

## **Лабораторне заняття № 8 .**

### **ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ.**

При вивченні теми необхідно знати структуру, властивості ферментів і умови, що необхідні для їх дії, механізм ферментативного каталізу.

Ферменти - біологічні каталізатори білкової природи. Каталітичні властивості ферментів пов'язані із здатністю прискорювати протікання реакції в організмі внаслідок зниження енергетичного бар'єру реагуючих речовин. Тому реакції, які за відсутності ферментів потребують значного підвищення температури, при наявності їх протікають в умовах температури тіла. За своєю хімічною природою ферменти є простими або складними білками. Складні білки складаються з білкової частини (апоферменту) і низькомолекулярного компоненту (протетична група або кофермент).

Як білкові речовини ферменти термолабільні і втрачають активність при тих температурах, при яких відбувається денатурація білка (вище 50° С).

Для кожного фермента існує оптимальна ділянка значень рН, в якій він найактивніший.

Важливою властивістю ферментів є також специфічність дії, тобто здатність каталізувати строго визначені реакції.

Дія ферментів може підсилюватися речовинами, які називаються активаторами (солі, іони деяких металів та ін.); протилежну, гальмуючу, дію виявляють на ферменти інгібітори або паралізатори.

Ферменти поділяються на 6 головних класів. Назва класу відображає тип реакції, що каталізується ферментом.

#### **Контрольні запитання.**

1. Ферменти як біологічні каталізатори.
2. Структура ферментів.
3. Механізм ферментативного каталізу. Активний центр ферменту.
4. Специфічність фермента та його види.
5. Оптимальні умови дії ферменту.
6. Активатори і паралізатори ферментів.
7. Класифікація і номенклатура ферментів.
8. Коферменте. Ізоферменти

#### **Завдання для самостійної підготовки:**

- і. Чи може бути однаковий каталітичний центр у різних ферментів?
2. Як називається ділянка молекули фермента, що безпосередньо каталізує ферментативну реакцію?

3. Чи відомі ферменти небілкової природи?
4. Назвіть відомі вам ферменти - прості білки.
5. Назвіть відомі вам ферменти - складні білки.
6. Що називається простегичною групою білка-фермента?
7. Чому виникає комплекс "фермент-субстрат"?
8. У чому суть впливу фермента на субстрат?
9. У чому суть впливу субстрату на фермент?
10. Чи повинен фермент просторово відповідати субстрату?
11. Чи залежить специфічне сполучення субстрату і фермента від всієї молекули ферменту чи тільки від її частини?
12. Що таке каталітичний центр ферменту?
13. Як забезпечується вибіркоче сполучення субстрату і ферменту?
14. Чим відрізняється дія ферментів від дії неорганічних каталізаторів?
15. Яка ділянка молекули фермента називається активним центром?
16. У чому виражена специфічність дії фермента?
17. Яка ділянка молекули фермента зумовлює його специфічне сполучення із субстратом?
18. Чим пояснюється специфічність ферменту по відношенню до його субстрату<sup>9</sup>
19. Назвіть фактори, що впливають на швидкість ферментативного каталізу.
20. Що таке термолабільність фермента?
21. Як залежить активність фермента від температури?
22. Чи залежить активність ферментів від рН середовища? Чому?
23. До якої групи інгібіторів відносяться солі важких металів?
24. Які речовини називаються неспецифічними інгібіторами ферментів?
25. Що таке кофермент?
26. Ізоферменти. їх біологічна роль.

**Рекомендована література:**

1. Биохимия. Підручник для інститутів фізичної культури під ред. В.В.Меньшикова. М., ФиС, 1986. С. 88-102.
2. Биохимия. Підручник для інститутів фізичної культури під ред. ММ.Яковлева. М., ФиС, 1986. С. 70-83.
3. Яковлев И.Н., Орещенко Н.И., Чаговец Н.Р. Руководство к практическим занятиям пообщей биохимии и биохимии спорта. М., ФиС, 1973. С.41-49.
4. Березов Г.Г., Коровкин Г.Ф. Биологическая химия. М., Медицина, 1983. С. 114-168.
5. Савицький І.В. Біологічна хімія. Київ, Вища школа, 1982. С.256-297.
6. Ермолаев М.В. Биологическая химия. М, Медицина, 1983. С.92-114.

7. Василенко Ю.К. Биологическая химия. М., Высшая школа, 1978. С.96-125.
8. Збарский Б.И., Иванов И.И., Мардышев С.Р. Биологическая химия. М., Медицина 1972 СІ 16-149, 525.
9. Добрынина В.И. Биологическая химия. М, Медицина, 1976, С. 106-149.
10. Ленинджер А. Биохимия. М., Мир, 1974. С. 174-219.
11. Боєчко Ф.Ф. Біологічна хімія. Київ, Вища школа, 1989.

Наочні посібники: Таблиці:

1. Схема утворення і розпаду комплексу фермент-субстрат.
2. Крива залежності активності фермента від рН середовища.
3. Зміна ферментативної активності під впливом температури середовища.
4. Схема ферментативного каталізу.
5. Зниження енергії активації при дії каталізатора. Реактиви:
6. Крохмаль: 0,2%, 0,5% і 1% розчини.
7. Реактив Люголя.
8. Соляна кислота, 1 и розчин.
9. Натрій хлористий, 1% розчин.
10. Мідь сірчанооксида, 1% розчин.
11. Вода дистильована.

Обладнання:

1. Пробірки звичайні.
2. Піпетки на 1,5 і 10 мл.
3. Водяна баня.
4. Термостат.
5. Холодильник.
6. Скляні пластинки.
7. Скляні палички.
8. Олівець для скла.

## **ХІД РОБОТИ.**

### I. Вплив температури на активність ферментів.

У 4 пронумеровані пробірки наливають по 5 мл 1%-ного розчину крохмалю. Першу пробірку поміщають у киплячу водяну баню, другу пробірку - у термостат при температурі 40<sup>o</sup> С, третю пробірку залишають при кімнатній температурі, і четверту пробірку ставлять у лід. Через 10-15 хв. у всі пробірки, залишаючи їх при тих же умовах, додають по 1 мл слини, розведеної у 10 раз, і перемішують скляною паличкою. За гідролізом крохмалю слідкують по реакції з йодом. Для цього на скляну пластинку

наносять декілька крапель реактиву Люголя і перемішують їх з крапельками суміші, які беруть з кожної пробірки через 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 хвилин. За зміною забарвлення розчину крохмалю з йодом роблять висновки про гідроліз, що відбувся у кожній пробірці.

Ферменти дуже чутливі до температури. При нагріванні до 60° - 80° С вони втрачають свої властивості біологічних каталізаторів. При низькій температурі, наприклад, при 0° С, швидкість ферментативного каталізу різко знижується, досягаючи дуже малих величин. Забарвлення розчину крохмалю з йодом у синій колір зберігається тим довше, чим нижча температура або інактивований фермент.

Гідроліз крохмалю під дією ферментів слини відбувається за схемою:

1) Крохмаль + НгО \_\_\_\_\_ ^ декстрини \_\_\_\_\_ ^ мальтоза  
(синій) амілаза (фіолетовий) (бурий, червоний)

З розчином Люголя

2) Мальтоза + НгО \_\_\_\_\_ ^ Глюкоза  
(+I2 - бурий, рожевий) Мальтаза (+I2 - жовтий)

2. Віщів^Іна^ажиж

У дві пробірки наливають по 0,5 мл 0,2% розчину крохмалю. У першу пробірку додають 1 мл 1н розчину соляної кислоти і в обидві - по 1 мл слини. Перемішують. Залишають на 20 хвилин. А потім в обидві пробірки додають по 5 крапель розчину Люголя і перемішують. Спостерігають зміну забарвлення.

Для прояву максимальної каталітичної активності ферментів вимагаються визначені умови, в тому числі оптимальна концентрація водневих іонів. У пробірці, де концентрація водневих іонів буде оптимальною, відбудеться повний гідроліз крохмалю.

3- Влдив\_ажимтЩіШЖ^

У три пробірки наливають: у першу - 5 мл води, у другу - 4 мл води і 1 мл 1% розчину хлористого натрію, у третю - 4 мл води і 1 мл 1% розчину сірчанокислої міді. У всі три пробірки доливають по 5 мл 0,5% розчину крохмалю і 1 мл слини, перемішують і залишають при кімнатній температурі на 5 хвилин. Потім у три пробірки, що містять по 1 мл води і 5 крапель розчину Люголя, додають по 2 мл вмісту кожної пробірки досліду. Спостерігають зміну забарвлення.

За один і той же час в першій пробірці відбудеться розщеплення крохмалю лише до декстринів, у другій - повний гідроліз, а в третій виявиться нерозщеплений крохмаль.

Хлористий натрій - специфічний активатор амілази (іони Ка і СГ). сірчанокисла мідь має гальмуючий вплив на активність фермента амілази (Сіл<sup>н</sup>).

