

Дәріс 1

Белок құрамы, аминқышқылдары, физика-химиялық қасиеттері және жіктелуі

Дәрістің жоспары:

1. Белок құрамы
2. Аминқышқылдары, жіктелуі
3. Полипептидтер арасындағы байланыстар
4. Белок молекуласының құрылымы
5. Физика-химиялық қасиеттері
6. Қарапайым және күрделі белоктар

Дәрістің мақсаты:

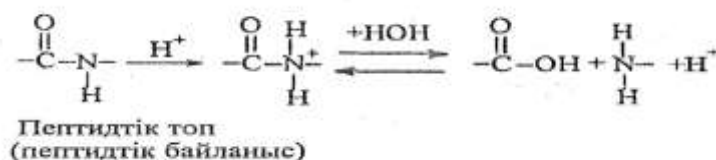
Студенттерге белоктардың (ақуыздардың) химиялық құрамы, аминқышқылдарының құрылысы мен жіктелуі, белок молекуласының құрылымдық деңгейлері және олардың биологиялық маңызы туралы теориялық білім беру. Белоктардың құрылымы мен қасиеттерін, сондай-ақ олардың тірі организмдегі атқаратын қызметтерін түсіндіру арқылы студенттердің биохимиялық үдерістерді терең ұғынуына мүмкіндік жасау.

Қышқылдың немесе ферменттің көмегімен гидролиз жасаған кезде белоктардың амин қышқылдарына ажырап, бөлшектенетіні анықталған. Амин қышқылдары дегеніміз әр түрлі белоктардың молекулаларын түзетін мономерлі жеке заттар. Табиғатта 400-ден астам амин қышқылдары белгілі. Олардың 20-сы ғана белок құрамына кіреді.

А.қ. – бұлар органикалық қышқылдар. Олардың молекуласында карбоксильдік ($-\text{COOH}$) топ та, аминдік ($-\text{NH}_2$) топ та бар. Амин қышқылдары молекуласында α -, β -, γ -жағдайында да басқажағдайда да болады. Табиғи белоктардан тек α -амин қышқылы ғана табылған. Ол қышқылда карбоксильдік топтан кейін бірінші көміртегі атомы ($-\text{NH}_2$) тобымен байланысады.

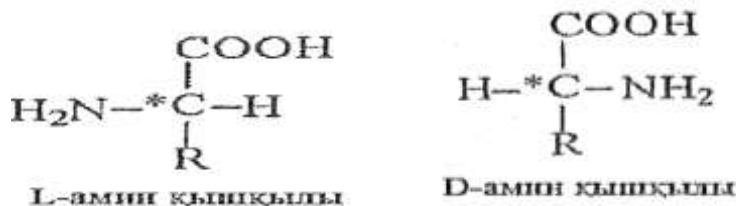
Мұндағы: R – радикал, бүйірдегі топтарды көрсетеді. Аминқышқылдарының физикалық-химиялық және биологиялық қасиеттерінің ерекшелігі бүйірлік топтардың құрылымына тәуелді.

Химиялық құрамына және бүйірдегі топтардың құрылымына байланысты амин қышқылдары полярлы (гидрофильді) жән еполярсыз (гидрофобты) деп жіктеледі. Қоректік бағалығына қарай ауыстырылатын және ауыстырылмайтын (адамның және жануарлардың организмінде түзілмейтін) а.қ. деп жіктеледі.



Амин қышқылдарының физикалық қасиеттері

Амин қышқылдары – түссіз кристалл зат, суда ериді. Амин қышқылының екі түрлі пішіні болады. Ол L- және D-пішіні деп аталады. Белоктар құрамына L-а.қ. ғана кіреді.



Амин қышқылдарының химиялық қасиеттері

А.қ. амфотерлі қасиет көрсететін болғандықтан, олар қышқылдармен де, негіздермен де әрекеттесіп, тұз түзеді, спирттермен әрекеттесіп күрделі эфирлер түзеді және дезаминдеу, декарбоксильдену құбылыстарына ұшырайды. Белок молекуласының физикалық-химиялық қасиеттері және олардың биологиялық ерекшеліктері амин қышқылы қалдықтарындағы жан-жаққа тармақталған бүйірлік топтарына байланысты болады.

Егер белок молекуласы бірнеше полипептидтік тізбектен құралған болса, олардың арасындағы байланыс түрлері мына төмендегідей болуы мүмкін.

Ковалентті дисульфидтік байланыс – S – S –

Бұл байланыс белок молекуласындағы әр түрлі екі полипептидті жалғастырады, немесе бір полипептидтің екі бөлігін жалғастырып, цистин қалдығын түзеді.

Сутектік байланыс

Егер теріс электр зарядты екі атомның біреуі сутегінің атомымен байланысқан болса, сол екі атомның арасында сутектік байланыс қалыптасады. Мысалы, сутегінің атомы оттегінің немесе азоттың атомымен байланысқан болса, онда оттегі (азот) атомының теріс электр зарядының күштілігі салдарынан байланыс электрондары оттегі атомына немесе азот атомына ығысады. Осыған байланысты сутегі атомында біршама оң заряд (δ^+), электр терістілігі басым атомда біршама теріс заряд (δ^-) пайда болады. Оң зарядталған сутегі атомы теріс зарядталған басқа атомға тартылады.

Осылайша химиялық емес байланыс – сутектік байланыс – қалыптасады. Бұл байланыс коваленттік байланыспен салыстырғанда әлсіздеу, бірақ ол белгілі белок құрылымын қалыптастыруда үлкен қызмет атқарады.

Өзара гидрофобтық әрекеттесу

Мұндай өзара әрекеттесу амин қышқылдарындағы полярсыз бүйірлік топтарының өзара тартылысынан болады. Ондай топтар полипептидтік тізбектер арасындағы суды ығыстырып шығару нәтижесінде қалыптасады.

Мұндай учаскелерге су ерітінділері ене алмайды. Осы жағдайға қатысты аса маңызды лейцин, изолейцин, валин, фенилаланин, триптофан сияқты амин қышқылдары жатады. Фенилаланиннің екі қалдығының және валин қалдығының өзара гидрофобты әрекеттесуі.

Иондық немесе тұз тәріздес байланыстар

Мұндай байланыстар әр түрлі зарядталған екі ион өте жақындасқан кезде (0,3 нм) пайда болады. Бұл – аспарагин, глутамин қышқылдары мен аргинин, гистидиннің қышқылдық және негізгі топтардың арасындағы өзара электростатикалық әрекеттесу күші.

Белоктар құрылысының деңгейлері

Тірі организмдегі белок молекуласының әрқайсысының өзіне ғана тән белгілі бір кеңістіктік құрылымы болады. Ондай кеңістіктік құрылымды конформация деп атайды. Өзінің конформациясына сәйкес белоктар: глобулярлы белоктар және фибрилярлы белоктар болып екі топқа бөлінеді. Глобулярлы белоктардың құрылымы шағын ғана, олардың полипептидтік тізбектері сфера немесе эллипсоид сияқты тығыздала бүктелген болады. Мұндай белоктарға ферменттер, қанның, сүттің белоктары (альбуминдер, глобулиндер және басқалары) жатады.

Фибриллярлы белоктар тұрақты келеді. Суда және сұйық тұз ерітінділерінде ерімейді. Мұндай белоктардың молекуласы созылған жіп сияқты және одан көп полипептидтік тізбектерден тұрады.

Тізбектері қатты немесе жылжымалы жұмсақ келеді және тірі организмде құрылымдық қызмет атқарады. Мұндай белоктарға коллаген – сіңір, сүйек және шеміршек сияқты тканьдердің негізі болып табылады. Шашта, жүнде қауырсында, тырнақта кератин бар, ал оған жібек фибрионы, қан фибриногені және тағы сол сияқты белоктар да жатады.

Белок молекуласы құрылымын 4 деңгейге бөледі. Олар. 1-ші, 2-ші, 3-ші және 4-ші реттік құрылымдар.

Белоктардың классификациясы

Химиялық құрамына қарай белоктар: қарапайым белоктар (протеиндер) және күрделі белоктар (протеидтер) кластарына бөлінеді.

Қарапайым белоктар

Қарапайым белоктар гидролиздеу кезінде тек амин қышқылдарына ғана ажырайды. Төменде қарапайым белоктардың негізгі өкілдері көрсетілген.

- **Альбуминдер** – бейтарап тұздармен толық қанықтырған кезде тұнбаға шөгеді. Қан плазмасында, сүтте, организм клеткаларында және биологиялық сұйық заттарда, тауық жұмыртқасында, бұршақ тұқымдас өсімдіктерде кездеседі. Молекуласы теріс зарядталған. Құрамында глутамин қышқылы көп болғандықтан, оның қышқылдық қасиеті бар, рН-4,7.

• **Глобулиндер** – бейтарап тұздармен жартылай қанықтырған кезде тұнбаға шөгеді. Өзі альбуминдер бар жерде кездеседі. Глобулин – сәл қышқылдау белоктарға немесе бейтарап белоктарға жатады. Ол сұйытылған тұз ерітінділерінде ериді, суда ерімейді, рН 6 -7,3. Глобулиндер қанда көп мөлшерде кездеседі. Глобулиндерді: α , β , γ – глобулиндер деп бөледі. Глобулиндер ішіндегілері ең маңыздысы: γ -глобулин. Ол антитела, организмді қорғаушы белок.

• **Гистондар** (гректің деген сөзінен шыққан ұлпа деген мағынаны білдіреді) – организмнің ұлпалық белоктары. Гистондар өсімдіктер мен жануарлар клеткаларындағы ядро белогы.

• **Протаминдер** – ең шағын молекулалы белоктар, күшті негіздік қасиеті бар, құрамында аргинин қалдығы көп, гистондар сияқты ДНК мен байланысты.

• **Проламиндер** - өсімдіктер белогы, әсіресе бұршақ тұқымдас өсімдіктер дәнінің жабысқақ ұлпасында болады. Суда, тұз, қышқыл, сілті ерітінділерде ерімейді, 70 % этанолда ериді. Проламиндер астық тұқымдас өсімдіктер құрамындағы маңызды белоктар болып табылады.

• **Глютелиндер** де өсімдік белоктарына жатады, сілтінің ерітіндісінде ериді. Астық дақылдары дәнінде болады. Глутамин және лизинге бай келеді.

• **Протеиноидтар** – белок тәріздес заттар. Бұларға сүйеніш тірек тканьдерінің (шеміршектің, сіңірдің, сүйектің, мүйіздің, жүннің, шаштың т.с.) фибрилл белоктары жатады. Олар ерекше мықты және иілмелі-созылмалы келеді. Суда, тұз, қышқыл, сілті ерітінділерінде ерімейді.

• **Коллаген** – бұл белок жалғастырып тұратын тканьдердің (сіңір, сүйек, тері, тіс) негізін құрайды. Оның молекуласы үш полипептидтік тізбектен тұрады. Ол тізбектер коллагеннің 3 қабат спиралін – тропоколлагенді түзеді. Ол тізбектердің әрқайсысының құрамына 1000 шамасындай амин қышқылының қалдықтары кіреді. Коллагеннің м.м. 285 000 және оның амин қышқылының құрамы ерекше. Коллагенді ұзақ қыздырған кезде ол денатурланады да, желатинге айналады.

• **Эластин** – жалғастырып тұратын тканьнің иілмелі-созылмалы белогы. Ол әсіресе мойын омыртқалардың байланысында, орта қан тамыры қабырғаыснда коллагенмен бірге кездеседі. Эластин созылғыштық қасиеті жағынан каучукке жақындайды.

• **Кератин** – шаш, тырнақ, тұяқ және қауырсындардың құрамына кіретін белоктар тобы. Құрамында цистеин, глутамин қышқылы, лейцин көп. Бұл белоктың иіліп-созылғыштығы және механикалық мықтылығы полипептидтік тізбектер арасындағы дисульфидтік байланыстардан болады.

• **Фиброин** – табиғи жібек талшықтарының негізін құрайтын белок. Ол өрмекші өрмегінің де негізі болып табылады. Бұл белок құрамында көп мөлшерде глицин, аланин, серин, тирозин.

Күрделі белоктар

• **Нуклеопротеидтер** – нуклеин қышқылы бар белоктар комплексі. Нуклепротеидтер белок биосинтезінде аса маңызды қызмет атқарады.

• **Фосфопротеидтер** – фосфор қышқылының қалдықтары. Ол полипептидтік тізбектегі серинге немесе треонинге жалғасады. Фосфопротеидтерге сүттегі казеин, жұмыртқа сары уызындағы виталлин, балық уылдырығындағы ихтулин және бірқатар ферменттер жатады.

• **Гликопротеидтер** – құрамында қанттар (манноза, галактоза, гексозаминдер, сиал қышқылы және басқалары) бар күрделі белоктар. Жануарлардың, адамдардың, өсімдіктердің және микроорганизмдердің барлық ұлпаларында кездеседі.

• **Липопротеидтер** – белоктар мен липидтерден (триглицеридтер, фосфолипидтер, холестерол, сфинголипидтер, май қышқылдары) тұратын комплекс.

• **Хромопротеидтер** (гректің chroma – түс, бояу және протеидтер деген екі сөзінен тұрады) – боялған күрделі белоктар. Оған гемоглобин, миоглобин, цитохромдар, пероксидаза, каталаза флавиндік ферменттер жатады.

Қорытынды:

Белоктар — тірі организмнің негізгі құрылымдық және функционалдық макромолекулалары. Олар аминқышқылдарынан тұратын полимерлер және пептидтік байланыс арқылы байланысқан. Адам ағзасына қажетті 20 аминқышқылдың ішінде 8-9-ы алмастырылмайды, яғни оларды тамақ арқылы ғана қабылдау қажет. Белоктар құрылымы мен қызметіне қарай қарапайым (тек аминқышқылдардан тұратын) және күрделі (құрамында қосымша бейорганикалық немесе органикалық топтар болатын) болып бөлінеді. Сонымен қатар, олар құрылымдық, тасымалдаушы, қорғаныш, катализдік және басқа да қызметтер атқарады.

Пысықтау сұрақтары:

1. Белок молекуласының негізгі құрылымдық бірлігі қандай?
2. Аминқышқылдар қандай топтарға бөлінеді?
3. Белоктар қандай екі негізгі топқа жіктеледі?
4. Алмастырылмайтын аминқышқылдар дегеніміз не?
5. Қарапайым және күрделі белоктардың айырмашылығы қандай?
6. Белоктардың құрылымы қандай деңгейлерден тұрады (біріншілік, екіншілік т.б.)?
7. Белоктың құрылымы бұзылған жағдайда қандай процесс жүреді және оның нәтижесі қандай?

Дәріс 2

Полипептидтер. Пептидтік байланыс. Белоктардың сапалық реакциялары. Белок атқаратын функциялар

Дәрістің жоспары:

1. Белок атқаратын функциялар
2. Тағам құрамындағы белок
3. Белоктар арасындағы байланыстар. Полипептидтер. Пептидтік байланыс
4. Белоктардың сапалық реакциялары

Дәрістің мақсаты:

Студенттерге полипептидтердің түзілуі мен пептидтік байланыстың мәнін, белоктардың сапалық реакцияларын және олардың негізгі биологиялық функцияларын түсіндіру. Белоктардың химиялық қасиеттері мен реакцияларын талдау арқылы олардың құрылымы мен қызметінің өзара байланысын ашып көрсету, сондай-ақ белоктардың тірі организмдегі ролін және практикалық маңызын түсіндіру арқылы студенттердің биологиялық және биохимиялық білімдерін тереңдету.

Қазіргі кездегі түсінік бойынша белок дегеніміз – молекулалық массасы 5000 Д шамасынан көп, кеңістік құрылымы бар және организмде белгілі бір қызмет атқаратын полипептид.

Белок молекуласы бір, екі және көп (негізінен жұп сан болуы тиіс) полипептид тізбегінен құралады. Белоктың полипептид тізбегінде ондаған, тіпті жүздеген амин қышқылдарының қалдығы болуы мүмкін. Ондай қалдықтар пептидтік байланыс – CO – NH – көмегімен бірімен – бірі өзара жалғасады.

Белоктарға сапалық (түрлі-түсті) реакциялар

Түсті реакция жасау арқылы заттың белоктық табиғатын анықтауға және оның құрамында кейбір амин қышқылдары бар екенін дәлеледеуге болады.

- Биурет реакциясы
- Фоль реакциясы
- Нингидрин реакциясы
- Ксантопротеин реакциясы
- Миллон реакциясы
- Сакагучи реакциясы
- Адамкевич реакциясы
- Нитропруссид реакциясы

Биурет реакциясы

Реакция нәруыздың, пептидтің, полипептидтің негіздік ортада күлгін түске боялатын (қызыл немесе көк рең беретін), мыс (II) иондарымен кешені қосылыс беретін пептидтік байланысының барын анықтауға негізделген. Бояу молекулада тікелей бір-бірімен немесе оттек не азот атомдарымен байланған -CO-NH- екіден кем емес тобының барына негізделген.

Нингидрин реакциясы

Бұл реакцияда нәруыз, полипептид, пептид және бос α -аминқышқылдары ерітінділерін нингидринмен қыздырған кезде көк,көк-күлгін немесе қызғылт -күлгін түс береді. Бұл реакцияда боялу α -аминтоптардың көмегімен дамиды. Реакция екі сатыда жүреді. Нингидрин бұл реакцияда аминқышқылдарымен азот және оттек арасында қос байланысы бар, имин немесе Шифф негіздемесі атауымен қосылыс түзеді. Бұл қосылыстар жоғары реакциялық қабілетімен ерекшеленеді.

Олардың әрі қарай өзгерісі оларды нингидриннің екінші молекуласымен әрекеттесе алатын, көк – күлгін (қан қызыл) түске боялған көк- күлгін Руэман қосылысын беретін аралық аминге алып келеді.

Фоль реакциясы (элсіз байланысқан күкіртке)

Бұл реакциямен нәруыздардың бос $-SH$ (тиолдық) радикалды топтарымен қатар, цистиннің дисульфидті ($-S-S-$) байланысы түзіле отырып тотыққан байланыстары бар цистеин радикалдарын анықтайды.

Цистеин және цистин қалдығының молекуласындағы нәруызды концентрленген сілті және қорғасын (Фоль реактиві) ацетатымен (немесе басқа еритін тұз) қыздырған кезде қоңыр немесе қара түс түзіледі. Ол сілті әсерінен цистеин радикалдарынан қорғасын (II) ионымен әрекеттесе отырып,қорғасын сульфидінің қоңыр немесе қара ерімейтін тұнбасын түзетін,тотығу дәрежесі минус екі ион түріндегі күкірттің бөлінуімен түсіндіріледі.

Ксантопротеин реакциясы

Бұл реакция ароматты аминқышқылдары қалдықтары - тирозин, фенилаланин, триптофанда нәруыздың бар-жоғын анықтайды. Бұл аминқышқылдарының радикалындағы бензол сақинасы сары түске боялған (грекше «Ксантос»-сары) нитроқосылыстар түзе отырып, титрленуіне негізделген.

Белоктардың қызметі

Белоктар тірі организмде алуан түрлі және өздеріне ғана тән қызмет атқарады. Организмде жүретін барлық биологиялық процестер белок қызметімен байланысты.

- Катализдік қызмет
- Транспорттық қызмет
- Механикалық (жиырылып-созылу) қызмет
- Қорғаныс қызмет
- Реттегіш қызмет
- Құрылымдық қызмет
- Рецепторлық қызмет
- Қоректік қызмет
- Репрессор қызмет

Қорытынды:

Полипептидтер — аминқышқылдарының ұзын тізбектері, олар пептидтік байланыс арқылы бірігеді. Бұл байланыс — аминқышқылының амин тобы мен екінші аминқышқылдың карбоксил тобы арасында түзілетін ковалентті байланыс. Полипептидтік тізбектер оралымданып, кеңістікте белгілі бір құрылым түзіп, белок молекуласын құрайды. Белоктар тірі ағзада маңызды рөл атқарады. Олар каталитикалық (ферменттер), құрылымдық (коллаген, кератин), тасымалдаушы (гемоглобин), қорғаныс (антиденелер), реттеуші (гормондар), энергетикалық және қор жинаушы функцияларды орындайды. Белоктардың сапалық реакциялары (биурет, ксантопротеин, Миллон, Нингидрин реакциялары) арқылы олардың құрамын, құрылысы мен ерекшеліктерін анықтауға болады. Бұл реакциялар аналитикалық химия мен биохимияда белоктарды тану мен зерттеу үшін кеңінен қолданылады.

Жалпы алғанда, белоктар — тіршілік негізі, олардың құрылымы мен қасиеттерін білу биология, медицина және биотехнологияда аса маңызды.

Пысықтау сұрақтары:

1. Полипептид дегеніміз не? Пептидтік байланыс қалай түзіледі және оның ерекшелігі неде?
2. Пептидтік немесе амидтік байланыстың полипептид түзуіндегі маңызыдылығы қандай?
3. Белоктардың сапалық реакцияларына қандай мысалдар келтіре аласыз? Белоктардың қандай негізгі функциялары бар?
4. Белоктардың сапалық реакциялары не үшін қажет?
5. Белок шикізаттары туралы не айтасыз?
6. Белоктардың практикалық маңызы қандай?

Дәріс 3

Ферменттер номенклатурасы, қарапайым және күрделі ферменттер (апоферменттер, коферменттер) ферменттің атқаратын функциясына қарай реакциялар классификациясы

Дәрістің жоспары:

1. Ферменттер номенклатурасы
2. Фермент жіктелуі (апоферменттер, коферменттер)
3. Коферменттер сипаттамасы
4. Ферменттің атқаратын функциясына қарай реакциялар классификациясы

Дәрістің мақсаты:

Студенттерге ферменттердің номенклатурасы мен жіктелу принциптерін, сондай-ақ апоферменттер мен коферменттердің құрылымдық және функционалдық ерекшеліктерін түсіндіру. Ферменттердің биохимиялық реакцияларды катализдеудегі рөлін және олардың

функцияларына байланысты реакция түрлерінің классификациясын меңгерту.

Организмнің барлық клеткасында бір мезгілде белгілі ретпен және өзара үйлесімді де алуан түрлі химиялық реакциялар жүріп жатады. Ал ферменттер осы реакцияларды миллиондаған есе жылдамдатады. Егер ферменттер қатыспаса, организмдегі химиялық реакциялар өте баяу да тәртіпсіз жүреді.

Фермент дегеніміз - белоктық зат, ол организмде көптеген реакцияларды тездетуші. Фермент (латынның fermentum- ашу деген мағына, грек тілінде - enzyme, ен-ішкі, зумеашытқы деген мағына береді) деген сөз де қолданылады.

Ферменттерді және олар катализдейтін реакцияларды зерттейтін биохимия бөлімі энзимология деп аталады.

Меншікті активтілік дегеніміз – ферменттік препараттағы 1мг белокқа тиісті фермент өлшемінің шамасы; ол мкмоль 1 мин мг белок деп көрсетіледі.

Катализдік активтілік дегеніміз- стандартты жағдайда 1 моль субстратты 1с уақыт ішінде өңдеп өзгерте алатын фермент мөлшері болып табылады.

Ферменттердің химиялық құрамы және құрылымы

Фермент дегеніміз биохимиялық реакциялар кезінде катализдік активтілік көрсететін белоктар екені белгілі.

Ферменттердің бәрі де үлкен молекулалы қосылыстар, олардың молекулалық массасы (м.м.) 10 мыңнан 1 миллионға дейін, тіпті одан да көп шамаға жетеді.

Қарапайым ферменттер дегеніміз – қарапайым белоктар, олар гидролиз кезінде амин қышқылдарына ғана ажырап бөлінеді. Қарапайым ферменттерге мыналар жатады: рибонуклеаза, пепсин, трипсин, химотрипсин, папаин, амилазалар, гидролаза класына жататын басқа да ферменттер.

Күрделі ферменттер дегеніміз - күрделі белоктар. Күрделі ферменттер екі бөліктен: белоктық және белоктық емес бөліктен тұрады.

Ферменттердің белоктық бөлігі **апофермент** деп, ал белоктық емес бөлігі **простетикалық топ немесе кофактар** деп аталады.

Апофермент кофакторсыз активті болмайды. Күрделі ферменттердің кофакторлары металл иондары немесе белоктық емес органикалық заттар. Мұндағы металл иондары **активаторлар** деп аталады.

Активаторлар мына иондар: Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Mo^{2+} . 180 шамасынан астам ферментте металл иондары активатор қызметін атқарады.

Коферменттер (лат. тілінде Ко-бірге және фермент деген сөзден ишыққан) – құрамында белок жоқ органикалық қосылыстар, олар апоферментпен тығыз байланысқан.

Коферменттер – төменгі молекулалы заттар, олар жоғары температураға төзімді келеді және ферменттің белоктық бөлігінен оңай ажырайды.

Көптеген ферменттер витвминдерге жатады немесе витаминдер туындысы болып табылады. Коферменттерге активті тобы бар витаминдер –тиаминпирофосфат (В1 витаминінің туындысы), никотинамидті коферменттер (РР витамині) жатады. В2, В6, В12 витаминдері және т.б. витаминдер кіреді.

Ферменттердің кофакторлары – ферменттердің катаболитикалық қасиеттерінің көрінуіне қажет белокты емес органикалық заттар.

- **Витаминдер**
- **Витаминдік емес заттар:** металл иондары, нуклеотидтер, моносахарид фосфаттары, пептидтер, металлопорфириндер.

Фермент кофакторы сырттан тағаммен түседі, ал апофермент организмде синтезделеді.

Көптеген ферменттер витаминдерге жатады немесе витаминдер туындысы болып табылады.

Коферменттерге активті тобы бар витаминдер –тиаминпирофосфат (В1 витаминінің туындысы), никотинамидті коферменттер (РР витамині) жатады. В2, В6, В12 витаминдері және т.б. витаминдер кіреді. Сондықтан да витаминдер жетіспеуі коферменттердің синтезін бұзады, соның салдарынан тиісті ферменттердің түзілуі тежеледі. Осыдан зат алмасу бұзылады және адам мен организм бір қалыпты тіршілік ете алмайды.

Биохимиялық реакцияларда коферменттер екі түрлі қызмет атқарады:

1. Күрделі фермент құрамында субстраттың(фермент әсер ететін зат) катализдік өңделіп өзгеруіне қатысады, бұл кезде кофермент оның активті ортасына енеді;

2. Бір субстраттан екінші субстратқа электрондарды, протондарды тасымалдайды.

Никотинамиднуклеотидті немесе пиридиндік коферменттер

НАД⁺ және НАДФ⁺ (НАД⁺ никотинамидадениндинуклеотид, НАДФ⁺ никотинамидаденин динуклеотидфосфат). Бұл коферменттердің активті бөлігі никотин амид (РР витамин) болып табылады, оның молекуласында пиридин сақинасы бар және ол пиридиндік коферменттер деп аталады.

НАД⁺ және НАДФ⁺ қандай да бір арнайы белоктармен (апоферменттермен) қосылып, тиісті ферменттер түзеді.

НАД⁺ коферментіне қарағанда, НАДФ⁺ коферментінде бір фосфат тобы артық болады, ол топ, аденинмен байланысқан рибозаның гидроксил

тобымен этерленген, НАД⁺ пен НАДФ⁺ өздерінің құрылымы жөнінде жақын қосылыс, бірінен-бірі алмастыра алмайды.

ФАД және ФМН флавиндік коферменттер

(ФАД–флавинадениндинуклеотид, ФМН –флавиномононуклеотид). ФАД және ФМН коферменттері әртүрлі апоферменттермен байланысады да, флавопротеидті ферменттер –флавиндік дегидрогенеза түзеді. Қазіргі кезде флавопротеидтердің 80 шамасына жетеді және олардың көпшілігінде ФАД бар. ФАД және ФМН екеуі апоферменттермен мықты байланысқан және НАД⁺ және НАДФ⁺ екеуінен айырмасы, катализдік реакция кезінде ферменттің белоктық бөлігіне байланысқан күйінде қалады.

ТПФ немесе ГДФ коферменті

(ТПФ –тиаминпирофосфат, ТДФ –диаминдифосфат) ТДФ коферменті В1 витаминінің туындысы, оның тиазол сақинасында күкірт бар. Ол апоферментпен мықты байланысқан болады және простетикалық топ деп саналады.

Кобамидтік кофермент

Бұл коферменттің активті бөлігі химиялық құрамы ең күрделі витамин –В12 витамині. В12 витамині молекуласында коррин циклы бар, ол төрт пиррол сақинасынан тұрады, сақиналар бір-бірімен өзара байланысады. Циклдың дәл ортасында коальт атомымен айланысқан циан тоб орналасады. Оның бұл витамин цианкобаламин еп аталады. Кобамидтік коферменттерде циан тобы болмайды, оның орнын метил 5-дезоксиаденозин басады. Соған сәйкес мынандай екі кофермент түзіледі: метилкобаламин және 5- дезоксиаденозилкобаламин.

Пиродоксиндік коферменттер

Бұл коферменттің негізі В6 витамині, коферменттің құрамына бір-біріне ұқсас үш қосылыс: пиридоксин, пиридоксаль, пиридоксамин кіреді. Ол үшеуі бір-біріне оңай айналады.

В6 витаминнің негізі активті туындысы пиридоксаль -5 фосфат болып саналады, оның өзі бірқатар пиридоксальдық ферменттердің коферменті. Пиридоксаминфосфатта коферменттік қызмет атқарады.

Фолаттық коферменттер

Фолий қышқылының (Вс витамин туындысы. Фолий қышқылының өзінің коферменттік активтігі жоқ, оның тетрагидро түрі –тетрагидрофилий қышқылы кофермент болып саналады.

А коферменті –ацетильдеу коферменті

Бұл кофермент сірке қышқылының және басқа да қышқылдардың қалдықтарын ауыстырып жеткізеді, сондықтан ол ацетильдеу коферменті деп аталады.

А коферменттің құрылысы күрделі. Аденозиндифосфат оның құрылымының негізі, ол пантотен қышқылының (В3 витамин) қалдығымен байланысқан. Пантотен қышқылына меркаптоэтиламин қалдығы қосылысқан. в-меркаптоэтиламидтегі сульфгидрильдік топ (-SH) реакцияласуға қабілетті болады, күрделі эфир түрінде кофермент ауыстырып алмастыратын ацил қалдықтары ол топпен байланысады.

Липой қышқылы ферменті

Құрамында дисульфидтік топ бар тотығып екі сульфгидрильдік топ (-SH) құрайды, дигидролипой қышқылына айналады. Осының нәтижесінде липой қышқылы оңай тотығыды, тотықсызданады.

Q коферменті –убихинон

Q коферментінің атауы quinone –деген сөздің бірінші әрібінен шыққан. Убихинон деген сөз барлық жерде (уби-барлық жерде) деген мағына береді. Ол барлық клеткадан табылған.

Фермент атаулары екі түрлі: жүйелік атау және тривиалдық атау

Ферменттердің жүйелік атаулары күрделі, ол реакцияға кіретін субстрат жөнінде, фермент катализдейтін химиялық реакция жөнінде толық мәлімет береді. Жүйелік атау бойынша әр ферменттің номері болады, ол төрт саннан тұрады, сандардың арасы нүктемен бөлінген. Бірінші сан ферменттің класын білдіреді, екінші сан клас тармағын, үшінші сан-клас тармағы бөлігін, төртінші сан өз қатарындағы номерін көрсетеді.

Ферменттердің тривиалдық атаулары қысқа да қолдануға ыңғайлы. Мысалы, 2.7.1.2. АТФ: глюкоза-6-фосфотрансфераза. Ал осы ферменттің тривиалдық атауы глюкокина. Тривиалдық атаулар негізі екі жолмен пайда болады: 1. фермент әсер ететін субстрат атауына –аза жұрнағын. Мысалы, мальтозаны ыдыратып, глюкозаның екі молекуласына айналдыратын фермент мальтаза деп аталады. 2) фермент катализдейтін реакция атауына –аза жұрнағы қосылады. Кез-келген ферменттің төрт саннан тұратын шифрі болады. Мұндағы бірінші сан сыныптың, екінші сан сыныпшаның, ал үшінші сан сол сыныпшадағы топтың номерлерін көрсетсе, төртінші сан нақты ферментті көрсетеді.

Реакциялар классификациясы

Оксидоредуктаза тотығу-тотықсыздану реакцияларын катализдейді;

Трансферазалар атомды немесе атомдар топтарын бір заттан екінші затқа тасымалдайды;

Гидролазалар заттардың гидролиз жолымен ыдырауын тездетеді;

Лиазалар қос байланыс үзілген орынға атомдар тобының жалғасуын немесе заттардың гидролиздік емес жолдармен ыдырауын жүзеге асырады;

Изомеразалар бір заттың екінші затқа изомерлену реакцияларын катализдейді;

Лигазалар АТФ энергиясы есебінен екі молекуланың қосылуын катализдейді.

Қорытынды:

Ферменттер – тірі ағзадағы биохимиялық реакцияларды тездететін биологиялық катализаторлар. Олардың номенклатурасы Халықаралық биохимиялық одақпен (IUBMB) бекітіліп, ферменттер атқаратын реакция типтеріне қарай 6 негізгі класқа бөлінеді: оксидоредуктазалар, трансферазалар, гидролазалар, лиазалар, изомеразалар және лигазалар.

Ферменттер құрылымына байланысты қарапайым (тек ақуыздан тұрады) және күрделі (ақуыз + бейағзалық не органикалық компоненттер) болып бөлінеді. Күрделі ферменттерде ақуыз бөлігі – апофермент, ал бейағзалық немесе органикалық бөлігі – кофермент деп аталады. Бұл екі бөлік бірігіп холоферментті түзеді – ол толық белсенді ферменттік кешен. Ферменттердің әрқайсысы белгілі бір функция атқарады, олар жасушадағы нақты реакцияны катализдеп, оның жылдамдығын арттырады, энергияны үнемдейді және биологиялық жүйелердің реттелуін қамтамасыз етеді.

Пысықтау сұрақтары:

- 1 Ферменттердің атауы қандай принципке негізделіп беріледі? Халықаралық биохимиялық одақ (IUBMB) ферменттерді неше класқа бөледі?
- 2 Қарапайым фермент пен күрделі ферменттің айырмашылығы неде?
- 3 Апофермент пен кофермент дегеніміз не? Холофермент қандай компоненттерден тұрады?
- 4 Ферменттер қандай 6 негізгі класқа бөлінеді? Әрбір фермент класы қандай типтегі реакцияларды катализдейді?
- 5 Катализдік реакциялар арасындағы негізгі айырмашылық қандай?

Дәріс 4

Ферменттің активті орталығы, энзим ерекшеліктері. Әсер ету механизмдері

Дәрістің жоспары:

- 1.Энзимнің активті орталығы
2. Энзимдердің активтілігі және селективтілігі (төлсипаттылығы)
3. Әсер ету механизмі
4. Энзим-субстрат комплексі
5. Михаэлис-Ментен комплексі, механизмі

Дәрістің мақсаты:

Студенттерге энзимдердің (ферменттердің) активті орталығының құрылымы мен қызметін, олардың селективтілігі мен каталитикалық активтілігінің ерекшеліктерін түсіндіру. Энзим-субстрат комплексі және Михаэлис-Ментен механизмі арқылы биохимиялық реакциялардың жүру жолын меңгерту. Энзимдердің әсер ету механизмін молекулалық деңгейде сипаттап, ферментативті реакциялардың кинетикасына негіз болатын ұғымдарды қалыптастыру.

Ферменттің активті (катализдік) орталығы

Фермент молекуласының субстратпен тікелей тиісіп жанасатын бөлігін ферменттің активті орталығы деп атайды. Ферменттің активті орталығы

субстратпен байланысуға және ыдыратып өзгертуге міндетті. Активті орталық бүйір радикалында функционалды тобы бар амин қышқылдарының қалдықтарынан түзіледі. Күрделі ферменттерде активті орталыққа амин қышқылдарынан басқа металл иондары мен коферменттер кіреді. Олар катализ кезінде маңызды қызмет атқарады.

Ферменттердің активті орталығында реакцияласуға мынадай амин қышқылдары кіреді:

1. *Цистеин* оның құрамында сульфгидрильдік топ –SH бар;
2. *Серин*, оның құрамында гидроксиль топ- OH бар;
3. *Гистидин*, оның құрамында имидазол сақинасы бар;
4. *Аспарагин қышқылы мен глутамин қышқылы*, ол екеуінің құрамында екінші карбоксильдік топ –COOH бар;
5. *Триптофан*, құрамында индол сақинасы бар;
6. *Гидрофобты амин қышқылдары*, құрамында субстраттың полярсыз учаскесіне жақын гидрофобты бүйір топтар болады.

Активті орталық фермент молекуласының бетіндегі шағын ғана бөлік. Ферменттегі амин қышқылдары қалдықтарының үлкен бөлігі орталық активтілігіне әсер етпейді.

Ферменттер әсерінің төлсипаттылығы

Ферменттердің бейорганикалық катализатордан өзгешелігі, олар өте төлсипатты түрде әсер ететіндігін бұрын бірнеше рет айтқан болатынбыз. Олар белгілі бір реакцияларды ғана өршітеді.

Ферменттер әсерінің жоғары төлсипаттылығы – тірі материяның маңызды ерекшеліктерінің бірі. Ферменттілік катализдің осы шебер төлсипаттылығының нәтижесінде жеке ферменттілік реакциялардың катал реттілігі және өте тығыз өзара байланыстылығы болуы мүмкін. Олар өздерінің заңдылықты бірігулерін өмірдің негізі болатын заттардың биологиялық алмасуын болдырады.

Төлсипаттылық дәрежесі бойынша ферменттер бір-бірінен айырмашылығы көп болады. Ферменттердің төмендегідей негізгі төлсипаттылық түрлері болады.

1. *Абсолюттік төлсипаттылық*. Егер фермент тек бір ғана субстраттың түрленуін өршітсе, онда оның абсолюттік төлсипаттылығы болады деп қарастырады.

2. *Топтық төлсипаттылық*. Бірқатар субстраттарға әсер ететін ферменттердің төлсипаттылығы аздау болады, бірақ олар да субстрат молекуласындағы атомдық топтардың түріне белгілі бір «талаптар» қояды. Мысалы, пепсин ароматтық аминқышқылдары түзілген пептидтік байланысқа қатысты белгілі бір жағдайда болатын пептидтік байланыстарды гидролиздейді.

3. *Белгілі бір реакциялар түрлеріне байланысты төлсипаттылық*. Реакциялардың белгілі бір түрлерін өршітетін ферменттердің төлсипаттылығы аз болады. Олар өздері әсер ететін субстрат

молекуласының байланысқан маңындағы топтардың табиғатына тәуелсіз болады. Мысалы, липазалар деп аталатын ферменттер кез келген күрделі эфирлердің оның ішінде липидтердің де гидролизін өршітеді. Алайда әр түрлі субстраттар бөлек гидролиздеу жылдамдықтарында айырмашылық болады. Мысалы, кейбір липазалар қысқа көміртекті тізбекті май қышқылдарымен түзілген күрделі эфирлерді жылдам гидролиздеуге бейім, басқалары құрамында үлкен көміртекті тізбекті май қышқылдарының қалдықтары болатын эфирлерді жылдам гидролиздейді.

4. *Стереохимиялық тәлсипаттылық.* Кейбір ферменттер субстраттың тек бір стереохимиялық түрін (формасын) ғана түрлендіруді өршітеді. Мысалы, протеолиттік ферменттер аминқышқылдарының L-формасынан түзілген пептидтерге ғана әсер етеді. Сол сияқты лактатдегидронгеназа тек L-сүт қышқылының тотығуын ғана өршітеді. Ал D-формаларын олар өршітпейді.

Михаэлис-Ментен комплексі, механизмі

Ферменттердің әсер ету механизмін қарастырғанда ең алдымен ферменттің әсері фермент-субстрат қосылысын түзу нәтижесінде жүзеге асатынын айту керек. Бұл пікірді эксперимент жүзінде дәлелдеу көп уақыт бойы қиындыққа соқты, өйткені фермент субстратпен түзетін қосылысы өте жылдам түзіледі және ол өте либилді тұрақсыз болды.

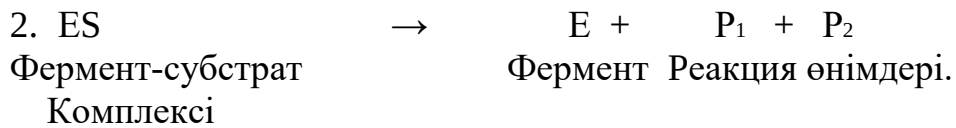
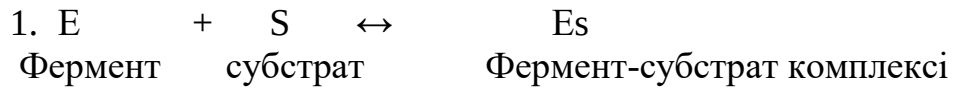
Өзінің субстратын тани білуге ферменттің активті орталығында белгілі тәртіппен орналасқан амин қышқылдарының бүйір топтары көмектеседі. Солардың әсерінен активті орталық субстратпен жақындасады да ол екеуі біріне-бірі белгілі ретпен жанасады. Егер субстраттың пішіні сәйкес келсе, ол активті орталықтың қуысына енеді. Э. Фишердің (1890) әсерлеп айтуы бойынша, « құлыпқа дәл енетін кілт сияқты », субстратта активті орталыққа « дәл келуі » керек.

Субстраттың фермент бетіне танысып жабысуы электростатиканың тартылыс күші әсерінен іске асады, ал мұндай тартылыс күші сутектік байланыс кезінде немесе өзара гидрофобтық әсер кезінде пайда болады.

Қазір қолданылып жүрген теория бойынша фермент әсері екі стадиядан тұрады. Бірінші стадия кезінде фермент (E, *enzym* – деген сөздің бірінші әріпі) пен субстрат (S) арасында комплекс-фермент-субстрат (ES) түзеді.

Ол Михаэлис комплексі деп аталады. Мұндай комплекс түзу реакциясықайтымды келеді. Фермент – субстрат активті комплексі активтену энергияны бәсеңдетеді де, реакцияның жүруін жеңілетеді. Субстрат байланысқаннан кейін ол ферменттің шабуылына ұшырайды. Ферментпен байланысқан жеріне субстрат молекуласының электроны бөлініп, өзгеріп орналасады. Мысалы, металл атомдары(Zn, Mn, Fe, Mo) электрондар тартып алады. Бұл байланысты әсерлетеді. Сондықтан өзара байланыс үзіледі де, реакция өнімдері түзіледі. Сөйтіп, реакцияның екінші сатысына фермент-субстрат (ES) комплексі ыдырайды да, реакцияның соңғы өнімдері түзіледі де, фермент босап шығады.

Фермент әсері теориясының әріптерімен белгіленуі:



Қорытынды:

Ферменттің активті орталығы — бұл субстратпен тікелей әрекеттесетін, фермент молекуласындағы арнайы конфигурациялы аймақ. Ол белгілі бір кеңістіктік құрылымға ие және жоғары селективтілікпен ерекшеленеді. Энзимдер биохимиялық реакциялардың жылдамдығын айтарлықтай арттырып, ағзада жұмсақ жағдайда жүретін күрделі процестерді басқарады. Олар өз субстратына ерекше әсер етеді (субстраттық ерекшелік), бұл олардың жоғары тиімділігін қамтамасыз етеді. Ферменттің әсер ету механизмдері бірнеше модельдермен түсіндіріледі, соның ішінде «құлып-кілт» және «индукцияланған сәйкестік» модельдері кең таралған. Бұл механизмдер фермент пен субстрат арасындағы өзара әрекеттесуді нақты сипаттап, катализ үрдісінің қалай жүретінін көрсетеді. Нәтижесінде ферменттер реакцияны төменгі энергия шығынымен, тез әрі бағытталған түрде іске асырады.

Пысықтау сұрақтары:

1. Ферменттің активті орталығы дегеніміз не?
2. Активті орталықтың құрылымы қандай ерекшеліктерге ие?
3. Энзимдердің субстратқа төлсипаттық қасиеті қалай жүзеге асады?
4. Энзимдердің әсер ету механизмдері қандай модельдермен түсіндіріледі?
5. «Құлып пен кілт» және «индукцияланған сәйкестік» модельдерінің айырмашылығы неде?
6. Ферменттер реакция жылдамдығына қалай әсер етеді?
7. Энзим мен субстрат арасындағы байланыс түрлері қандай?

Дәріс 5

**Ферменттілік реакциялардың кинетикасы, Михаэлис-Ментен теңдеуі
K_m және V_{max} таң анықтау әдістері (Лайнуивер Берк, Иди-Хофсты,
Вульф-Хейнс)**

Дәрістің жоспары:

1. Ферменттілік реакциялардың кинетикасы. Михаэлис-Ментен теңдеуі
2. K_m, V_{max}-ды анықтау әдістері

3. Фермент концентрациясының және субстрат концентрациясының ферменттілік реакция жылдамдығына әсері
4. Температураның ферменттілік реакция жылдамдығына әсері
5. Ортаның рН-ның ферменттілік реакция жылдамдығына әсері

Дәрістің мақсаты:

Ферменттілік реакциялардың кинетикалық заңдылықтарын меңгерту, Михаэлис-Ментен теңдеуінің мәнін түсіндіру және K_m , V_{max} көрсеткіштерін анықтау әдістерін үйрету. Сонымен қатар фермент концентрациясы, субстрат концентрациясы, температура және ортаның рН-ы сияқты факторлардың реакция жылдамдығына қалай әсер ететінін ғылыми тұрғыда талдау арқылы ферментативті процестердің тиімділігін арттыру жолдарын көрсету.

Ферменттілік реакциялардың кинетикасы

Ферменттілік реакциялардың кинетикасы деп ферменттің әсерімен жүзеге асатын химиялық реакцияның жүру жылдамдығын айтады.

Кинетикалық зерттеудің ең басты мақсаты – химиялық реакция жылдамдығының басқа параметрлерге, мысалы, субстраттың және басқа факторларға тәуелділігін анықтау.

Реакция молекулалығы. Ол реакцияның элементарлық актісіне қатысатын молекулалардың саны. Молекулалардың санына қарай реакцияларды мономолекулалық, биомолекулалық және үшмолекулалық деп бөледі. Мономолекулалық реакция – бұл элементарлық актіге бір молекула қатысатын реакция, биомолекулалық реакцияларда екі молекула өзара әрекеттеседі, үшмолекулалық реакция – үш молекула өзара әрекеттесетін реакция.

Реакцияның реттілігі реакцияның кинетикалық сипаттамасының бірі. Реакцияның реттілігі кинетикалық теңдеуге кіретін концентрациялардың дәреже көрсеткіштерінің қосындысына тең. Әдетте ол реакцияның жалпы реттілігі және берілген зат бойынша реттілігі болып екіге бөлінеді. Реакция реттілігі бойынша нөлінші, бірінші реттілікті, екінші реттілікті, үшінші реттілікті деп бөлінеді.

Ферменттілік реакцияның жылдамдығына әсер ететін факторлар

Ферменттілік реакцияның жылдамдығы химиялық реакциялардың жылдамдықтары сияқты ең алдымен реакцияға түсетін заттардың табиғатына байланысты болады

Ферменттің өзінің концентрациясына және реакцияға түсетін заттардың концентрацияларына тәуелді болады.

Температура – маңызды факторлардың бірі. Ферменттілік реакция жылдамдығы температура артқанда өседі, алайда ол өсу белгілі бір шекке дейін ғана, өйткені белгілі бір температурадан бастап белоктың бұзылуы басталып, оның табиғисыздануы болады.

Коферменттермен қатар көптеген ферменттердің құрамында кейбір металдар да болады. Ендеше олардың да концентрациясы ферменттілік реакция жылдамдығына әсер етеді.

Ферменттілік реакция жылдамдығына сондай-ақ рН та айтарлықтай әсер етеді.

Ферменттілік реакция жылдамдықтарына жасушада немесе ерітіндіде ферменттердің әртүрлі белсендіргіштері активаторлары мен бәсеңдеткіштердің болуы да әсер етеді.

Фермент-субстрат кешені диссоциациялана алады деп былай жазуға болады:

$$K_s = \frac{K_{-1}}{K_{+1}}$$

Ендеше, [ES] өрнегі неғұрлым көп болса, соғұрлым берілген ферменттілік реакция жылдамдығы көп болады. [ES]= [E₀] болғанда болады. Ендеше максималды жылдамдық барлық фермент фермент-субстрат кешеніне еніп, онымен толық контактіде болады. Мынадай тәуелділікті жазуға болады:

$$\frac{v}{v_{max}} = \frac{[ES]}{[E_0]}$$

Яғни берілген реакция жылдамдығының максималды жылдамдыққа қатынасы ол мынаған тең:

$$\frac{[ES]}{[E_0]} = \frac{[S]}{K_s + [S]}$$

Михаэлис-Ментен теңдеуі:

$$v = V \frac{[S]}{K_s + [S]}$$

Михаэлис теңдеуінің 3 мүмкін шешімі бар:

1. [S] > K_m → V = V_{max} · [S] / [S] = V_{max}
2. K_m > [S] → V = V_{max} · [S] / K_m = K₁ [S]
3. [S] = K_m → V = V_{max} · [S] / ([S] + [S]) = V_{max} / 2

K_m, V_{max}-ды анықтау әдістері

Ыңғайлырақ болу үшін Михаэлис-Ментен теңдеуін *Лайнуивер мен Берк* сызықтық түрге түрлендірді. Егер екі шама өзара тең болса, онда олардың кері шамалары да тең деген принцип негізінде Лайнуивер мен Берн *қос кері шама әдісін* ұсынды. Ол әдіс бойынша Михаэлис-Ментен теңдеуі былай жазылады:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} \cdot \frac{[S]}{K_s + [S]} \text{ немесе } \frac{1}{v} = \frac{1}{V} \cdot \left(\frac{K_s}{[S]} + 1 \right)$$

Бұл теңдеуді басқаша былайша жазуға болады:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_s}{V} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V}$$

Сонымен бұл теңдеу қос кері шама әдісімен түрленген Михаэлис-Ментен теңдеуі, яғни *Лайнуивер-Берн теңдеуі*.

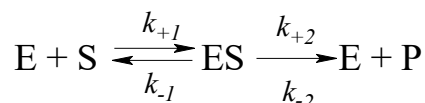
Эксперименттік мәліметтерді қос кері шама әдісімен өңдеу субстрат концентрациясы мен ферменттілік реакция жылдамдығы арасындағы тәуелділікті түзу сызық түрінде алуға болады. Реакцияның жүру жағдайына байланысты түзу сызықтың енгіштігі әртүрлі болады да, ордината және абсцисса осьтеріне қиылысу кесінділері де әртүрлі болады.

Қос кері шама әдісі қандай да бір ферменттің кинетикалық мәліметтерін алу үшін кең пайдаланылады. Михаэлис-Ментен теңдеуі ферменттің аз уақыт бойы әсерін, яғни субстрат артық болып, реакция өнімі әрі азырақ болған кезді, яғни теңдеуге кіретін реакция өнімінің Р шамасы өте аз болғанда ғана дұрыс орындалады.



Міне, сондықтан Михаэлис-Ментен теңдеуі шектелген теңдеу болып есептеледі, себебі ол тек жоғары реакцияның бірінші сатысын еске алып, екінші сатысын, яғни реакция өнімінің әсерін және оның ферментпен әсерін еске алмайды.

Сонымен, ферменттілік реакцияның жүрісін дұрысырақ жазу үшін, оны былай көрсетуге болады:



Осыған байланысты, реакция өнімінің әсерін еске алатын бірқатар жетілген теңдеулер ұсынылды. Соның бірі *Д.Холбдейн мен Д.Бриггс теңдеуі*. Ол былай жазылады:

$$v = V \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

Мұндағы K_m – Михаэлис константасы.

Михаэлис константасының энзимологиядағы маңызы зор және ол берілген ферменттің маңызды сипаттамасы болып табылады. Михаэлис-Ментеннің классикалық теңдеуінде K_s , дұрысында фермент-субстрат қосылысының диссоциациялану константасы былай жазылуы тиіс:

$$K_m = \frac{K_{-1} + K_{+2}}{K_{+1}}$$

Бұл теңдеудің алымында фермент-субстрат кешенінің фермент пен субстрат жағына қарай да, фермент пен өнім жағына қарай да ыдырау реакцияларының константалары берілген:

$$K_s = \frac{K_{-1}}{K_{+1}} \text{ екенін еске алсақ: } K_m = K_s + \frac{K_{+2}}{K_{+1}}$$

Сонымен, Михаэлис константасы реакция жылдамдығы максималды жылдамдық жартысына тең болатын субстраттың концентрациясына (моль/л-мен алынған) тең болады.

Біз жоғарыда K_m -нің K_s -тен көп болатынын айттық. Мысалы, НАД^+ қатысуында этил спиртінің альдегидке дейін тотығу реакциясын өршітетін алкогольдегидрогеназа ферментінің $K_m = 10^{-7}$ моль/л, ал $K_s = 10^{-5}$ моль/л екен.

Жаңа ферментті бөліп алғанда оның Михаэлис константасын білу маңызды. K_m -ді таза ферментке (ферменттік препаратқа) анықтау керек. Оның үстіне белгілі тұрақты жағдайларды (Т, рН және с.с.) және реакцияның бастапқы жағында өте аз уақыт аралығында анықтау керек.

Михаэлис-Ментен теңдеуін қос кері шама әдісімен өңдегенде мына теңдеу алынады:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V}$$

Бұл теңдеу $y = ax + b$ өрнегіне ұқсас, түзу сызықтың теңдеуі.

Егер абсцисса осіне $\frac{1}{[S]}$, ал ордината осіне $\frac{1}{V}$ шамаларын алсақ, 5.7-суреттегідей график аламыз. Ордината осіндегі кесінді $\frac{1}{V}$ шамасына, ал қисықтың еңкею бұрышы (еңкіштігі) $\frac{K_m}{V}$ шамасына тең. Егер алынған қисықты ордината осінен әрі созсақ, ол абсцисса осімен қиылысып, ондағы кесінді Михаэлис константасының кері шамасын $(-\frac{1}{K_m})$ береді.

Вульф-Хейнс әдісі бойынша анықтау. Вульф пен Хейнс басқадай сызықтық теңдеу алған:

$$[S]/V = \frac{1}{V_{\max}} \cdot [S] + \frac{K_M}{V_{\max}}$$

Одан да берілгендерді Вульф-Хейнс $[S]/v$, $[S]$ сәйкесті координаттарға салып, K_m мен V -ны табуға болатынын көрсеткен.

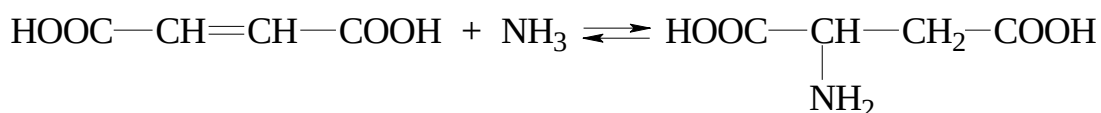
Статистикалық талдау Иди-Хофсти мен Вульф-Хейнс әдістерінің дәлірек мәліметтер беретінін көрсетті. Оның себебі, екі осьте де әрі тәуелді, әрі тәуелсіз айнамамылар қойылады.

Фермент концентрациясының және субстрат концентрациясының ферменттілік реакция жылдамдығына әсері

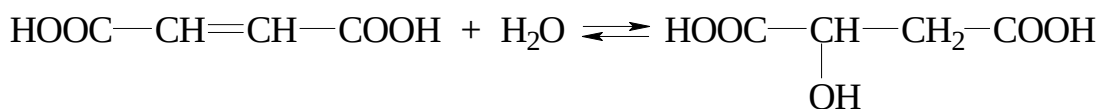
Субстрат артық мөлшерде болғанда ферменттілік реакция жылдамдығы ең алдымен фермент концентрациясына тәуелді болады. Ендеше, $v = k[E]$ деп жазуымызға болады, мұндағы $[E]$ – ферменттің концентрациясы.

Бұл суретте фермент концентрациясының реакция жылдамдығына әсері көрсетілген. 1-қисық аспарат-аммиак-лиаза және 2-қисық фумарат-гидратаза ферменттері үшін алынған. Ол ферменттер мына төмендегі реакцияларды катализдейді.

Аспарат-аммиак-лиаза (бұрын оны аспартаза деп атаған) аспаргин қышқылы фумар қышқылынан және аммиактан синтездеуді катализдейді:



Ал фумарат-гидратаза фуран қышқылынан және судан α -аллил қышқылының синтезінің реакциясын катализдейді:



Кейбір жағдайларда 5.10-суреттегідей ауытқып, яғни түзу сызықты тәуелділік болмауы мүмкін. Ол әр түрлі факторлардан: бәсеңдеткіш немесе диффузиясының бояуларынан және т.б. болуы мүмкін.

Температураның ферменттілік реакция жылдамдығына әсері

Ферменттілік реакцияның жылдамдығы субстрат концентрациясынан басқа, бірқатар басқа факторларға да, ең алдымен температураға тәуелді болады. Фермент әсерінің оңтайлығын (оптимумы) қарастырған жағдайда 50°C екені көрініп тұр. Бұл температура берілген ферменттің әсері үшін *оңтайлы (оптималды) температура* деп аталады.

Пысықтау сұрақтары:

1. Ферменттік реакциялардың кинетикасы нені сипаттайды?
2. Михаэлис-Ментен теңдеуі қандай мақсатта қолданылады? Михаэлис тұрақтысы (K_m) нені білдіреді?

3. Реакция жылдамдығы субстрат концентрациясына қалай тәуелді?
4. V_{max} ұғымына анықтама беріңіз. K_m мәні аз және көп болған жағдайда фермент пен субстрат арасындағы байланыс қандай болады?
5. Фермент әрекетінің алғашқы кезеңінде неге өнім мөлшері есепке алынбайды?
6. Түзу график алу үшін қандай түрлендіру әдістері қолданылады?
7. Михаэлис-Ментен моделіне қандай шектеулер немесе кемшіліктер тән?

Дәріс 6

Энзимдерді бөліп алу мен тазарту әдістері, энзимдердің белсенділігін анықтау әдістері

Дәрістің жоспары:

1. Энзимдерді бөліп алу әдістері
2. Энзимдерді тазарту әдістері
3. Энзимдердің белсенділігін анықтау әдістері

Дәрістің мақсаты:

Студенттерге энзимдерді биологиялық материалдардан бөліп алу және тазарту әдістерін меңгерту, осы процестерде қолданылатын заманауи технологиялар мен принциптерді түсіндіру. Сонымен қатар, ферменттердің белсенділігін анықтау әдістерін үйрету арқылы олардың функционалдық қасиеттерін бағалау және биотехнологияда қолдану мүмкіндіктерін түсіндіру.

Көптеген ферменттерді бөліп алу үшін ацетондық ұнтақтар деп аталатын заттарды пайдаланады.

Бұл жақсы тәсіл, алайда барлық ферменттерге жарамайды. Өйткені олардың кейбіреулері ацетонның әсерінен белсенділіктерін жоғалтуы мүмкін.

Алайда, осы тәсілдің айтарлықтай кемшілігі бар, ол барлық ферменттердің спирт немесе ацетонмен өңдеуге шыдай алмайтындығы, өйткені ол кезде олардың кейбіреулері табиғисызданады да, өздерінің белсенділігін жоғалтады.

Органикалық еріткіштермен ерітіндіден тұндырған кезде ферменттердің табиғисызданбауы және белсенділігін жоғалтпауы үшін операцияны берілген еріткіш пен судың қоспасының қату температурасына жақын төменгі температурада жүргізу керек.

Органикалық еріткіштерден басқа ферменттерді бөліп алу үшін *ерімталдандырмауды* қолданылады. Бұл өте кең таралған әдіс, оны ғылыми зерттеулерде белсенділігі жоғары ферменттік препараттарды алу үшін пайдаланады.

Ферменттерді бөліп алу үшін және бір-бірінен ажырату үшін *препараттық электрофорезі* қолданылады.

Қазіргі кезде ферменттерді бөліп алу және ажырату үшін әдетте аймақтық *электрофорез* пайдаланылады.

Ферменттерді бөліп алу мен тазартудың маңызды тәсілі оларды ерітінділерден таңдамалы адсорбциялау.

Алғаш рет А.Я. Данилевский қолданған, бұл тәсілді Р.Вильштеттер кең пайдаланды. Бұл тәсілде ерітіндідегі фермент белгілі-бір адсорбентпен, мысалы, алюминий оксидімен адсорбцияланады.

Ерітіндіден таңдамалы адсорбциялау әдісі ферменттік өнеркәсібінде саңырауқұлақтың және бактерияның амилазаны бөліп алу және тазартуда қолданылады. Бұл кезде адсорбент ретінде крахмал пайдаланылады, ол осы фермент үшін төлсипаттық адсорбент болып табылады.

Энзимологияда ферменттерді бөліп алу және тазарту үшін колонкадағы таңдамалы адсорбцияның әр түрлі түрлері кең қолданылады.

Ферменттердің белсенділігі олардың белгілі бір жағдайда белгілі-бір реакцияны катализдеу жылдамдығымен, яғни берілген ферменттілік реакцияның өнімдерінің жиналу жылдамдығымен немесе субстраттың азаю жылдамдығымен анықталады.

Ол үшін әр түрлі әдістер (химиялық, колериметрлік, газометрлік, хроматографиялық, вискозиметрлік, спектроскопиялық) қолданылады.

Ферменттердің белсенділігін анықтаудың химиялық әдістерінің негізіне ферменттің әсерінен белгілі топтардың немесе ерітіндіде түзілетін немесе жоғалатын заттарды есепке алу жатады.

Протеолиттік ферменттердің активтілігін анықтаудың тағы бір әдісі – ***Вильштеттер әдісі***. Оның мәні мынадай: реакция жүрген ерітіндіге белгілі бір концентрациядағы спиртті құяды. Ол кезде зерттелетін ерітіндідегі амин топтарының диссоциациясы тоқтатылады, ал босатылған карбоксил топтары сілтімен титрлеу арқылы анықталады.

Кейбір ферменттердің әсерлерін анықтау үшін ***поляриметрлік әдіс*** қолданылады. Мысалы, β -фруктофураноазидазаның әсерін білу үшін осы әдіс қолданылады. Поляриметрді қолдану ерітіндінің **меншікті айналуының өзгеруін** анықтауға негізделген.

Ферменттердің белсенділігін анықтауға ***газометрлік әдістер*** де қолданылады. Олар реакция нәтижесінде түзілетін газдың мөлшерін анықтауға негізделген. Нәруыздардың амин топтарын анықтау үшін Ван Слайктің ***газометрлік әдісі*** қолданылады. Бұл әдіс бойынша зерттелетін ерітіндіні азотты қышқылмен өңдейді.

Ферменттердің белсенділігін анықтау әдістерінің соңғы тобы ***спектрофотометрлік әдістер***. Спектрметрлер деп берілген заттың ерітіндісінің әр түрлі толқын ұзындығындағы (ИК, көрінетін, УК) спектрде жарықты жұтуын зерттеуге мүмкіндік беретін құралдар.

Қорытынды:

Энзимдерді бөліп алу мен тазарту – олардың функционалдық белсенділігін сақтау үшін маңызды кезеңдер. Бұл процестерде шикізатты дұрыс таңдау, жасушаларды тиімді бұзу және энзимдерді жоғары селективтілікпен бөліп алу әдістерін қолдану қажет. Тазарту әдістері – тұндыру, диализ, хроматография және электрофорез – энзимдердің тазалық дәрежесін арттырып, олардың нақты белсенділігін зерттеуге мүмкіндік береді. Энзимдердің белсенділігін анықтау – олардың функционалдық тиімділігін бағалауға мүмкіндік беретін маңызды кезең. Бұл үшін түрлі әдістер (спектрофотометрия, колориметрия, хроматография) қолданылады. Жалпы, энзимдерді бөліп алу, тазарту және белсенділігін анықтау биотехнологияда, медицинада және тағам өнеркәсібінде кеңінен қолданылады. Осы процестердің тиімді жүргізілуі энзимдерді практикалық қолданудың сапасын анықтайды.

Пысықтау сұрақтары:

1. Энзимдерді бөліп алудың негізгі кезеңдері қандай?
2. Энзимдерді бөліп алу барысында қандай әдістер қолданылады?
3. Тазартудың қандай негізгі әдістерін білесіз және олардың принципі қандай?
4. Хроматография әдісі энзимдерді қандай негізде бөледі?
5. Энзимдердің белсенділігін анықтау үшін қандай әдістер қолданылады?
6. Спектрофотометриялық әдіс арқылы энзим белсенділігі қалай өлшенеді?
7. Температура мен рН-тың энзим белсенділігіне әсері қандай?

Дәріс 7

Иммобилизацияланған энзимдер

Дәрістің жоспары:

1. Иммобилизацияланған ферменттердің жалпы сипаттамасы
2. Ферменттерді тасымалдаушылардың классификациясы
3. Физикалық иммобилизация артықшылығы мен кемшілігі
5. Химиялық иммобилизация артықшылығы артықшылығы мен кемшілігі

Дәрістің мақсаты:

Студенттерге иммобилизацияланған ферменттердің мәнін, олардың технологиялық және өнеркәсіптік маңызын түсіндіру. Ферменттерді бекітуге қолданылатын тасымалдаушылардың түрлерін жіктеу мен сипаттау, физикалық және химиялық иммобилизация әдістерінің ерекшеліктерін, артықшылықтары мен кемшіліктерін салыстыра отырып, оларды практикалық қолдану салаларымен байланыстыра түсіндіру.

Ферменттер белоктық сипаттағы заттар болып табылады, сондықтан сақтау кезінде тұрақсыз, сонымен қатар термиялық әсерлерге сезімтал.

Ферменттерді әрекеттесуші заттар мен реакция өнімдерінен бөлу қиындықтарына байланысты қайта пайдалану мүмкін емес.

Иммобилизацияланған ферменттерді құру бұл мәселелерді шешуге көмектеседі.

Иммобилизация – төмен молекулалы лигандтардың, макромолекулалардың, жасушалық органеллалардың немесе жасушалардың белгілі бір тасымалдаушыға фиксациясы.

Иммобилизацияда фермент бетке немесе қатты тіректің ішіне бекітіледі, ашыту аяқталғаннан кейін реакциялық қоспадан оңай алынады. Ферментті қайта пайдалануға болады, бұл процестің құнын айтарлықтай төмендетеді.

Иммобилизацияның артықшылығы - ферменттің рН, температура және еріткіштердің өзгеруімен денатурациялану қабілетін шектеу арқылы тұрақтырақ болады. Мысалы, иммобилизацияланған глюкоза изомеразасы 65 °С температурада бір жыл бойы тұрақты болады, ал ерітіндіде ол бірнеше сағатта 45 °С температурада денатурацияланады.

Иммобилизацияланған ферментті фермент арқылы әрекеттесуші заттарды өткізу және соңғы сатыда өнімді жинау арқылы үздіксіз (ашық) өндіру үшін пайдалануға болады.

Ферменттерді иммобилизациялау тарихы

- 1916 Гриффин Е, Нельсон Дж. белсендірілген көмірге инвертазаны қосу арқылы адсорбцияны жүзеге асырды;

- 1939 Пфанмюллер Дж., Шлейх Г. үгінділерге протеолитикалық ферменттерді қосу арқылы ферменттерді иммобилизациялауға арналған бірінші патент алды;

- 1951 Кэмпбелл целлюлозаға ферментті бекітеді;

- 1953 Грубхофер Н., Шлейт Д. ерімейтін тасымалдаушыға пепсин, амилаза, РНҚазаны қолданған;

- 1969 Жапонияда L-амин қышқылдарының өндірісі жолға қойылды;

- 1970 Weissman J, Sess J қолданбалы липосомалар;

- 1971 АҚШ-та инженерлік энзимология бойынша 1-ші конференция өтті, онда иммобилизацияланған ферменттер термині заңдастырылды;

- 1973 глюкоза-фруктоза сироптарын шығаратын өнеркәсіптік зауыттар іске қосылды.

Иммобилизацияланған ферменттердің артықшылығы

Гетерогенді катализатор реакция ортасынан оңай бөлінеді, бұл кез келген уақытта реакцияны тоқтатуға, ферментті қайта пайдалануға және ферменттен таза өнім алуға мүмкіндік береді.

Иммобилизацияланған ферменттерді пайдаланатын ферментативті процесті катализделген **реакция жылдамдығын және өнім шығымын бақылау арқылы үздіксіз жүргізуге** болады.

Ферменттің модификациясы оның спецификасы (әсіресе макромолекулярлық субстратқа қатысты), каталитикалық белсенділіктің рН, иондық құрам және басқа да қоршаған орта параметрлеріне тәуелділігі, денатурациялық әсерлерге тұрақтылық сияқты қасиеттерін мақсатты түрде өзгертеді.

Жарық, дыбыс сияқты физикалық факторлардың әсері арқылы тасымалдаушы қасиеттерін өзгерту арқылы иммобилизацияланған ферменттердің **каталитикалық белсенділігін реттеуге** болады. Ферменттер ерімейтін тасымалдаушылармен байланысу арқылы да, белок молекулаларының төмен молекулалы екі функционалды қосылыстармен молекулалық немесе молекулааралық айқаспалы байланысы арқылы да, сондай-ақ еритін полимерге қосылу арқылы да иммобилизациялануы мүмкін.

Тасымалдаушыларға келесі талаптар қойылады (Дж. Порат, 1974):

- жоғары химиялық және биологиялық төзімділік;
- жоғары химиялық беріктік;
- фермент пен субстраттар үшін жеткілікті өткізгіштігі, кеуектілігі, үлкен меншікті бетінің ауданы;
- технологиялық қолайлы формалар (түйіршіктер, мембраналар) түрінде алу мүмкіндігі;
- оңай белсендіру;
- жоғары гидрофильділік;
- төмен баға.

Физикалық иммобилизация

- Ерімейтін ортадағы адсорбция.
- Гельдерге енгізу.
- Жартылай өткізгіш бөлікті (мембрананы) пайдаланып ферментті реакция жүйесінің қалған бөлігінен кеңістікте бөлу. Фермент еритін және фазалардың бірінде ғана өмір сүре алатын екі фазалы ортаға ферменттің қосылуы.
- Тасымалдаушы матрицаның бетінде ферменттің физикалық байланысуын қамтиды.
- Тасымалдаушы органикалық немесе бейорганикалық болуы мүмкін.
- Адсорбция процесі Вандер Вааль немесе сутегі байланыстары сияқты әлсіз әрекеттесулерді қамтиды.
- Тасымалдаушылар: кремний диоксиді, бентонит, целлюлоза және т.б.

Химиялық иммобилизация

Коваленттік байланыс ферменттің химиялық тобы мен тасымалдаушы бетіндегі химиялық топтар арасында түзіледі.

- Ковалентті байланыс ***pH, иондық беріктік*** және басқа да кең ауқымды айнымалы жағдайларында қолданылады.

• Иммобилизация қадамдары байланыстырушы агентті бекіту, содан кейін активтендіру процесі немесе функционалды топтың қосылуы және соңында ферменттің қосылуын қамтиды.

• Иммобилизацияда тасымалдаушының әртүрлі түрлері қолданылады, мысалы **көмірсулар ақуыздары** және **амин тасымалдаушылары, бейорганикалық тасымалдаушылар** және т.б.

• Ковалентті байланыстыру ферменттің бетіндегі белгілі бір топқа бағытталуы мүмкін (мысалы, амин, гидроксил, тирозил және т.б.).

• Ферменттердің негізгі байланыс түзетін **топтары - COOH** және – **NH** топтары болып табылады.

Кросс - байланыстыру ферменттің әртүрлі молекулалары арасындағы глутаральдегид сияқты көпфункционалды реагент арқылы коваленттік байланыспен сипатталады.

Кросс - байланыстыру қатты тірек болған/болмаған кезде фермент молекулаларының молекулааралық айқаспалы байланысын қамтиды.

Бұл әдіс фермент молекулаларымен ковалентті байланысатын көпфункционалды реагенттің көмегімен 3 өлшемді **кросс** байланысқан фермент агрегатын (суда ерімейтін) шығарады.

Кросс-байланыстырудың артықшылықтары:

1. Өте аз десорбция (фермент қатты байланысқан)
2. Жоғары тұрақтылық (яғни *pH*, *ион және субстрат концентрациясы*)

Кросс-байланыстырудың кемшіліктері:

1. Кросс байланыстыру белсенді орталықта айтарлықтай өзгерістерге әкелуі мүмкін.
2. Үнемді емес.

Қорытынды:

Иммобилизация – ферменттерді қатты тасымалдаушы бетіне бекітіп, олардың ерімелі күйден бөлінбейтін күйге өтуі. Бұл әдіс ферменттердің тұрақтылығын арттырып, оларды бірнеше рет қолдануға мүмкіндік береді. Өнеркәсіпте, медицинада, биотехнологияда кең қолданыс табуда. Тасымалдаушылар органикалық (мысалы, агароза, декстран), бейорганикалық (шыны, кремний, алюмосиликаттар) және полимерлі материалдар болуы мүмкін. Таңдау ферменттің табиғаты мен қолдану саласына байланысты. Физикалық әдісте ферменттер тасымалдаушы бетіне физикалық күштер (сорбция, тұтылу, инкапсуляция) арқылы бекітіледі. Артықшылығы – жұмсақ жағдайларда жүргізіледі, кемшілігі – ферменттердің ағып кету қаупі жоғары. Химиялық иммобилизация фермент пен тасымалдаушы арасында ковалентті байланыс түзу арқылы жүргізіледі. Бұл әдіс тұрақты, ферменттің көп реттік қолдануына мүмкіндік береді. Бірақ белсенді орталық зақымдалмауы үшін реакция шарттары мұқият таңдалуы тиіс.

Пысықтау сұрақтары:

1. Иммобилизацияланған ферменттердің қандай артықшылықтары бар? Иммобилизация фермент белсенділігіне қалай әсер етеді?
2. Органикалық және бейорганикалық тасымалдаушылардың айырмашылығы неде?
3. Инкапсуляция және сорбция әдістерінің айырмашылығы қандай? Физикалық иммобилизацияның артықшылықтары мен кемшіліктері қандай?
4. Химиялық иммобилизацияда фермент пен тасымалдаушы арасында қандай байланыс түзіледі?
5. Бұл әдістің артықшылықтары мен тәуекелдері қандай?
6. Химиялық иммобилизация кезінде фермент белсенділігіне қандай қауіп төнеді?

Дәріс 8

Энзимдердің жалпы тағам өнеркәсібіндегі маңыздылығы

Дәрістің жоспары:

1. Амилолитикалық ферменттер
2. Протеолитикалық ферменттер
3. Цитрустық жемістерде кездесетін ферменттер
4. Жасыл өсімдіктерде кездесетін ферменттер

Дәрістің мақсаты:

Студенттерге әртүрлі ферменттік топтардың — амилолитикалық, протеолитикалық, цитрустық жемістер мен жасыл өсімдіктерде кездесетін ферменттердің құрылымы, қасиеттері және олардың биологиялық қызметі туралы білім беру. Аталған ферменттердің тағам және ауыл шаруашылығы салаларындағы практикалық маңызын түсіндіру.

Ферменттерді тамақ өнеркәсібінде қолдану

Ферменттердің тамақ өнеркәсібінде қолдану аясы кең, олардың әрқайсысы өнімнің сапасын жақсарту және тұтынушыларға тартымдылығын арттыру үшін бірегей мақсатқа қызмет етеді.

Амилолитикалық және протеолитикалық ферменттер — бұл тамақ өнеркәсібінде қолданылатын екі маңызды ферменттік топ. Олардың әрқайсысының өзіндік ерекшеліктері мен функциялары бар.

Амилолитикалық ферменттер крахмалды ыдырататын ферменттер болып табылады. Олар крахмалды глюкоза мен басқа да қанттарға айналдырады. Бұл ферменттер негізінен амилоза мен глюкоамилаза сияқты ферменттерден тұрады.

Протеолитикалық ферменттер белоктарды пептидтер мен амин қышқылдарына ыдырататын ферменттер болып табылады. Олар

протеиндердің (белоктардың) химиялық құрылымын өзгертіп, оны организмдер үшін пайдалы заттарға айналдырады.

Амилолитикалық ферменттердің қызметі мен қолданылуы:

Амилаза

- Қызметі: Крахмалды ыдыратып, оның молекулаларын қанттарға (мысалы, глюкоза) айналдырады.

- Қолданылуы: Нан пісіру: Қамырдың көтерілуін қамтамасыз етеді, өйткені ол крахмалды қанттарға айналдырады, олар тағамның көтерілуіне қажетті энергияны береді.

Сыра өндірісі: Крахмалды ферментацияға арналған қанттарға айналдырып, спирт өндірісін жеңілдетеді.

Тәттілер және сусындар өндірісі: Глюкоза және фруктоза алу үшін қолданылады.

Алкогольді сусындарды өндіру

Алкогольді ішімдіктерді өндіруде де ферменттер пайдаланылады. Крахмал – дәнді шикізаттың құрғақ затының негізгі құрамдас бөлігі болып табылады, бірақ ол ашытқы арқылы ашытуға тікелей ұшырамайды.

Алкогольді сусындарды өндіруде қолданылатын негізгі ферменттер: Крахмалды өңдеуге және ашытуға арналған ферменттер.

- ***Cellolux*** – сусланың ашытуын жеделдету үшін қолданылатын сұйық фермент. Оны арпа мен қара бидайдан жасалған суслаға олардың тұтқырлығын төмендету және ашыту үдерісін жылдамдату үшін қосады.

- ***GlukoLux-A (13000 дана/мл)*** – спирт өндіруге арналған фермент. Самогондағы дистиллят алу, ликерлер, арақ және басқа да алкогольді өнімдерді өндіру үшін қолданылады.

- ***AmyloLux ATS (термотұрақты)*** – спирт өндіруге арналған фермент. Табиғи нәруыздар кешені арқылы ұн мен крахмалдан жасалған ерітінділердің тұтқырлығын төмендетеді.

Протеолитикалық ферменттер: Протеолитикалық ферменттер белоктарды пептидтер мен амин қышқылдарына ыдырататын ферменттер болып табылады. Олар протеиндердің (белоктардың) химиялық құрылымын өзгертіп, оны организмдер үшін пайдалы заттарға айналдырады.

Протеолитикалық ферменттердің қызметі мен қолданылуы:

Пепсин

- Қызметі: Белоктарды пептидтер мен амин қышқылдарына ыдырататын фермент.

- Қолданылуы:

- Ірімшік жасау: Сүтте белокты ыдыратып, ірімшіктің түзілуін қамтамасыз етеді.

- Сүт өнімдері: Сүтті ферменттеу процесінде белокты ыдырату үшін қолданылады.

- Кондитерлік өнімдер: Пепсин кейбір кондитерлік өнімдерде де қолданылуы мүмкін.

Трипсин

- Қызметі: Белоктарды амин қышқылдарына ыдырататын фермент.

- Қолданылуы: - Ет өнімдері: Еттің жұмсақтығын арттыру үшін қолданады.

- Консервілеу: Ет пен басқа да өнімдерді консервілеу үшін трипсин пайдаланылады.

Бромелайн:

- Қызметі: Ананас құрамындағы фермент, ол протеиндерді ыдыратып, еттің жұмсақтығын арттыруға көмектеседі.

Ет және балық өнімдерін өңдеу

Ферменттік препараттар ет пен балықты өңдеуде де қолданылады. Олар ұлпаларда спецификалық биологиялық белсенді компоненттерді: органикалық қышқылдарды, бактериоциндерді, ферменттерді, витаминдерді өндіруге мүмкіндік береді, сол арқылы дайын өнімнің санитарлық-микробиологиялық және органолептикалық көрсеткіштерін жақсартады. Ферменттер ет сапасын жақсартуға және шикізатты өңдеу дәрежесін арттыруға көмектеседі. Заманауи технологиялардың арқасында ферменттік препараттарды қолдану аясы кеңейіп келеді. Ферменттерді қолдану өнімнің сапасын жақсартады, бұл өнімнің шығымдылығын арттырады, өндіріс шығындарын азайтады және өндіріс шығындарын азайтады.

Жемістердегі ферменттер

Цитрус жемістерінде полигалактурон қышқылының полиметилэфирлерін тез гидролиздейтін метилэстераза сияқты пектолитикалық ферменттер бар. Жемістердің әртүрлі бөліктеріндегі ферменттің белсенділігі бірдей емес. Зерттелген үлгілердің 70% қабықта ең жоғары белсенділік байқалған. Жасыл өсімдіктер құрамында да амилаза, липаза, протеаза, инвертаза, мирониаза ферменттері кездеседі.

Қорытынды:

Энзимдер тағам өнеркәсібінде маңызды биокатализаторлар ретінде кеңінен қолданылады. Олар өндірістік процестердің тиімділігін арттырып, энергияны үнемдеуге, өнім сапасын жақсартуға және өндіріс уақытын қысқартуға мүмкіндік береді. Мысалы, нан пісіруде – камырдың ашуын жылдамдатып, құрылымын жақсартады; сүт өнімдерінде – лактозаны ыдыратып, қорытуды жеңілдетеді; шырын өндірісінде – тұндыру мен тазалауды жеңілдетеді. Сонымен қатар, энзимдер экологиялық қауіпсіз, себебі олар улы емес және табиғи жолмен ыдырайды. Қорыта айтқанда, энзимдер – тағам өндірісінің заманауи, экологиялық және экономикалық тиімді технологияларының негізі.

Пысықтау сұрақтары:

1. Амилолитикалық ферменттер қандай қосылыстарды ыдыратады?
2. Амилолитикалық ферменттер қай салаларда қолданылады?
3. Протеолитикалық ферменттер қандай молекулаларға әсер етеді?
4. Протеолитикалық ферменттер тағам өндірісінде қалай пайдаланылады?
5. Цитрустық жемістерде қандай ферменттер кездеседі?
6. Жасыл өсімдіктерде қандай негізгі ферменттер болады?
7. Жасыл өсімдіктердегі ферменттер өсімдік тіршілігіне қалай әсер етеді?

Дәріс 9

Жалпы тағам өндірістерінде ферменттерді қолданудағы мәселелер

Дәрістің жоспары:

1. Ферменттердің тағам өнеркәсібіндегі рөлі
2. Ферменттерді қолданудағы артықшылықтары
3. Ферменттерді қолданудағы кемшіліктері

Дәрістің мақсаты:

Студенттерге ферменттердің тағам өнеркәсібінде алатын орны мен маңызын түсіндіру, олардың технологиялық процестердегі рөлін ашу. Сонымен қатар ферменттерді қолданудың артықшылықтары мен шектеулерін талдау арқылы бұл биокатализаторлардың өндірістегі тиімділігі мен мүмкін болатын кемшіліктері туралы толыққанды мәлімет беру.

Ферменттердің рөлі тағам өнеркәсібінде:

Қолданылу салалары: нан пісіру, сүт өнімдерін өндіру, ет өңдеу, шырындар мен сусындар өндірісі, тағам қоспаларын жасау.

Ферменттердің маңызды функциялары: тағамның дәмін жақсарту, текстурасын өзгерту, қоректік заттардың сіңуін арттыру.

Ферменттерді қолданудың артықшылықтары:

Қоректік құндылықты арттыру: Ферменттер ас қорыту процесін жеңілдетеді, аминқышқылдары мен витаминдерді босатады.

Тұтынушылардың сұранысына сай өнімдер жасау: Жоғары сапалы өнімдер өндірісі.

Уақытты үнемдеу және өндіріс шығындарын азайту: Өнімді өңдеуді жылдамдату.

Ферменттерді қолданудағы негізгі мәселелер

Ферменттердің тұрақсыздығы

- - Көптеген ферменттер жоғары температура мен қышқылдыққа сезімтал, бұл олардың әсерін азайтады.
- - Ұзақ сақталуы немесе дұрыс сақталмауы ферменттердің белсенділігін төмендетуі мүмкін.

Жоғары баға мен өндіріс шығындары

- Көптеген ферменттер жоғары бағамен сатылады, бұл оларды қолданудың экономикалық тиімділігін төмендетеді.
- Өндірушілер ферменттерге жұмсалатын шығындарды азайту үшін өндірістік технологияларды жақсартуға тырысады.

Қолдану талаптарының күрделілігі

- Әрбір фермент белгілі бір жағдайларда ғана тиімді жұмыс істейді: температура, рН деңгейі, ылғалдылық.
- Көптеген ферменттер тек арнайы шарттарда ғана белсенді болады, бұл ферменттерді дұрыс қолдануды талап етеді.

Өндіріс кезінде ферменттердің тиімділігін бақылау

Ферменттердің тиімділігін бақылау өте маңызды. Олар әртүрлі өндіріс жағдайларында (температура, ылғалдық, рН деңгейі) өзгереді. Қазіргі кезде ферменттердің белсенділігін оңтайландыруға арналған әдістер жетілдірілуде.

Автоматтандырылған бақылау жүйелері ферменттердің тиімділігін бақылауға арналған құралдар мен технологияларды енгізу, өндірістің әр кезеңінде ферменттердің дұрыс қолданылуын қамтамасыз етуге мүмкіндік береді.

Ферменттердің өнімге әсері

- Дәм және текстура: Ферменттер тағам өнімдерінің дәміне және текстурасына әсер етуі мүмкін. Мысалы, сүт ферменттері сүт өнімдерінің құрылымын өзгерте алады, ал нан пісіру кезінде ферменттер нанның көлемі мен жұмсақтығын реттейді.
- Қалыпты қолданылса да, кейбір ферменттер өнімнің табиғи дәмін өзгертіп, тұтынушылардың таңдауына теріс әсер етуі мүмкін.
- Ферменттерді басқа химиялық заттармен бірге қолдану: Тағамның басқа қоспаларымен біріктірілген ферменттер өнімнің сапасына әсер етуі мүмкін, мысалы, консерванттар мен антибиотиктер.

Ферменттердің тағам өнімдерінің қауіпсіздігіне әсері

- *Ферменттер мен аллергиялар*: Кейбір ферменттер аллергиялық реакциялар тудыруы мүмкін. Мысалы, пшеницаның протеазалары немесе

сүт ферменттері аллергиялық реакцияларды тудыруы мүмкін, сондықтан ферменттерді қолдану кезінде олардың қауіпсіздігі тексерілуі тиіс.

- *Ферменттер мен қышқылдар*: Ферменттермен өңделген өнімдердің құрамында қышқылдар болуы мүмкін, олар асқазан проблемалары бар тұтынушылар үшін зиянды болуы мүмкін.

- *Ферменттерді сақтаудың қауіпсіздігі*: Кейбір ферменттерге сақтау кезінде ерекше шарттар қажет (мысалы, температура мен ылғалдылық), себебі олар адам денсаулығына қауіпті болуы мүмкін.

Қорытынды:

Ферменттерді қолданудың артықшылықтары мен кемшіліктері: Бұл мәселелерді шешу үшін ферменттерді тиімді қолдану, жаңа ферменттерді дамыту және дұрыс сақтау шарттарын қамтамасыз ету қажет. Сонымен қатар, экологиялық және этикалық аспектілерді ескерген жөн. Болашақта ферменттерді қолдану: Алдағы уақытта ферменттерді қолдану мүмкіндіктері тек ғылыми және өндірістік технологиялардың дамуына ғана емес, сонымен қатар тұтынушылардың талаптарына да байланысты өзгеретін болады.

Пысықтау сұрақтары:

1. Ферменттер тағам өндірісінің қандай салаларында қолданылады?
2. Ферменттерді қолдану тағам өндірісінің тиімділігін қалай арттырады?
3. Иммобилизацияланған ферменттер қандай артықшылықтар береді?
4. Ферменттік процестердің экономикалық кемшіліктері қандай?
5. Ферменттерді қолдану кезінде қандай технологиялық қиындықтар кездеседі?
6. Ферменттерді қолданудың болашақтағы шешімдері қандай?

Дәріс 10

Ауыл-шаруашылығында қолданылатын фермент препараттары

Дәрістің жоспары:

1. Ауыл шаруашылығында ферменттерді қолданудың маңыздылығы
2. Ферменттерді өсімдік шаруашылығында қолдану
3. Ферменттерді жануарлар шаруашылығында қолдану
4. Ферменттік биопрепараттардың артықшылықтары

Дәрістің мақсаты:

Студенттерге ферменттердің ауыл шаруашылығындағы қолдану аясын, маңыздылығын және тиімділігін түсіндіру. Өсімдік және жануарлар шаруашылығында ферменттердің рөлін ашу арқылы олардың өнім сапасын

арттыру, қоректік заттардың сіңімділігін жақсарту және биотехнологиялық процестерді оңтайландырудағы артықшылықтарын көрсету.

Қазіргі күнде 6000-ға жуық ферменттер белгілі. Бұның ішінде 150 кристалды (гомогенді, таза) түрде шығарылып, 300 түрі үлкен масштабы өндіріс жолға қойылған. Мысалы, Жапонияда жылына 55-60 мың тонна ферменттер шығарылады, оның ішінде 38% ауыл шаруашылықта, 26% тағам өндірісінде, 23% техника өндірісінде және т.б. пайдаланылады. АҚШ-та 20 шақты фирмалар жылына 30-35 мың тонна ферменттік препараттарды өндіреді. Өндірістік масштабқа байланысты ферменттер антибиотиктер мен аминқышқылдардан кейінгі үшінші орында.

1. Тағам өндірісінде гликозидазалар кондитерлік өнімдер, жеміс және көкөніс шырындарын шығару өндірісінде қолданылады.

2. Ауыл шаруашылығында ферменттерді жем қоспалары ретінде амилосубтилин, протосубтилин, глюкамоварин, амилоризин қолданылады. Протеолитикалық ферменттер етті, ет өнімдерін, балықты жұмсарту үшін қолданады.

Биологиялық препараттардың өндірістік жағдайда алынатын түрі — мал азықтық ашытқылар басқа микробтар пайдалана алмайтын көмірсутектердің (мұнай өнімдері) күрделі қосылыстарымен қоректеніп, қоршаған ортада белоктың жиналуына көмектеседі, яғни олар ағза үшін жетіспейтін азот қосылыстарының (амин қышқылдары) көбеюін қамтамасыз етеді.

Фитобактериомицин (Fitobakteriomicin) препараты басқаша, - Фитолавин деп аталады. Фунгицидтер тобына кіреді, яғни фунгицидтердің қолданыстағы заттары.

Химиялық класс: биологиялық пестицидтер, бактериялық фунгицидтер

Препарат формасы: БА-120000 ЕА/мл, 32 г/л

Ену тәсілі: Түйіспелі пестицид, жүйелі пестицид

Организмдегі күйі: Пестицид, фунгицид, иммундаушы фунгицид

Қолдану тәсілдері: (пестицидтермен) өсімдіктерді (тұқымды дәрілеу) тұқымдықтың өңдеуі, бүрку, суару.

Сондай-ақ, микроорганизмдерден алынатын **фитобактериомицин биологиялық препараттары** өсімдіктердің бактериялық ауруларына қарсы қолданылады.

Бацитрацин (Bacitracin) - *Bacillus subtilis* штамдарының негізінде жасалған препарат, микроорганизмдер тобына қарсы, соның ішінде саңырауқұлақтарға қарсы қолданылады. Өсімдіктердің (саңырауқұлақтардың) түк басуының алдын алады.

Бацитрацин аморфты ұнтақ (порошок), сумен спиртке ериді, эфир майында ерімейді, молекулалық құрылымы 10 аминокислоттан тұрады: L-изолейцин, L-лейцин, D-фенилаланин, L-цистеин, L- и D-аспарагиновая кислота, D-глутаминовая кислота, L-гистидин, L-лизин и D-орнитин.

Сатылымдағы аты: цикатрин (Cicatrín), полибактрин (Polybactrin).

Сонымен қатар, сібір жібек құртын, бау бақша өсімдіктерін, жүзімді бүлдіретін зиянкес жәндіктерге індет туғызушы микроағзаларға қарсы биологиялық препараттар алынды:

- 1) Энтобактерин
- 2) Дендробациллин
- 3) Битоксибациллин
- 4) Инмектин
- 5) Боверин
- 6) Энтобактерин химиялық әсері жоқ, микробиологиялық препарат болып табылады. Энтобактерин насекомдардың 50 дей түріне қарсы қолданылады. Ұнтақ күйінде кездеседі. Ашық көгілдір түсті. Споралы бактерия *Bacillus thuringiensis* var. негізінде жасалады.

- 7) Дендробациллин биопрепарат, құрғақ ұнтақ. Сұрлау қызғылт түсті, адам мен жылы қандылар үшін зиянсыз.

Қорытынды:

Биотехнологиялық өндірісте пайдаланылатын жүздеген ферменттердің 20-дан астамы іске жарамды және барлық шығарылатын ферменттердің көлемінің 90%-ын ауыл шаруашылығында қолданады. Ауыл шаруашылығында қолданылатын фермент препараттарының маңызы түрлі өсімдік ауруларының алдын алу, өсімдіктердің дұрыс қалыптасуына септігін тигізеді. Биологиялық препараттардың құндылығы — олар химиялық препараттармен салыстырғанда, қоршаған ортаға ешбір зиянын тигізбейді.

Пысықтау сұрақтары:

1. Ауыл шаруашылығында жиі қолданылатын ферменттерге қандай түрлер жатады?
2. Жануарлар азығына ферменттер қосу қандай артықшылықтар береді?
3. Ферменттер өсімдік шаруашылығында қандай мақсатта қолданылады?
4. Ферменттік препараттарды қолдануда қандай қиындықтар туындауы мүмкін?
5. Ферменттердің тиімді жұмыс істеуі үшін қандай факторлар маңызды?
6. Ауыл шаруашылығында ферменттерді қолданудың экологиялық тиімділігі қандай?

Пайдаланылған әдебиеттер:

1. Қоқанбаев Ә.Қ., Тюсюпова Б.Б., Тәжібаева С.М., Мұсабеков Қ.Б. Химиялық энзимология негіздері: оқу құралы /.—Алматы: Қазақ университеті, 2016 ж. С. 376. ISBN 978-601-04-1921-6.
2. Duncan J. Show. Introduction to colloid and surface chemistry 4th, 2003. - 306 p.

3. Shchukin E.D., Pertsov A.V., Amelina E.A., Zelenev A.Z. Colloid and surface chemistry. Elsevier, 2001. – P. 747
4. Клесов А.А. ферментативный катализ. –М. Издво МГУ, 1984.
5. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия.-М.: просвещение, 1987. – С. 304.
6. Келети Т. Основы ферментативной кинетики. Пер. с англ. –М.: Мир, 1990. – С. 350.
7. Варфоломеев С.Д. Химическая энзимология. –М.: академия,2005. – С. 471.
8. Яковлев В.Л. Кинетика ферментативного катализа. –М.: Наука, 1965. – С. 298.