

ÉVOLUTION DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES EN MILIEU  
PEU HYDRATÉ

A. GUILBOT ET R. DRAPRON (MASSY, SEINE-ET-OISE)

Au cours de la transformation et du stockage des produits agricoles et alimentaires peu hydratés, les modifications qui sont susceptibles de se produire peuvent être essentiellement attribuées, soit à l'action des microorganismes, soit à des réactions chimiques, telles que l'oxydation et la réaction de Maillard, soit à des réactions enzymatiques.

Il n'est pas toujours aisé de distinguer le rôle respectif de ces différentes causes de modifications dans les milieux naturels. Cependant, en se protégeant contre les actions d'ordre microbiologique, en particulier par des teneurs en eau suffisamment faibles pour éviter le développement des microorganismes, on a pu mettre en évidence les cas typiques d'action enzymatique. Ceci a pu être réalisé surtout lorsque les produits terminaux de la réaction sont suffisamment stables et peuvent être facilement dosés dans les milieux complexes (produits formés par certaines estérases, par exemple).

Les enzymes impliqués peuvent être des composants normaux du matériel biologique considéré ou avoir été secrétés par des microorganismes, au cours d'un stade de transformation précédent.

Leur manifestation peut nécessiter une destruction de la structure cellulaire qui les mette en contact avec leur substrat, c'est ce que l'on observe avec les céréales broyées par exemple. Dans d'autres cas, l'enzyme sera mis en présence du substrat lors d'un mélange (cas de l'addition de matières grasses à des farines de céréales contenant des lipases). De plus, ces manifestations peuvent ne se produire que très lentement au cours du stockage de longue durée, lorsque les conditions sont peu favorables ou lorsque la concentration de l'enzyme est faible.

Plusieurs mises au point ont été faites sur ces aspects généraux (Acker, 1962; Drapron et Guilbot, 1962) auxquelles nous renvoyons pour plus de détails.

Généralement, ces actions enzymatiques ont des effets peu favorables et on s'efforce de les éliminer par destruction thermique de l'enzyme lorsqu'on ne risque pas d'altérer le produit, ou dans le cas contraire, par déshydratation suffisamment poussée. Il est donc particulièrement important de connaître l'évolution des activités enzymatiques dans les milieux peu hydratés afin de pouvoir les contrôler plus sûrement.

On a remarqué depuis longtemps que le comportement des enzymes est sous la dépendance de la teneur en eau, cependant les observations globales faites en milieu naturel peu hydraté ne permettent pas de préciser la cinétique de leur action en fonction de l'hydratation.

Dans la plupart des recherches entreprises dans ce domaine, on a examiné l'activité de systèmes enzymatiques complexes et c'est la teneur globale en eau plus que l'activité de celle-ci qui a été prise en considération, si bien qu'il est difficile d'en déduire des lois générales. C'est pourquoi, plusieurs auteurs ont été amenés à étudier en fonction de l'humidité relative, la manifestation des actions enzymatiques dans des mélanges artificiels modèles, enzyme-substrat.

Des études dans ce sens ont été effectuées essentiellement sur des hydrolases:

- enzymes protéolytiques (Volgunov, 1948; Volgunov et Pokhno, 1949),
- amylases (Mashkovcev, Volgunov et Pokhno, 1951; Kiermeter et Coduro, 1954; Drapron et Guilbot, 1962),
- estérases telles que phospholipases (Acker et Luck, 1958; Acker et Kaiser, 1959; lipases (Rothe, 1958; Acker et Beutler, 1965); phytase (Acker et Beutler, 1963).

A l'heure actuelle, il semble que l'on puisse dégager à partir de ces travaux un certain nombre de règles générales concernant le comportement des enzymes dans les milieux peu hydratés.

## CARACTÉRISATION DE L'ÉTAT DE L'EAU DANS LES MILIEUX PEU HYDRATÉS

Il n'a été possible de comprendre la relation entre l'humidité et le comportement des enzymes, qu'en tenant compte de l'affinité pour l'eau des composants du milieu.

Il est actuellement classique de relier, pour une température donnée, la teneur en eau d'un produit à l'humidité relative avec laquelle celui-ci est en équilibre. On obtient ainsi, avec des produits biologiques complexes, une courbe isotherme de sorption, d'allure sigmoïde (fig. 1). Cette humidité relative correspond à une température  $T$ , au rapport de la pression de vapeur d'eau en équilibre avec la substance, à la pression de vapeur saturante. Elle caractérise l'activité de l'eau dans le système, l'eau

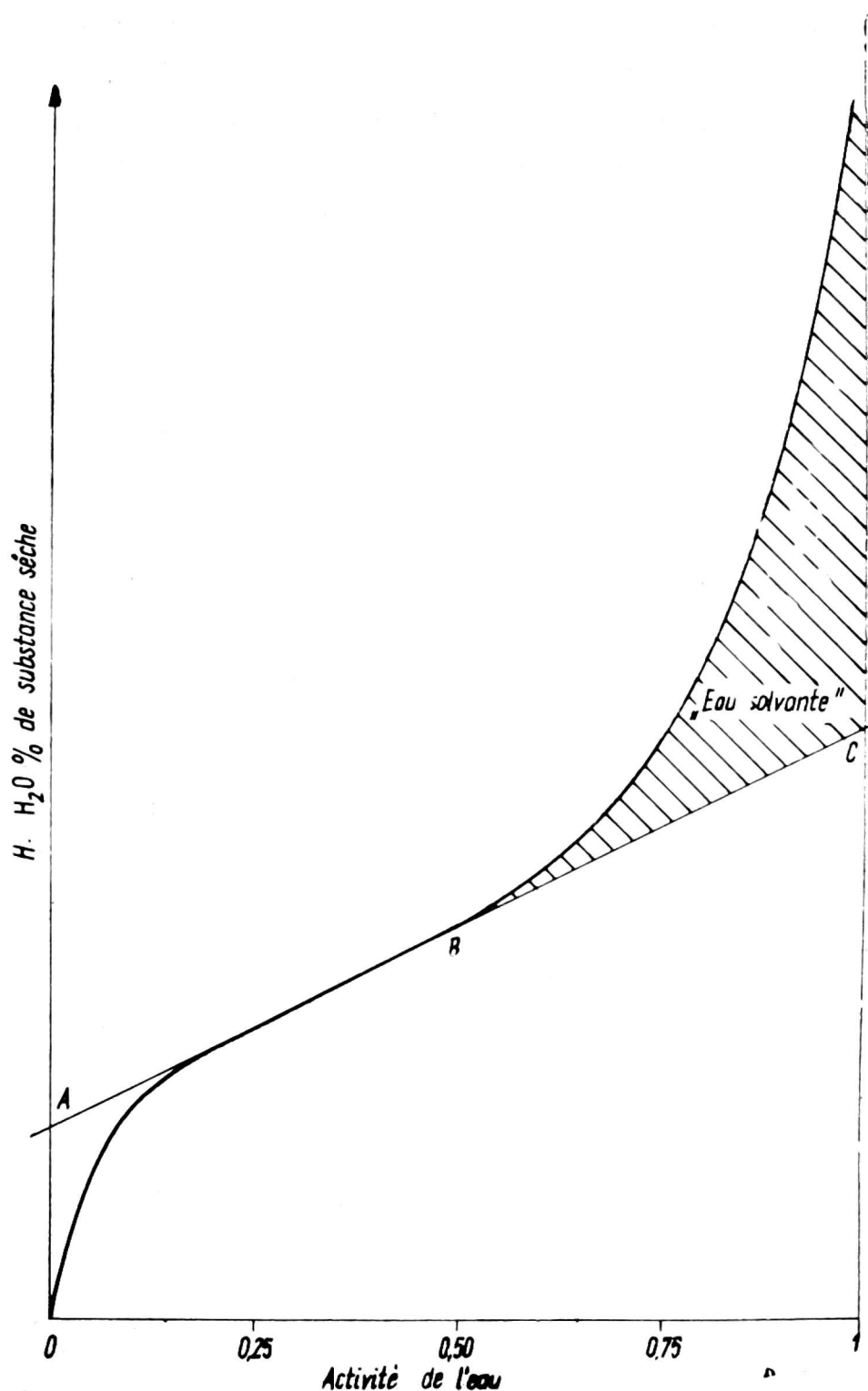


Fig. 1. Représentation schématique d'une courbe de sorption

- A — point correspondant à la quantité d'eau fortement fixée
- B — point d'apparition de l'eau „solvante”
- C — point correspondant à la quantité d'eau totale non „solvante”

libre ayant par définition un coefficient d'activité égal à l'équivalent à une humidité relative de 100 p. 100.

Comme l'ont fait remarquer Guilbot et Lindenberg (1960), les courbes de sorption présentent une partie linéaire, assimilable à la tangente au point d'inflexion, qui, extrapolée jusqu'à l'activité de l'eau nulle, définit

une fraction d'eau très fortement adsorbée à la surface des molécules par liaison avec des groupements polaires. Dans cette partie linéaire, on peut considérer en première approximation que, lorsque l'activité de l'eau croît, la substance „dissout” de l'eau en formant une solution solide obéissant à la loi de proportionnalité de Henry.

A partir d'une certaine activité de l'eau, variable suivant les produits, la courbe s'écarte de la droite; une nouvelle phase, aqueuse, apparaît et une quantité d'eau de plus en plus importante se fixe par des forces plus faibles, de nature capillaire ou osmotique.

En extrapolant la droite précédemment définie jusqu'à, l'activité 1, Guilbot et Lindenberg ont montré, dans cas de la levure, qu'il existe une concordance satisfaisante entre la quantité d'eau ainsi repérée, représentant la fraction d'eau fortement fixée à 100 g de matière sèche, et celle qui se comporte comme non solvante vis-à-vis des premiers termes des alcools aliphatiques (et de la molécule elle-même), déterminée par la mesure de la répartition, à l'équilibre de diffusion, des différents alcools hydrophiles (Lindenberg et Zuili, 1952).

Il est donc possible, en se basant sur cette hypothèse, de fixer l'activité de l'eau à partir de laquelle apparaît l'eau „solvante” et de déterminer la valeur de celle-ci par différence, pour une même humidité relative, entre la quantité d'eau fixée par le produit et celle repérée sur la partie linéaire extrapolée.

A partir de cette interprétation permettant de distinguer dans les courbes de sorption deux formes d'eau: eau non „solvante”, non accessible aux molécules d'eau elles-mêmes et eau „solvante”, susceptible d'assurer une plus grande mobilité des composants du milieu, il a été

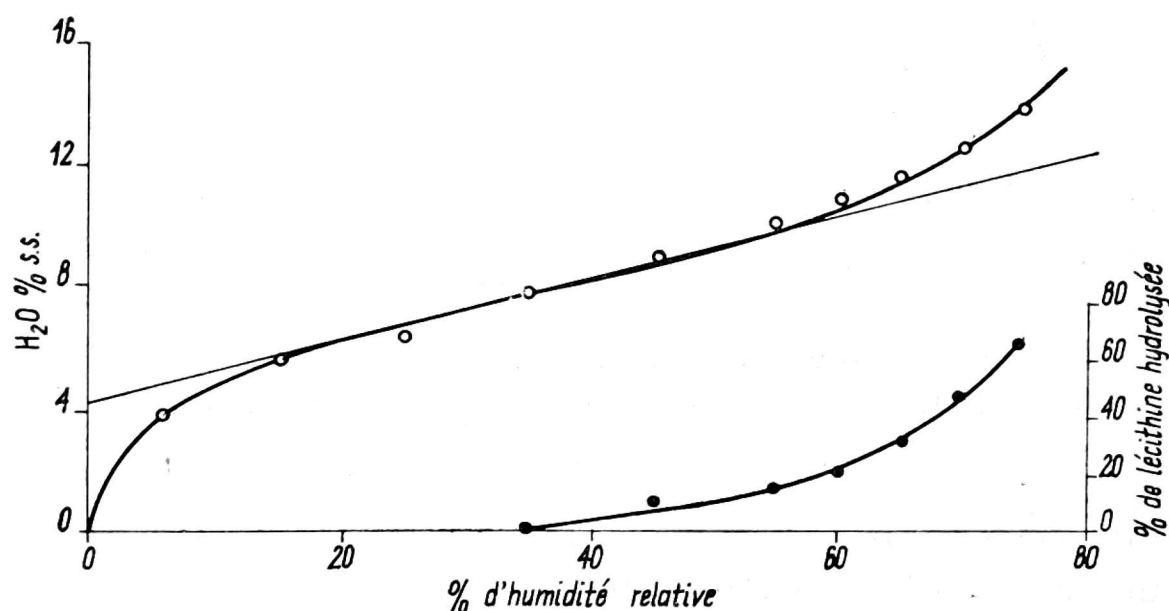


Fig. 2. Isotherme de sorption d'un mélange de farine de malt d'orge et de lécithine (—○—) et évolution de l'activité phospholipasique en fonction de l'humidité relative (—●—) (Acker et Luck 1958)



possible de caractériser le comportement des activités enzymatiques dans de tels milieux.

### DÉTERMINATION DU SEUIL DE L'ACTIVITÉ DE L'EAU NÉCESSAIRE AU DÉMARRAGE DES ACTIONS ENZYMATIQUES

On a pu montrer que la plupart des réactions enzymatiques nécessitent pour se manifester, une certaine quantité d'eau „solvante”. Ainsi, selon Acker et Luck (1958), la dégradation de la lécithine sous l'action des phospholipases se produit de façon notable au delà du point d'in-

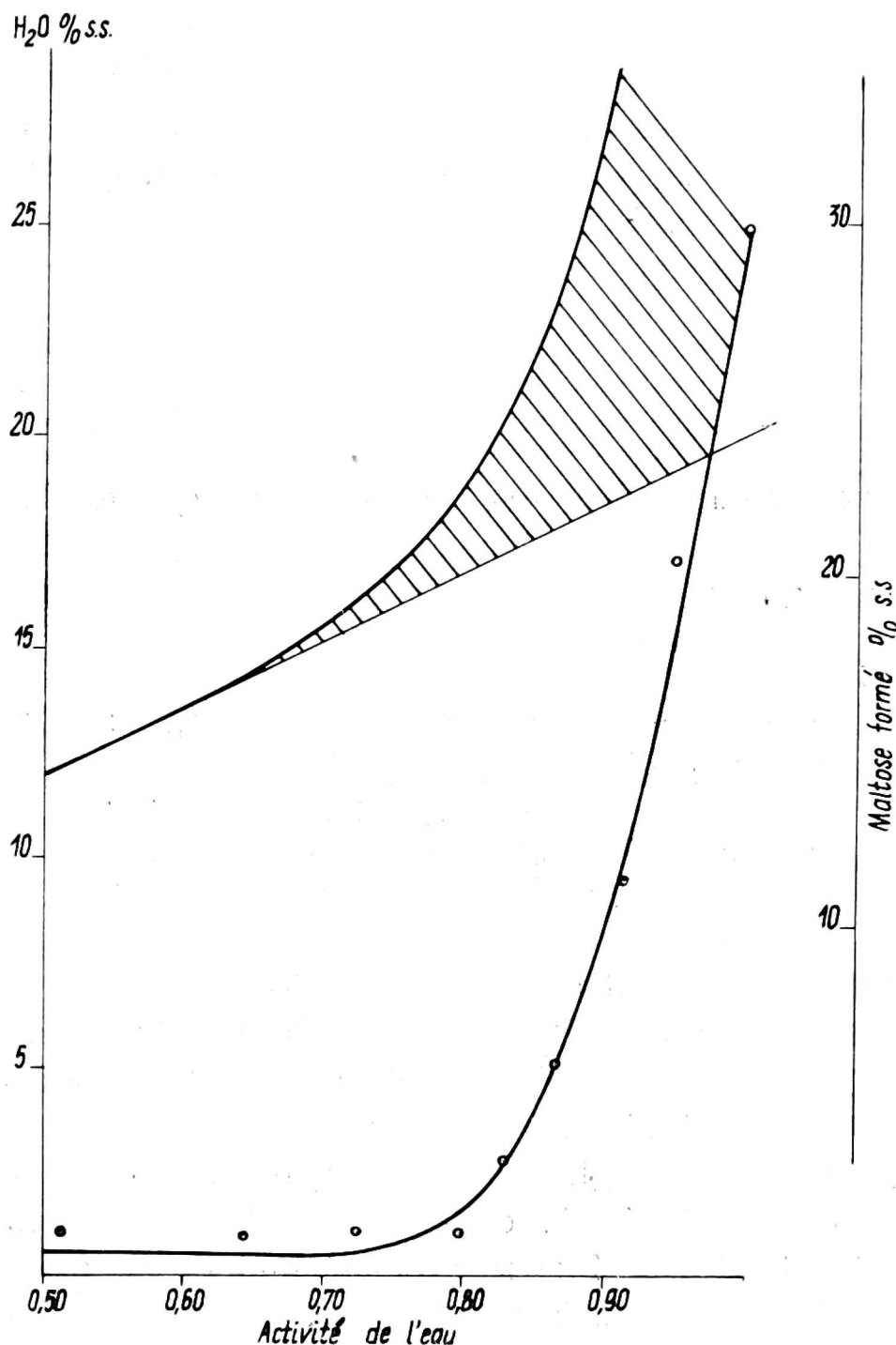


Fig. 3. Isotherme de sorption d'un mélange amidon —  
bêta amylase (courbe 1) et quantité de l'eau (Drapron  
et Guilbot 1962)

flexion de la courbe de sorption (fig. 2). De même, Drapron et Guilbot (1962) précisent que la bêta amylose se manifeste à partir du point où la courbe de sorption se sépare de la partie linéaire (fig. 3). Il convient d'insister sur le fait que, pour un type donné d'enzyme et de substrat, si l'on change l'activité de l'eau pour laquelle apparaît l'eau „solvante”, le démarrage de l'activité enzymatique se trouve de ce fait modifié. C'est ainsi que l'addition, au mélange réactionnel, de substances très hygroscopiques permettant l'apparition d'eau „solvante” aux basses humidités relatives, abaissent le seuil de démarrage de la réaction enzymatique à des activités de l'eau nettement plus faibles que celles déterminées avec les milieux sans addition.

Dans le cas de la bêta amylose, Drapron et Guilbot ont pu observer, de cette façon, la formation de maltose pour des activités de l'eau aussi faibles que 0,11 par addition de chlorure de lithium et 0,20 par addition de glycérol, alors que dans le mélange ne contenant que l'amidon et la bêta amylose cette formation ne s'observe que pour une activité de l'eau de l'ordre de 0,70 (tableau 1).

Tableau 1

Influence de divers cristaalloïdes sur le comportement de milieux  
amidon soluble — bêta amylose à diverses humidités relatives à 31°C

Activité de l'eau	0,11	0,20	0,35	0,40	0,52	0,57	0,73	0,85	0,92
Maltose formé, en % du mélange sec, amidon-bêta amylose									
1) milieu sans addition	0	0	0	0	0,7	0,7	3,0	13,4	17,5
2) avec addition de glycérol		0,6	1,8	11,2	22,2		35,5		
3) avec addition de BiCl	2,5								

Certains auteurs insistent sur le fait que le démarrage de la réaction enzymatique s'observe dans la partie de la courbe de sorption pour laquelle on fait généralement intervenir l'hypothèse d'une condensation de l'eau dans des capillaires. Nous pensons qu'il y a lieu d'envisager les phénomènes sous un angle plus général, ou qu'il conviendrait d'élargir la notion de „capillaires”, en considérant comme tels les espaces libres existant entre les chaînes macromoléculaires par exemple. En fait, quelle que soit la nature des forces mises en jeu pour la fixation de cette fraction d'eau, ce qui importe c'est qu'elle permette d'assurer une certaine mobilité de l'enzyme et de son substrat. Du reste on peut concevoir que la quantité d'eau „solvante” nécessaire à cet effet, puisse

être d'autant plus importante que les dimensions moléculaires des réactants apportent une plus grande gêne à leur diffusion. Ainsi pourraient s'expliquer les observations faites par Acker et Kaiser (1960) selon lesquelles la molécule de phosphate de phénolphtaléine est hydrolysée à une activité de l'eau plus élevée que celle du phosphate de monophenyl, sous l'action de la phosphatase du malt d'orge.

Par ailleurs, lorsque le substrat est liquide et peut de cette façon diffuser vers l'enzyme sans l'aide d'eau „solvante”, la réaction enzyma-

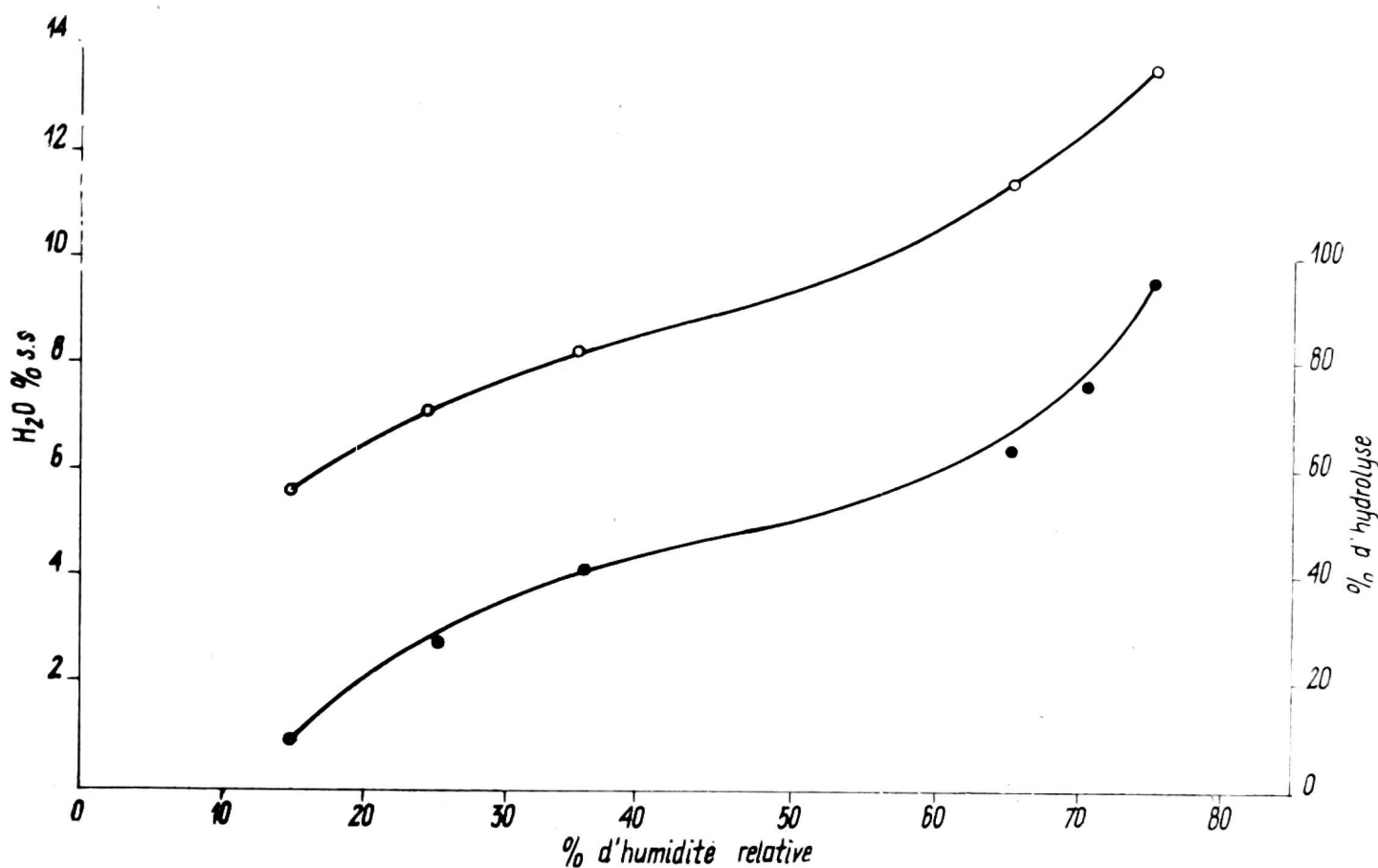


Fig. 4. Isotherme de sorption d'un mélange de farine d'avoine et de monocléate de glycérol (—○—) et évolution de l'activité lipasique (—●—) en fonction de l'humidité relative (Acker et Beutler 1965)

tique se manifeste à des activités de l'eau très faibles. C'est ainsi que Acker et Beutler (1965) ont montré que lorsque son substrat est liquide, la lipase peut agir pour des teneurs en eau bien inférieures à celle qui correspond au point d'inflexion de la courbe de sorption (fig. 4).

#### EVOLUTION DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES EN FONCTION DE L'ACTIVITÉ DE L'EAU

Au-dessus du seuil de démarrage de l'action enzymatique, la quantité de produits de dégradation formés s'accroît et tend vers une limite d'autant plus importante que l'activité de l'eau est élevée. La figure 5 illustre ce phénomène dans le cas de la bêta amylolyse. Indiquons toutefois que

les valeurs maximales ainsi obtenues, même pour une activité de l'eau voisine de 1, dans le produit mis en équilibre en atmosphère de vapeur d'eau saturante, restent toujours nettement inférieures à celles observées en solution.

Il existe une corrélation, apparemment indépendante de la température, entre cette valeur limite et la quantité d'eau „solvante” présente

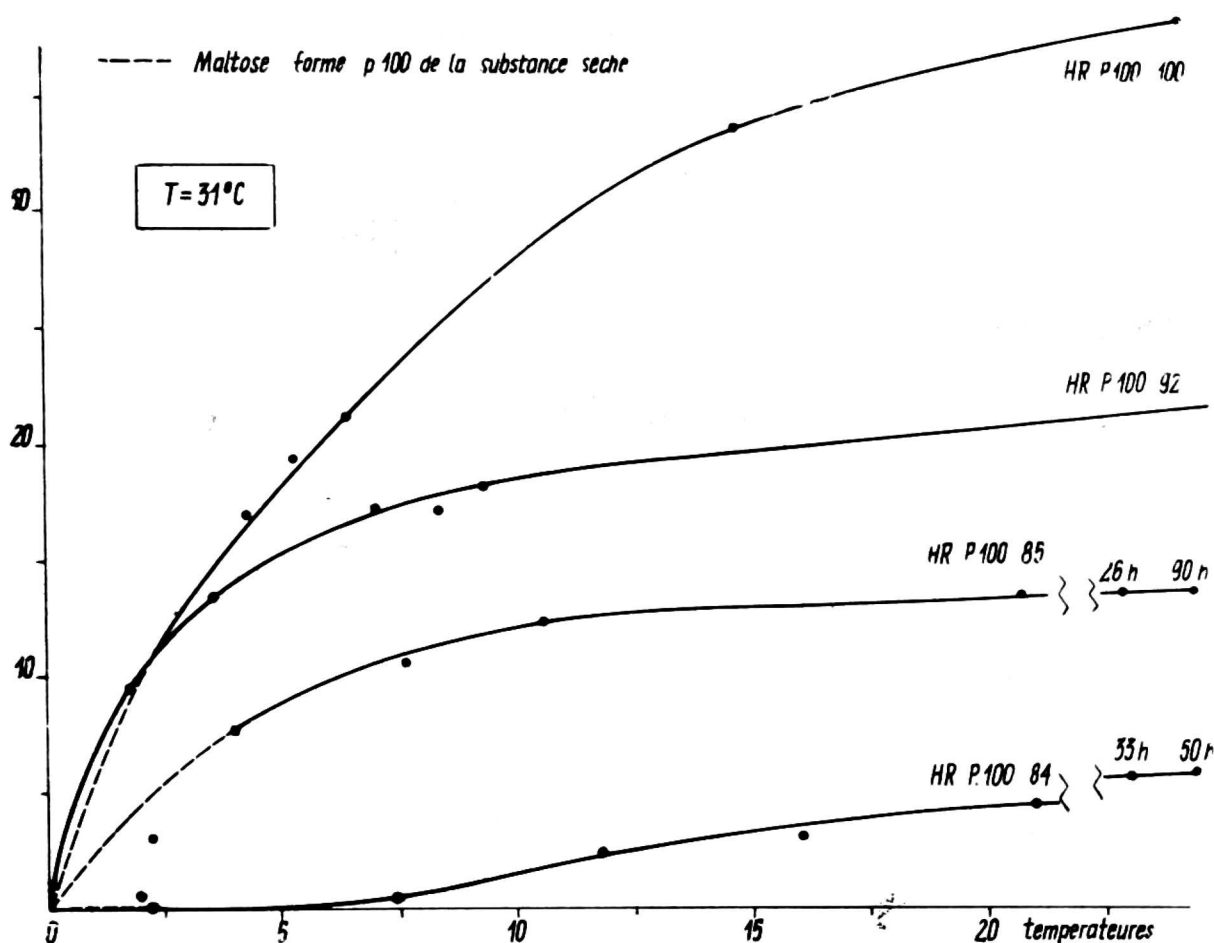


Fig. 5. Evolution en fonction du temps, de la teneur en maltose de mélanges amidon — bêta amylase placés à diverses activités de l'eau (Drapron et Guilbot 1962)

dans le milieu (fig. 6). Dans le cas de la bêta-amylolyse, nous avons montré que la teneur limite en maltose formé s'accroît rapidement pour les 10 premiers p. 100 d'eau „solvante”, l'évolution étant ensuite plus lente et sensiblement linéaire, au moins jusqu'à une quantité d'eau „solvante” voisine de 100 p. 100. Tout se passe comme si la quantité d'eau „solvante” nécessaire pour libérer le maltose s'accroissait au fur et à mesure de l'augmentation de la teneur en maltose du milieu.

Acker et coll. (1959, 1961, 1965) ont prouvé dans leurs études sur l'action des phospholipases, de la phosphatase et de la lipase, que cette limite de la réaction n'est pas due à une inhibition totale définitive de l'enzyme. Cependant, l'activité enzymatique peut subir au cours du stockage des mélanges modèles à différentes humidités relatives, une

destruction partielle comme Drapron et Guilbot l'ont observé dans le cas de la bêta amylase par exemple.

La limitation de la dégradation a été interprétée par Drapron et Guilbot en supposant une réaction topochimique; aux points de contact de l'enzyme avec le substrat il se produirait, en raison de la rigidité du milieu, un accroissement local de la concentration en produits de la réaction pouvant amener l'inhibition momentanée de l'enzyme et une di-

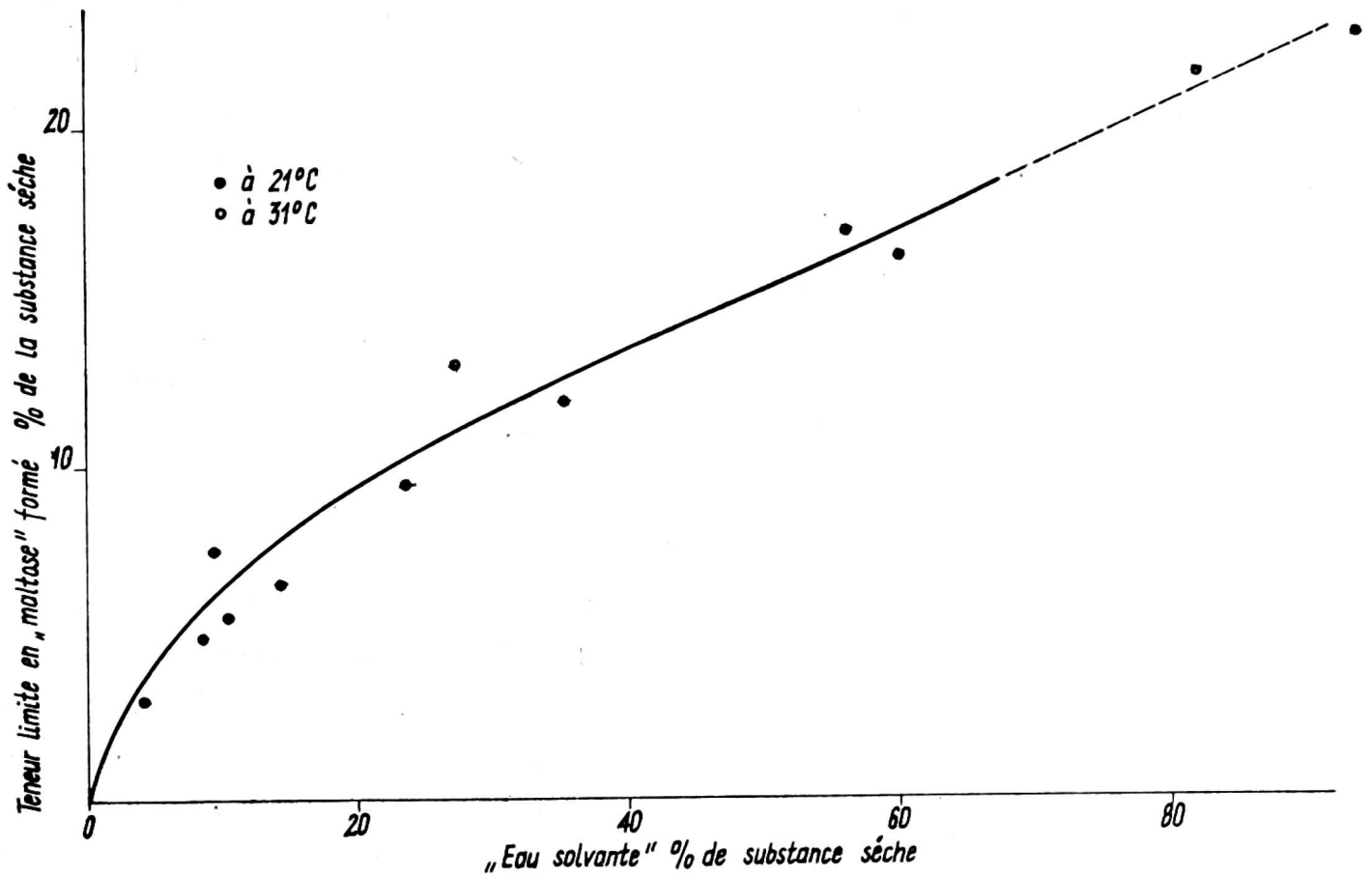


Fig. 6. Teneur limite en maltose formé, en fonction de la teneur en eau „solvante“ du milieu, à 21 et 31 °C (Drapron et Guilbot 1962)

minution de la disponibilité de l'eau, l'enzyme n'ayant par rapport au substrat que des possibilités de déplacement très limitées.

Cette hypothèse est étayée par les faits suivants constatés dans le cas de l'amylolyse:

1. L'addition préalable au mélange bêta amylase — substrat d'une quantité de maltose égale à celle représentant la valeur limite d'hydrolyse pour une activité de l'eau déterminée, n'empêche pas l'action de l'enzyme et la formation de maltose à une teneur correspondant à cette activité de l'eau. Si donc le maltose bloque la réaction, c'est par le fait qu'il peut atteindre localement des concentrations beaucoup plus élevées.



2. La modification, par broyage, de la texture d'un milieu ayant atteint l'équilibre d'amylolyse, permet pour une même activité de l'eau une nouvelle formation de maltose, vraisemblablement par suite d'une nouvelle répartition de la bêta amylase par rapport au substrat.

3. Le schéma de l'alpha-amylolyse en milieu peu hydraté est sensiblement différent de celui observé en solution. En milieu peu hydraté les sucres libérés sont, initialement, du glucose, du maltose et du maltotriose, alors que dans le second cas, on a surtout, d'abord apparition d'oligoholosides à chaînes relativement longues, la quantité de glucose formé au début étant pratiquement négligeable. Cette évolution particulière aux faibles hydratations peut être considérée comme témoignant d'une attaque enzymatique localisée dans une zone restreinte située à la partie extérieure des chaînes, en raison de la rigidité du milieu.

#### INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR L'ÉVOLUTION DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES DANS LES MILIEUX PEU HYDRATÉS

C'est un fait connu déjà depuis longtemps, que plus la teneur en eau d'un produit est faible, plus les enzymes qu'il contient résistent à l'inactivation thermique, toutes autres conditions égales par ailleurs.

Cependant, on a encore peu de précisions sur l'aspect quantitatif du phénomène. Dans le cas de la lipase du seigle, Rothe (1958) a montré que l'inactivation commence à se manifester respectivement à 60, et 30°C pour des teneurs en eau du milieu de 10, 17 et 22 p. 100. De plus il a pu observer que la température optimale d'action de la lipase de seigle varie très fortement en fonction de l'hydratation du milieu: de l'ordre de 36 à 38° C en solution aqueuse, elle passe respectivement à 60, 70 et 75—90°C pour des teneurs en eau de 20, 15 et 6 p. 100. Il serait intéressant de pouvoir traduire ces résultats en fonction de l'activité de l'eau du milieu.

Dans le cas de la bêta amylolyse, les travaux que nous avons poursuivis à 20 et à 30°C indiquent que l'activité de l'eau à laquelle s'effectue la réaction est plus faible à 20°C qu'à 30°C, bien que la quantité d'eau solvante soit sensiblement la même, la mobilité des constituants du milieu s'accroissant avec la température ainsi qu'en témoigne l'augmentation de la tension de vapeur d'eau.

La vitesse initiale d'amylolyse, dans ces conditions, présenterait un  $Q_{10}$  de l'ordre de 2,5 comme en milieu aqueux.

Ces résultats restent très fragmentaires et il serait souhaitable que des recherches soient entreprises avec d'autres enzymes et pour des conditions plus variées, dans la mesure où les difficultés expérimentales pourraient être surmontées.

En conclusion, il apparaît que les réactions enzymatiques dans les milieux peu hydratés évoluent en général selon des lois très différentes de celles qui ont été établies en solutions ou en dispersions aqueuses. Ainsi que l'a souligné Acker, ceci pourrait justifier une „chimie enzymatique de l'état solide”.

Les quelques travaux qui ont été effectués sur des mélanges synthétiques modèles ont permis de dégager un certain nombre de faits généraux. Ils montrent en particulier le rôle prépondérant de l'eau sur l'évolution de ces réactions et la possibilité de prévoir cette évolution à partir des isothermes de sorption. Il faut cependant souligner la nécessité d'entreprendre de nouvelles recherches pour confirmer ces premières observations et les hypothèses qui en découlent, les généraliser à des enzymes autres que les hydrolases et les étendre en toute sécurité aux milieux naturels.

#### LITTÉRATURE

1. L. Acker: *Advances in Food Research*. Academic Press. 1962 (11) 263—330
2. L. Acker, F. Luck: *Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch.* 1958, **108**, 256
3. L. Acker, H. Kaiser: *Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch.* 1959, **110**, 349
4. L. Acker, H. Kaiser: *Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch.* 1960, **115**, 201
5. L. Acker, H. O. Beutler: *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft Suppl.* 1963 (3) 1—5
6. L. Acker, H. O. Beutler: *Getreide und Mehl* 1965, **15** (1) 4—6
7. R. Drapron, A. Guilbot: *Ann. Technol. Agric.* 1962, **11** (3) 175—218; **11** (4) 275—317
8. A. Guilbot, A. B. Lindenberg: *Biochim. Biophys. Acta* 1960, **39**, 389—397
9. F. Kiermeier, E. Coduro: *Biochem. Z. Dtsch.* 1954, **325**, 280—287
10. A. B. Lindenberg, S. Zuili: *Acad. Sci., Paris* 1952, **134**, 2573
11. M. F. Mashkoucev, G. P. Volgunov, M. T. Pokhno: *Biokhimija, SSSR* 1951, **16** (1) 24—28
12. M. Rothe: *Ernährungsforsch.* 1958 (3) 41—51
15. G. P. Volgunov: *Biokhimija* 1948, **13**, 104—108.
14. G. P. Volgunov, M. T. Pokhno: *Biokhimija* 1949, **14**, 305.

## Streszczenie

EWOLUCJA REAKCJI ENZYMATYCZNYCH W ŚRODOWISKU  
SŁABO UWODNIONYM

A. GUILBOT, R. DRAPRON (MASSY)

Po przypomnieniu obserwacji poczynionych na temat niektórych przejawów aktywności enzymatycznej w środkach żywności o niskiej zawartości wody, autorzy przedstawiają prace wykonane w celu sprecyzowania ewolucji i mechanizmu działania enzymów w takich środowiskach.

Wyniki uzyskane na podstawie badania półsyntetycznych mieszanin modelowych pozwoliły wykazać przytłaczające znaczenie wody w środowisku. Jeżeli substrat nie jest ciekły, to okazuje się, że rozpoczęcie działania enzymów wymaga obecności pewnego minimum wody „rozpuszczającej”, które przynajmniej lokalnie jest w stanie ruchliwości reagentów. Każdej ilości wody „rozpuszczającej” obecnej w środowisku, odpowiada pewna granica reakcji enzymatycznej, a to ze względu na jej charakter topochemiczny w tych warunkach. Granica ta jest tym wyższa, im większa jest aktywność wody.

Autorzy przytaczają kilka danych na temat zależności między stanem wody i wpływem temperatury na aktywność enzymatyczną w środowiskach żywności o niskiej zawartości wody.

## Résumé

ÉVOLUTION DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES EN MILIEU  
PEU HYDRATÉ

A. GUILBOT ET R. DRAPRON (MASSY)

Après avoir rappelé les observations effectuées sur la manifestation de certaines activités enzymatiques dans les produits alimentaires peu hydratés, les auteurs exposent les travaux réalisés dans le but de préciser l'évolution et le mécanisme de l'action des enzymes dans de tels milieux.

Les résultats obtenus à partir de mélanges modèles semi-synthétiques ont permis d'établir l'influence prépondérante de l'activité de l'eau dans le milieu.

Tant que le substrat n'est pas liquide, il apparaît que le démarrage de l'activité enzymatique nécessite la présence d'un minimum d'eau „solvante” susceptible d'assurer, au moins localement, la mobilité des réactants.

A chaque valeur de la quantité d'eau „solvante”, présente dans un milieu, correspond une limite de la réaction enzymatique, en raison du caractère topochi-

mique de celle-ci dans ces conditions. La valeur de cette limite est d'autant plus élevée que l'activité de l'eau est plus grande.

Quelques indications sont fournies sur les relations existant entre l'état de l'eau et l'effet de la température sur l'activité enzymatique dans les produits alimentaires peu hydratés.

### S u m m a r y

## THE EVOLUTION OF ENZYMIC REACTIONS IN LITTLE HYDRATED MEDIA

A. GUILBOT, R. DRAPRON (MASSY)

After having recalled some observations of the way some enzymic activities manifest themselves in little hydrated nutritive media, the authors give an account of the work effected in order to ascertain the evolution and the mechanism of the activity of enzymes in such media. The results obtained from model semi-synthetic mixes have enabled us to establish the main importance of water activity in the medium. So long as the substrate is not liquid, it seems that the start of the enzymic activity requires the presence of a minimum quantity of „solvent” water, that may ensure, at least locally, the mobility of the reactants. To each value of „solvent” water quantity present in a medium corresponds a limit of the enzymic reaction, due its topochemical characteristic in these conditions. The value of this limit increases along with the increase of the activity of the water. Some information is given on the relations between the state of the water and the effect of temperature on the enzyme activity in little hydrated food products.

### Z u s a m m e n f a s s u n g

## ENTWICKLUNG DER ENZYMATISCHEN REAKTIONEN IN MILIEUS MIT GERINGEM WASSERGEHALT

A. GUILBOT, R. DRAPRON (MASSY)

Die Beobachtungen über das Auftreten gewisser enzymatischer Aktivitäten in wenig Wasser enthaltenden Lebensmitteln und die von den Verfassern realisierten Arbeiten zwecks Präzisierung der Tendenzen und der Bildungsmechanismen der Enzyme in derartigem Milieu werden geschildert. Die mit halbsynthetischen Mo-

dellmischungen erzielten Ergebnisse ermöglichten den überwiegenden Einfluss der Aktivität des Wassers im Milieu festzustellen. Solange das Substrat nicht flüssig ist, scheint es, dass Einsetzen der enzymatischen Aktivität eine minimale Menge von „Lösungswasser“ voraussetzt, welche in der Lage ist, die Beweglichkeit der Reagenzien zu sichern. Jeder Menge an „Lösungswasser“ in einem bestimmten Milieu entspricht ein enzymatisches Reaktionsniveau infolge ihrer topochemischen Eigenschaft unter den betreffenden Bedingungen. Die Niveauhöhe nimmt mit zunehmender Aktivität des Wassers zu. Es werden Angaben über die Zusammenhänge zwischen dem hydrolitischen Zustand und der Temperatur auf die enzymatische Aktivität in Lebensmitteln mit geringem Wassergehalt angeführt.

### Резюме

## ЭВОЛЮЦИЯ ЭНЗИМАТИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ В СЛАБО УВЛАЖНЕННОЙ СРЕДЕ

А. ГИЛЬБОТ, Р. ДРАПРОН (МАССИ)

Авторы напомнили о наблюдениях в области признаков enzymатической активности в пищевых продуктах с небольшим содержанием воды, а затем представили работы, выполненные для определения эволюции и механизма действия энзимов в таких средах.

Результаты, полученные на основе исследования полусинтетических модельных смесей, позволили доказать огромное значение наличия воды в среде. Если субстрат не является жидкостью, то оказывается, что для того, чтобы энзимы начали оказывать воздействие, необходимо наличие некоторого минимального количества воды (растворяющей), которое в состоянии возбудить по крайней мере местное движение реагентов. Каждому количеству „растворяющей“ воды в среде соответствует некоторое предельное значение enzymатической реакции в связи с ее топахимическим характером в этих условиях. Это предельное значение повышается по мере увеличения активности воды.

Авторы приводят несколько данных на тему зависимости между состоянием воды и влиянием температуры на enzymатическую активность в пищевых продуктах с небольшим содержанием воды.