

«Секреты активности ферментов»



**Исполнитель:
Шуйская Дарья
ученица 10-1 класса**

**Научный руководитель:
к.б.н. Лисицына А.А.**



Цель:

Изучить отличия ферментов от неорганических катализаторов и условия, влияющие на активность ферментов.

Задачи:

- Изучить реакцию ферментативного гидролиза крахмала.
- Сравнить эффективность гидролиза крахмала под действием неорганического катализатора и при действии фермента амилазы слюны.
- Определить субстратную специфичность слюной амилазы.
- Исследовать диапазон действия pH для амилазы.
- Изучить температурный диапазон слюной амилазы.
- Изучить влияние ингибиторов и активаторов на активность амилазы.



Использование ферментов

- для количественного определения и получения различных веществ;
- для модификации молекул нуклеиновых кислот методами генной инженерии;
- для диагностики и лечения ряда заболеваний;
- используют в ряде технологических процессов в промышленности (лёгкой; пищевой; фармацевтической);
- для решения экологических проблем, биотехнологии, микробиологии.





Амилаза (от лат. *amylum* - крахмал) - фермент класса гидролаз, секретируется слюнными железами и поджелудочной железой.

- H_2O
- Крахмал \rightarrow амилодекстрины \rightarrow эритродекстрины \rightarrow
- $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_x$ $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_y$ $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_z$
-
- H_2O H_2O H_2O
- ахродекстрины \rightarrow мальтодекстрины \rightarrow мальтоза \rightarrow глюкоза.
- $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_m$ $x/2 \text{ C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ $x \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$





Качественная реакция на крахмал - проба с йодом

Вещество	n	Окрашивание с йодом
Крахмал	Больше 39	Синее
Амилоза	39-46	Сине-фиолетовое
Амилодекстрины	39-46	Фиолетовое
Эритродекстрины	25-29	Красное
Мальтодекстрины	Менее 20	Окраски не образуют
Мальтоза	2	Окраски не образует
Глюкоза	1	Окраски не образует



Качественная реакция на восстанавливающие сахара – реакция Фелинга.

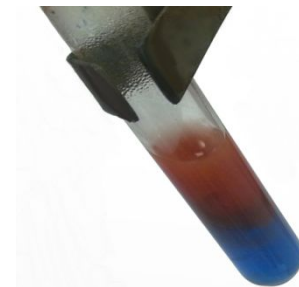
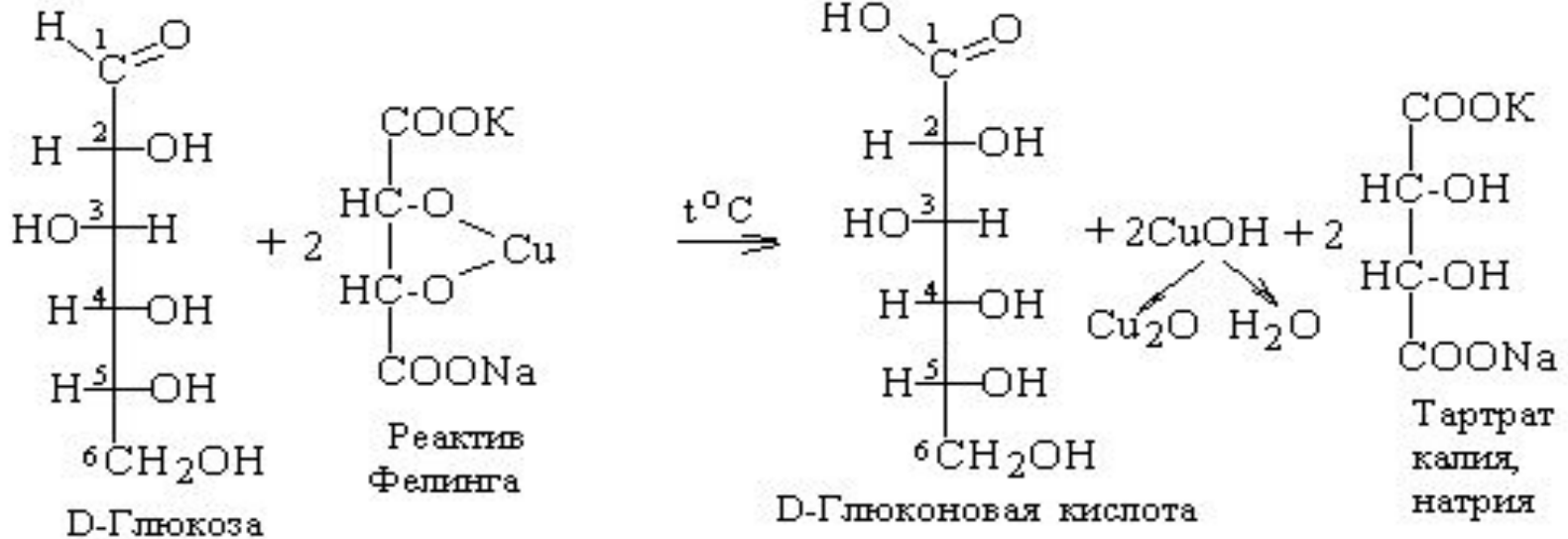


Рисунок №1



Сравнительное действие неорганических катализаторов и ферментов.

№ пр.	Субстрат	Катализатор	После нагревания	
			проба с йодом (цвет раствора)	реакция Фелинга (+ или -)
1	крахмал	-	Синий	-
2	крахмал	Соляная кислота	Фиолетовый	-
3	крахмал	Амилаза слюны	Желто - коричневый	+

Вывод: Фермент расщепляет субстрат (крахмал) лучше, чем неорганические соединения. Эффективность ферментативного катализа гораздо выше, чем неорганического.



Определение специфичности амилазы.

№ пр.	Субстрат	Фермент	Реакция Фелинга
			+ или -
1	крахмал	амилаза	+
2	сахароза	амилаза	-

Вывод:

Амилаза обладает избирательностью к субстрату, т.е. специфичностью.



Влияние pH на активность амилазы слюны.

№ пр.	NaH_2PO_4	Na_2HPO_4	pH	р-р крахмала	р-р слюны	полученная окраска йодом
1	2,0	-	5,6	1	1	Темно-синий
2	1,8	0,2	6,0	1	1	Темно-фиолетовый
3	1,4	0,6	6,4	1	1	Фиолетово-красный
4	1,0	1,0	6,8	1	1	Желто-коричневый
5	0,6	1,4	7,2	1	1	Фиолетовый
6	0,2	1,8	7,6	1	1	Сине-фиолетовый
7	-	2,0	8,0	1	1	Темно-синий



Вывод: Для каждого фермента существует определенное значение реакции среды, при которой он проявляет наивысшую активность. Изменения pH вызывают снижение или полное торможение деятельности фермента. Мы можем наблюдать то, что оптимальным показателем pH для действия амилазы - 6,8. Также он может действовать при показателях 6,4 и 7,2, но при показателях выше 7,2 или ниже 6,4 его работа практически останавливается.

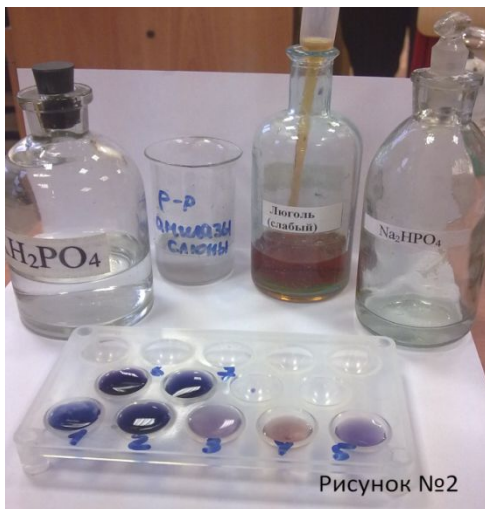


Рисунок №2

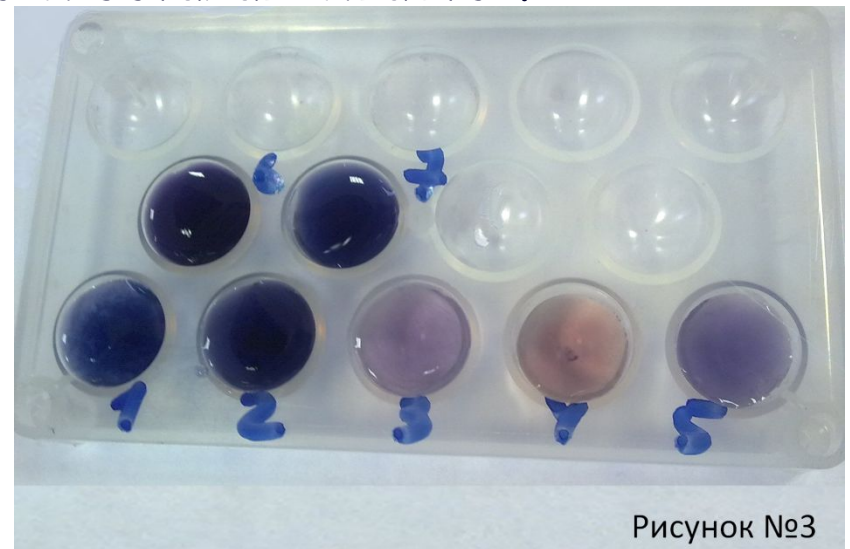


Рисунок №3



Влияние температуры на активность амилазы.

№ пр.	Температура инкубации, °С	Окрашивание йодом
1	0	Синий
2	40	Желто-коричневый
3	20	Красный
4	100	Синий

Вывод: Ферменты чувствительны

к температуре и проявляют свою наивысшую активность при оптимальном ее значении.

Для амилазы слюны температурный оптимум 40 °С.



Рисунок №5



Влияние различных ионов на активность амилазы.

№ пр.	Фермент	Субстрат	Ионы электролитов	Окраска растворов после добавления раствора йода
1	Амилаза	Крахмал	-	Фиолетовый
2	Амилаза	Крахмал	NaCl	Желтый
3	Амилаза	Крахмал	CuSO ₄	Темно-синий





NaCl - активатор для амилазы слюны. Теперь становится понятным, почему добавление соли в пищу - кулинарный прием, который не только улучшает вкусовые качества пищи, но и способствует перевариванию сложных углеводов в ротовой полости.

Сульфат меди - ингибитор для амилазы слюны. Ионы меди образуют ковалентные связи с аминокислотными радикалами (цистеин), вызывая необратимую денатурацию фермента.



Выводы

- Ферменты обладают более высокой эффективностью каталитического действия, чем неорганические катализаторы.
- Для ферментов характерна высокая избирательность к субстрату (специфичность). Амилаза слюны легко расщепляет крахмал, но не гидролизует сахарозу.
- Ферменты чувствительны к температуре. Температурный оптимум для амилазы 38-40 °С.
- Ферменты очень чувствительны к изменению диапазона pH.
Для амилазы слюны оптимум pH = 6,8.
- На активность ферментов влияют ингибиторы и активаторы. Для амилазы слюны активатором является хлорид натрия, а ингибитором сульфат меди.