | —              | 0,022 | 0,011 | 0,006 | 0,0039 | 0,0034 | 0,0092    |

## 2. Teplota a rýchlosť glykolýzy

Rozdiel v množstve kyseliny mliečnej pri rôznych teplotách vyjadruje vplyv teploty na aktivitu enzymov glykolytickej sústavy. Rýchlosť glykolýzy sa teplotou mení. Znížením teploty sa glykolýza spomaľuje, koeficient rýchlosťi glykolýzy  $k$  klesá.

Tabuľka 3a. Vplyv teploty na hodnotu  $k$

| t°  | M. psoas minor<br>hov. | Bravčové pliecko |
|-----|------------------------|------------------|
|     | k.10 <sup>-3</sup>     |                  |
| +5  | 1,09                   | 3,59             |
| 0   | 0,78                   | 2,04             |
| -5  | 0,39                   | 1,58             |
| -20 | 0,26                   | 0,92             |

Pre vyjadrenie závislosti reakčnej rýchlosťi od teploty použili sme miesto teplotného koeficientu  $Q_{10} = \frac{k_1 + 10}{k_t}$  empirickú rovnicu Arrheniovu

$$\frac{d \ln k}{dT} = -\frac{E}{R \cdot T^2} \quad (2)$$

( $E \mu$ ) = aktivačná energia v kal/mol,  $R$  = plynová konštantă,  $T$  = absolútne teplota,  $k$  = monomolekulárny koeficient reakčnej rýchlosťi)  $E$  je množstvo aktivačnej energie, ktoré treba sústave odňať, aby sa rýchlosť enzymatickej katalýzy znížila.

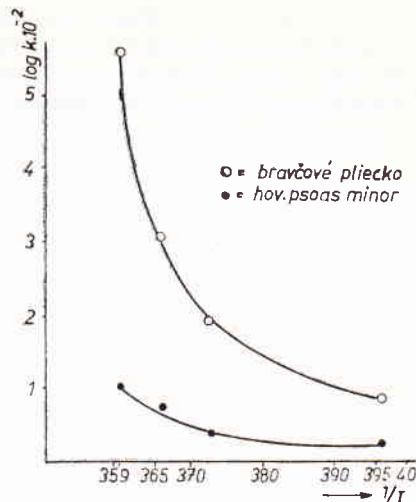
V interpretovanej forme

$$\ln k = -\frac{E}{R} \frac{1}{T} + \text{konst.} \quad (3)$$

naznačuje, že vzťah medzi log.  $k$  a  $1/T$  je lineárny. V skutočnosti prebieha konverzia glykogénu na kyselinu mliečnu podľa mierne zakrivenej krivky.

Tabuľka 3b. Vzťah medzi log.  $k \cdot 10^{-2}$  a  $1/T$

| t°  | 1/T     | log k.10 <sup>-2</sup> |                |
|-----|---------|------------------------|----------------|
|     |         | bravčové pliecko       | M. psoas minor |
| +5  | 0,00359 | 0,56                   | 0,036          |
| 0   | 0,00365 | 0,31                   | 0,009          |
| -5  | 0,00373 | 0,30                   | 0,006          |
| -20 | 0,00395 | 0,10                   | 0,004          |



Obr. 3. Vzťah medzi  $\log k$  a  $1/T$

Z priebehu kriky možno usudzovať, že v rozpätí teplôt  $+5^\circ$  až do  $-20^\circ$  nedošlo k štruktúrnym zmenám v stavbe multikatalytickeho komplexu glykolytickej enzýmov. Spomalenie reakčnej rýchlosťi teplotou nie je sprevádzané rozkladom zložitej molekuly enzýmov.

Pre limity  $T_1$  a  $T_2$  a im odpovedajúce koeficienty reakčnej rýchlosťi  $k_1$  a  $k_2$  znie rovnica

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{E}{R} \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) = \frac{E(T_2 - T_1)}{R \cdot T_1 \cdot T_2} \quad (4)$$

z ktorej

$$E = \frac{\ln R T_1 \cdot T_2}{T_2 - T_1} \cdot \log \frac{k_2}{k_1} \quad (5)$$

Aktivačná energia E pri inaktivácii sústavy glykolytickej enzýmov v rôznych svaloch nízkymi teplotami v rozpätí teplôt  $+5^\circ$  do  $-20^\circ\text{C}$  nie je rovnaká.

Tabuľka 4. Aktivačná energia sústavy

| $t^\circ$ | Bravčové pliecko     | M. psoas minor |
|-----------|----------------------|----------------|
|           | $E = \text{kal/mol}$ |                |
| 5 — 0     | 16 998               | 1736           |
| 0 — 5     | 3 725                | 1023           |
| -5 — -20  | 1 314                | 412            |

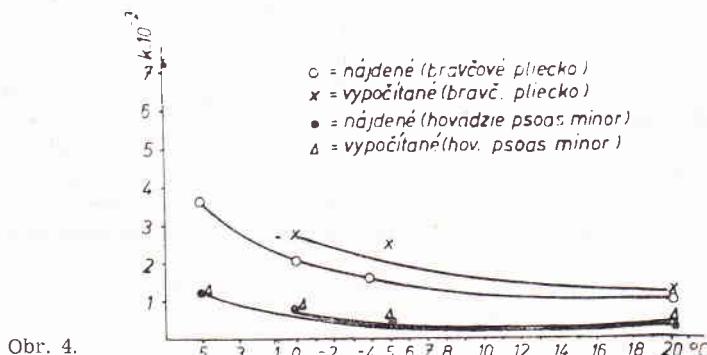
Energia, ktorú treba odňať sústave, aby sa enzymatická katalýza spomalila v rozpätí teplôt  $0^\circ$  až  $-5^\circ$  závisí od aktivity enzymatickej sústavy. Predbežné výsledky ukazujú, že množstvo energie, ktoré treba sústave odňať pri nižšej

aktivite enzymatickej sústavy je menšie, než pri vyššej aktivite. Hodnota E nie je stabilná, klesajúcou teplotou sa znižuje v rozpätí teplôt od 0 — 5 °C resp. od — 5 do — 20 °C asi o polovicu. Definitívne závery sa zatiaľ nedajú odvodiť.

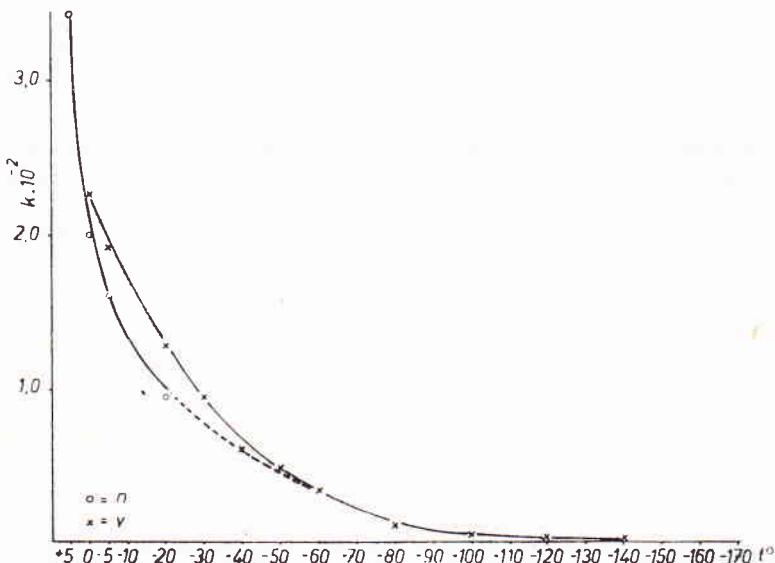
Prevedením rovnice (4) na dekadické logaritmy a vyjadrením v kal. je

$$\log \frac{k_2}{k_1} = \frac{E(T_2 - T_1)}{2,31,98 \cdot T_1 \cdot T_2} \quad (6)$$

Dosadením strednej hodnoty E (tab. 4) do rovnice (6), experimentálne zistenej hodnoty koeficientu reakčnej rýchlosťi  $k$  pri jednej teplote možno vypočítať príslušné hodnoty  $k$ , t. j. aktivity glykolytických enzymov pri lubovoľnej nízkej teplote. Vypočítaná relatívna aktívita sa dobre zhoduje so zistenou hodnotou. (Obr. 4, 5.)



Obr. 4.



Obr. 5. Aktivita glykolytických enzymov bravčového pliecka pri nízkych a ultranízkych teplotách

Tabuľka 5.  $k \cdot 10^{-2}$  nájdené (n), vypočítané (v)

| $t^\circ$ | Bravčové pliecko, E = 3725 kJ/mol |                   |   |
|-----------|-----------------------------------|-------------------|---|
|           | n                                 | $k \cdot 10^{-2}$ | v |
| +5        | 3,59                              | —                 | — |
| 0         | 2,04                              | 2,25              | — |
| -5        | 1,58                              | 1,91              | — |
| -10       | —                                 | 1,73              | — |
| -20       | 0,92                              | 1,27              | — |
| -30       | —                                 | 0,96              | — |
| -40       | —                                 | 0,69              | — |
| -50       | —                                 | 0,48              | — |
| -60       | —                                 | 0,32              | — |
| -80       | —                                 | 0,13              | — |
| -100      | —                                 | 0,088             | — |
| -120      | —                                 | 0,010             | — |
| -140      | —                                 | 0,0016            | — |
| -200      | —                                 | 0,000,000,0014    | — |

Krivka inhibície aktivity nevykazuje charakteristický lom, ktorý by naznačoval, že vplyvom zmeny skupenstva vody („voľnej“ a „viazanej“), by bolo došlo k zmenu štruktúrnej stavby komplexnej molekuly multikatalytickej sústavy glykolytických enzýmov. Nazdávame sa, že priebeh glykolýzy sa nízkymi teplotami nezastavuje, len spomaľuje. Zniženie rýchlosť je relatívne veľké v rozpätí teplôt 5° do -60 °C. Inhibícia aktivity glykolytických enzýmov pri nižších teplotách je relatívne malá. Teplotou skvapalneného vzduchu sa sústava glykolytických enzýmov svalstva nezničí. Po roztočení sa intenzita tvorenia kyseliny mliečnej v svalstve zvýšila.

Hlboké a ultranízke teploty nezničia enzýmy, len retardujú ich pôsobenie. Zniženie aktivity závisí od hĺbky teploty. Katalytickú schopnosť zachovajú si enzýmy aj v zmrazenom stave.

### 3. Teplota a inhibícia glykolýzy

Inhibícia pôsobenia sústavy glykolytických enzýmov sleduje chod monomolekulárnej reakcie. Keď aktivita glykolytických enzýmov vyjadrená množstvom kyseliny mliečnej vytvorennej pri optimálnej teplote je  $k_{max}$  a aktivita toho istého množstva glykolytických enzýmov pri inej teplote ( $x^\circ$ ) za inak rovnakých po- kusných podmienok je  $k_x$ , potom konštanta inhibície

$$k_e = \frac{\ln}{t} \cdot \frac{k_{max}}{k_x}$$

( $k_{max}$  = koeficient reakčnej rýchlosťi glykolýzy pri optimálnej teplote,  $k_x$  = koeficient reakčnej rýchlosťi pri teplote  $x^\circ$ ,  $t$  = doba).

Zniženie aktivity glykolytických enzýmov teplotou (relatívna inhibícia hypotermálna) možno vypočítať podľa vzorca monomolekulárnej reakcie.

Vzťah, ktorý panuje medzi inhibičným koeficientom  $k$  a teplotou možno vyjadriť rovnicou priamky

$$y = a + bt$$

kde  $y = kc$ ,  $b =$  hodnota  $kc$  pri teplote  $t$ ,  $a =$  úsečka na ose  $x$ , V našom prípade sa

$$kc = 0,64 + (-0,008)t$$

Rovnica dovoľuje vypočítať relatívnu hodnotu  $k_c$  pri ktorejkoľvek teplote (tab. 6, obr. 6). Súvislosť inhibície, resp. hodnoty  $k^o$  s koeficientom reakčnej rýchlosťi  $k$  vytvára podklad pre analytické sledovanie priebehu rýchlosťi tvorby kyseliny mliečnej v mäse zmrazenom ihned' po porázke.

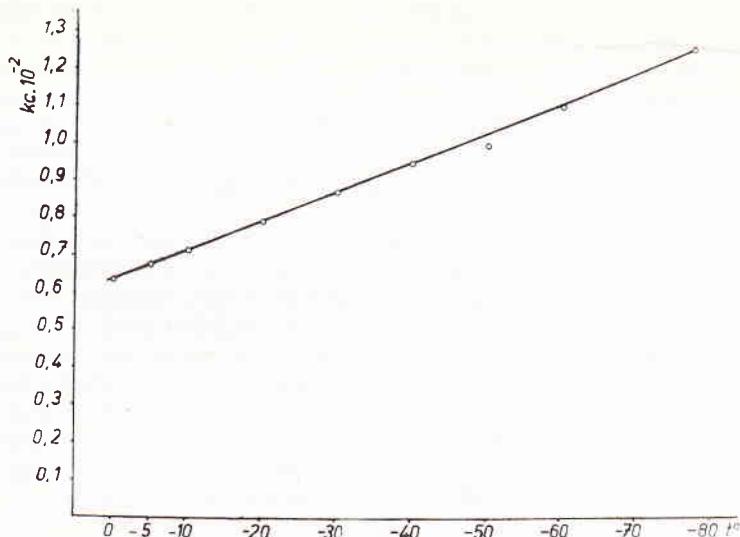
Tabuľka 6.  $kc \cdot 10^{-2}$  v závislosti od teploty

| $t^\circ$ | Musculus psoas minor hovädzí<br>$kc \cdot 10^{-2}$ podľa |                        |
|-----------|--|------------------------|
|           | $kc = \frac{\ln t}{t} \cdot \frac{k_{\max}}{k_x}$        | $k = 0,64 + (-0,008)t$ |
| +5        | —  | —                      |
| 0         | 0,57   | 0,64                   |
| -5        | 0,65   | 0,68                   |
| -10       | 0,73   | 0,72                   |
| -20       | 1,04   | 0,80                   |
| -30       | 1,07   | 0,88                   |
| -40       | 1,08   | 0,96                   |
| -50       | 1,12   | 1,04                   |
| -60       | 1,16   | 1,12                   |
| -80       | 1,25   | 1,28                   |

Ked' predpokladáme, že konverzia glykogénu a sacharidov svalstva na kyselinu mliečnu je výsledkom pôsobenia enzýmov rozpustených v mäsovej štave, možno inhibíciu glykolytických enzýmov teplotou vysvetliť zmenou rozpustnosti, ktorá nastáva postupným vymrazovaním vody pri zmrazovaní. Aktívna a inaktívna sústava glykolytických enzýmov vyskytuje sa v bunke v neustále sa meniacej rovnováhe. Za optimálnej teploty (pH a iných činiteľov) pôsobí z celkového množstva glykolytických enzýmov maximum, reakčná rýchlosť glykolyzy je maximálna ( $k_{\max}$ ), inhibície je minimálna ( $k_{c_{\min}}$ ). Vzťah medzi aktivnými a inaktívnymi enzýmami glykolyzy je funkciou pomeru aktivných a inaktívnych enzýmov sústavy za danej teploty pH a suroviny konštantnou veličinou, ktorú možno vyjadriť v % zo vzťahu

$$Q = \frac{k_{c_t}}{k_{c_{\max}}} \cdot 100$$

kde  $k_{c_t}$  je konštanta inhibície pri  $t^\circ$ ,  $k_{c_{\max}}$  konštanta inhibície za optimálnych podmienok.



Obr. 6. Vzťah medzi  $k_c$  a teplotou

### Diskusia

Priebeh glykolýzy v závislosti od času sleduje chod monomolekulárnej reakcie. Podobne ako multienzymatická sústava kateptických enzýmov (5) i multikatalytická sústava enzýmov katalyzujúcich konverziu uhľohydrátov na kyselinu mliečnu sa nízkymi teplotami nerozkladá.

Komplex glykolytických enzýmov a s ním spriahnutý adenyllový systém pôsobí v bunke harmonicky. Mierou ich aktivity je množstvo vzniknutej kyseliny mliečnej v závislosti od času a teploty. Znižením teploty sa spomali rýchlosť glykolýzy, zmenší sa rýchlosť tvorby kyseliny mliečnej. Hodnota koeficientu reakčnej rýchlosťi klesá s klesajúcou teplotou.

Z grafického znázornenia empirickej rovnice Arrheniovej vyplývajúci vzťah medzi  $\log k$  a recipročnou hodnotou absolútnej teploty  $1/T$  získaná krvka vykazuje mierne zakrivenie. Zložitá sústava glykolytických enzýmov je teda podobne ako sústava kateptických enzýmov odolná proti nízkym teplotám, nerozkleňuje sa na jednotlivé komponenty.

Aktivačná energia, ktorú treba odňať sústave, aby sa proces vytvárania kyseliny mliečnej spomalil, nie je rovnaká. Na spomalenie procesu v rozpätí  $+5^\circ$  do  $0^\circ$  sa sústavne odoberie viac energie ako v rozpätí  $0^\circ$  až  $-5^\circ$ , resp.  $-5^\circ$  až  $-20^\circ$ . Hodnota  $E_{(\omega)}$  nie je konštantná.

Na termodynamickú formuláciu konverzie uhľohydrátov svalstva sústavou glykolytických enzýmov možno použiť empirickú rovnicu Arrheniovú. Aktivitu glykolytických enzýmov pri rôznych teplotách možno pomerne dobre predpovedať.

Glykolytické enzýmy nestrácajú aktivitu ani pri veľmi nízkych teplotách. Nízke a ultranižke teploty neinaktivujú enzýmy glykolytickej sústavy, len ich pôsobenie retardujú. Nazdávame sa, že príčinou inhibície je premena glykolytických enzýmov z rozpustnej do nerozpustnej formy.

Hypotermálna inhibícia sústavy glykolytických enzýmov sleduje chod monomolekulárnej reakcie. Inhibičný koeficient  $k_c$  stúpa s klesajúcou teplotou. Medzi inhibíciou, resp. koeficientom inhibície  $k_c$  a teplotou panuje vzťah, ktorý možno vyjadriť rovnicou priamky. Tento vzťah umožňuje vypočítať relatívnu hodnotu  $k_c$  pri ľubovoľnej teplote. Súvislosť koeficientu reakčnej rýchlosťi glykolízy ( $k$ ) a koeficientu inhibície ( $k_c$ ), vytvára podklad pre analytické sledovanie priebehu glykolízy v mäse zmrazenom ihneď po porážke a vyjadrenie relatívneho stupňa glykolízy v skladovanom mäse.

Podstatou technologickejho zmrazovania mäsa je termálna inhibícia priebehu konverzie uhlôhydrátov na kyselinu mliečnu a priebehu depolymerácie bielkovín mäsa sústavou natívnych enzýmov. Pri obvykom technologickom postupe zmrazenia mäsa konverzia uhlôhydrátov na kyselinu mliečnu prebieha za relativne vyšších teplôt ako depolymerizácia bielkovín. Pomerne rýchla konverzia uhlôhydrátov vytvára priaznivé podmienky pre pôsobenie proteolytických enzýmov.

Rýchlym schladením mäsa po porážke na teploty pod biokinetickej optimom glykolízy zníži sa aktivita enzýmov glykolytickej sústavy. Počas glykolízy je aktivita proteolytických enzýmov mäsa relativne najnižšia. Spomalením glykolízy, spomalí sa proces zrenia mäsa a predlží jeho skladovateľnosť.

## S ú h r n

Priebeh glykolízy pri nízkych teplotách sleduje chod monomolekulárnej reakcie. Nízkymi teplotami sa zložitý komplex enzýmov glykolytickej sústavy nemení.

Vzťah medzi rýchlosťou glykolízy a teplotou možno vyjadriť empirickou rovnicou Arrheniovou. Vzťah medzi inhibíciou glykolízy a teplotou je lineárny, dá sa vyjadriť rovnicou priamky.

Pri znalosti  $E_{(\omega)}$  a koeficientu reakčnej rýchlosťi glykolízy pri jednej teplote, možno vypočítať aktivitu glykolytických enzýmov pri ľubovoľnej teplote.

Zmrazením za tepla spomalí sa priebeh glykolízy a autolízy mäsa.

## О ВЛИЯНИИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР НА АКТИВНОСТЬ ГЛИКОЛИТИЧЕСКИХ ЭНЗИМОВ МЯСА

### Резюме

Ход гликолиза, при низких температурах, зависит от хода мономолекулярной реакции. От низких температур не меняется сложный комплекс энзимов гликолитической системы.

Отношение между скоростью гликолиза и температурой, можно выразить эмпирическим уравнением Аррениуса. Отношение между замедлением гликолиза и температурой является линейным, — его можно выразить в уравнении прямой.

Зная  $E_{(\omega)}$  и коэффициент реактивной скорости гликолиза, при одной температуре, то можно высчитать активность гликолитических энзимов, при любой температуре.

Ход гликолиза и автолиза мяса значительно замедляется после быстрого замораживания.

# BEITRAG ZUR KENNTNIS DES EINFLUSSES VON NIEDRIGEN TEMPERATUREN AUF DIE AKTIVITÄT DER GLYKOLYTISCHEN ENZYME VON FLEISCH

## Zusammenfassung

Bei tiefen Temperaturen, folgt der Prozess der Glykolyse den Gang einer monomolekularen Reaktion. Der multienzymatische Komplex der glykolytischen Enzyme wird durch tiefe Temperaturen nicht zerlegt.

Die Abhängigkeit der Geschwindigkeit der Glykose von der Temperatur kann durch die empirische Gleichung von Arrhenius ausgedrückt werden. Die Beziehung zwischen der Inhibition der Glykose und der Temperatur ist linear und kann aus der Gleichung einer Geraden berechnet werden.

Ist der Wert von  $E(\omega)$  und der Konstante der Reaktionsgeschwindigkeit der Glykose  $k$  bei einer Temperatur bekannt, kann die Aktivität der glykolytischen Enzyme bei willkürlicher Temperatur berechnet werden.

Durch das sofortige Gefrieren des warmen Fleisches wird der Verlauf der Glykolyse und der Autolyse des Fleisches verlangsamt.

## Literatúra

1. Stein I., Chemia a technológia enzýmov, Bratislava, 1956
2. Engelhard W. A., Ljubimova M. V., Natura, 144, 668 (1939)
3. Neurath H., Bailey K., The Proteins, New York, 1954
4. Barker S., Summersen W., J. biol. Chem. 138, 535 (1941)
5. Stein I., Klempová F., Morárová E., Bulletin Výskumného ústavu mrazírenského, 4, 1 (1962)