

# **Исследование влияния ТОКСИКАНТОВ на активность ферментов на примере уреазы**

**Работу выполнила Шульгина Дарья,  
ученица 8 класса Б  
МСОШ № 3**

**Руководитель: ПУЗЫРЁВА М.Д., учитель химии МСОШ № 3**

**Магдагачи, 2008 г.**

# Введение

Наша работа посвящается изучению влияния различных антропогенных факторов на живой организм, в частности на белки, в том числе и на ферменты. Уреаза - (от новолат. urea - мочевина), карбамид-амидогидролаза, фермент класса гидролаз. Уреаза играет важную роль в круговороте азота  $N_2$  в природе, разлагая выделяемую животными мочевины на углекислый газ  $CO_2$  и аммиак  $NH_3$ . Последний используется почвенными бактериями для биосинтеза белка.

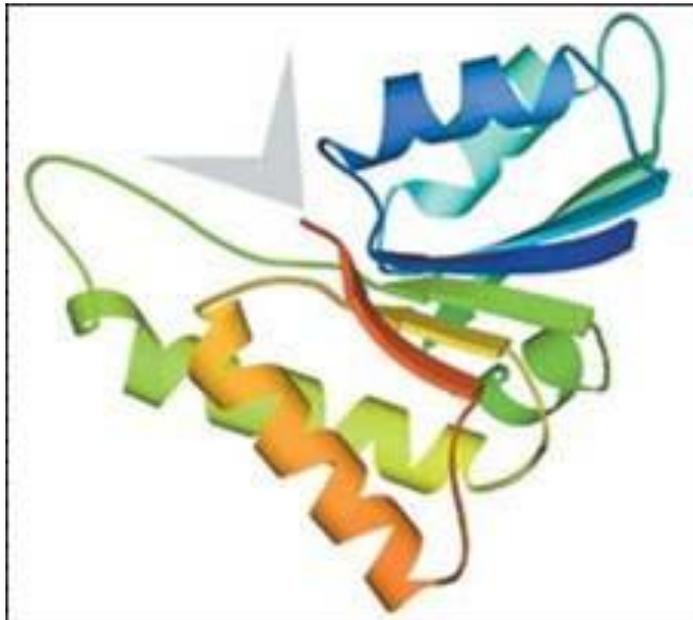
Поступая в биосферу, тяжелые металлы активно включаются в различные миграционные циклы эко- и геосистем и представляют потенциальную опасность для всего живого.

Свинец и все его соединения ядовиты. Попадая в клетки, свинец, как и многие другие тяжелые металлы, дезактивирует ферменты. Кадмий считается токсичнее свинца и отнесен Всемирной организацией здравоохранения к числу наиболее опасных для человека веществ. Не менее опасны эти металлы и для растений.

Фенольные соединения представляют особую опасность для окружающей среды из-за широкой распространенности, высокой концентрации и токсичности.

# Проблема данного исследования

Проблема данного исследования заключается в определении влияния токсикантов на ферменты, а также определение минимальной концентрации токсиканта, при которой не происходит ингибирование фермента



## **Объект исследования**

**Объектом исследования является фермент уреазы, извлеченный из арбузных семечек и семечек кабачка.**

## **Цель исследования**

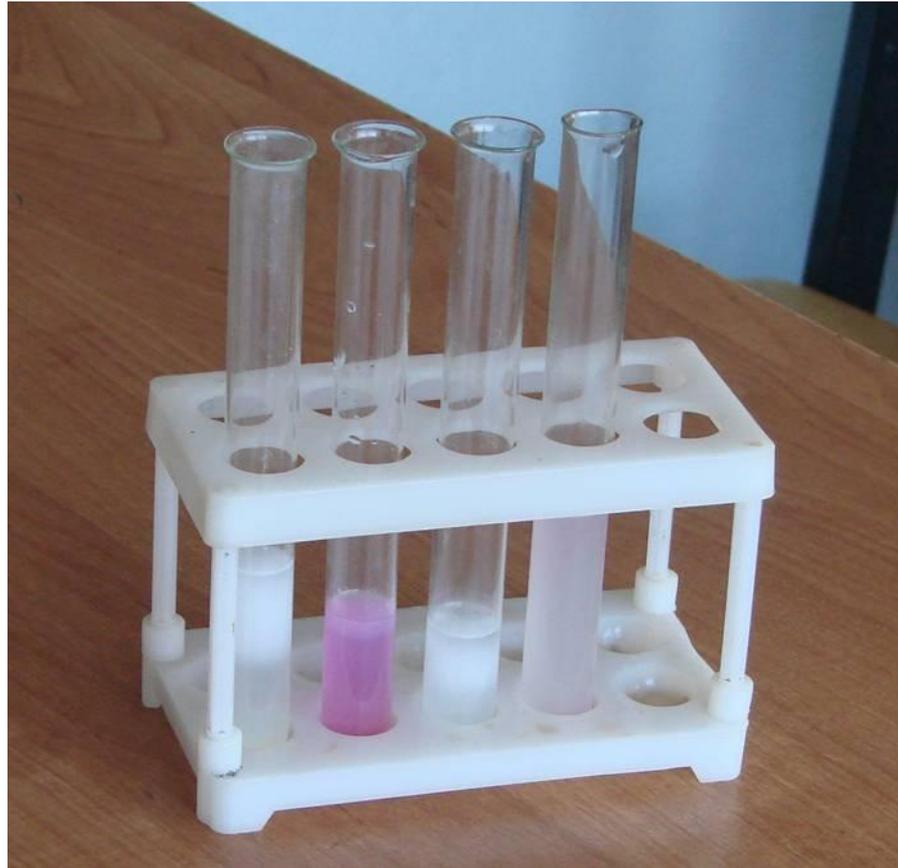
**Определить влияние солей тяжелых металлов и фенола на активность ферментов на примере фермента уреазы.**

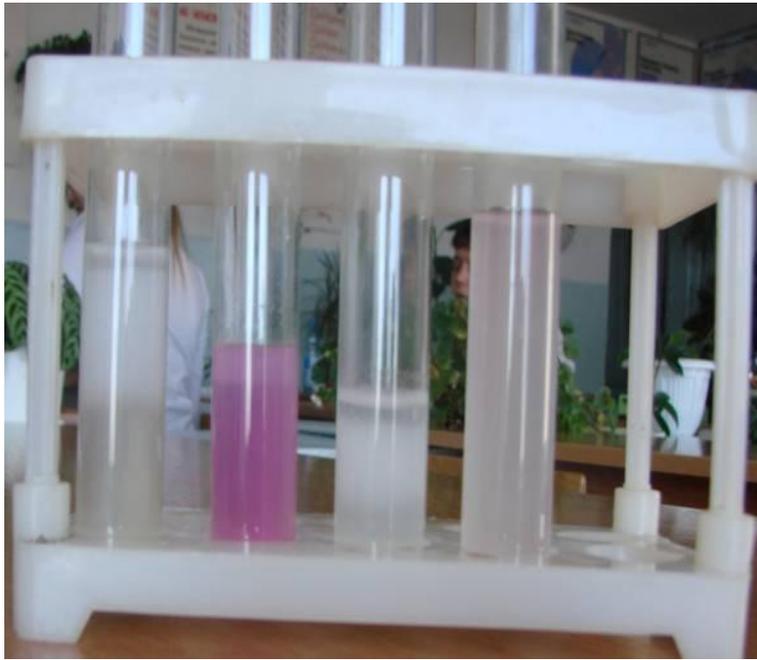
# Задачи исследования

- выделить фермент уреазу из арбузных семечек и семечек кабачка;
- проверить активность выделенного фермента методом тестирования выделяющегося аммиака фенолфталеином;
- выявить влияние солей тяжёлых металлов (ацетата свинца  $Pb(CH_3COO)_2$  и нитрата кадмия  $Cd(NO_3)_2$ ) на активность уреазы;
- выявить влияние фенола на активность уреазы;
- определить минимальную концентрацию ацетата свинца, нитрата кадмия и фенола, при которых не происходит ингибирование фермента уреазы.

# Метод определения активности уреазы

Метод определения активности уреазы основан на тестировании выделяющегося аммиака фенолфталеином. Наглядность данного опыта обеспечивается быстрым появлением интенсивной розовой окраски индикатора.





**Для проведения эксперимента использовала уреазу арбузных семечек. В них активность этого фермента сохраняется в течение трех лет. Также были взяты семечки кабачка, в них активность уреазы сохраняется в течение одного года. Очистила 3-4 арбузных семечка от кожуры и растерла ядра в ступке с 10 мл воды.**

**Полученный экстракт слила в пробирку и использовала для проведения опытов.**

**Для определения активности уреазы в арбузных семечках взяла 2 мл суспензии ферментативного препарата, добавила 1 мл воды, встряхнула и добавила 2 мл раствора мочевины. Затем в пробирку добавила 2-3 капли спиртового раствора фенолфталеина, оставила при комнатной температуре на 3-5 мин. Появление малиново-розовой окраски указало на наличие в семечках активной уреазы.**

## **Изучение влияния солей тяжелых металлов на активность уреазы.**

**В качестве токсиканта использовала растворы ацетата свинца  $Pb(CH_3COO)_2$  и нитрата кадмия  $Cd(NO_3)_2$  в различных концентрациях ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  моль/л). Опыт проводила по методике, предложенной выше.**

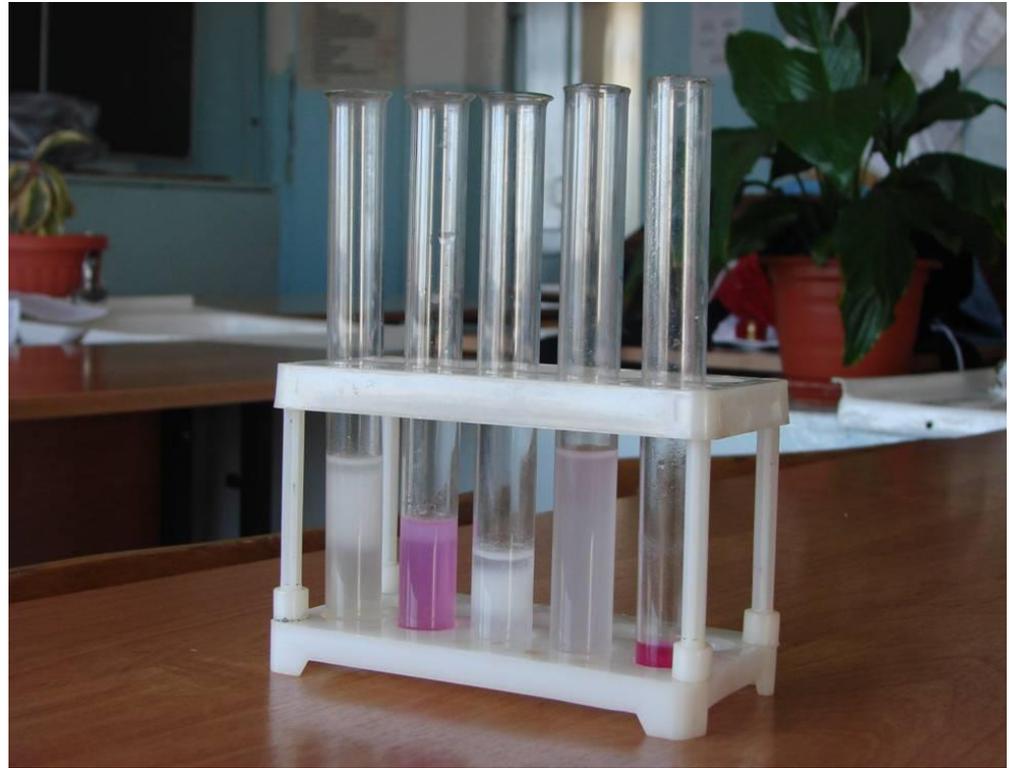
## **Изучение влияния фенола на активность уреазы.**

**Для проведения опыта приготовила 0,5 М раствор фенола. Для этого 4,7 г фенола разбавила 10 мл воды. Исследование влияния фенола различных концентраций ( $0,5$ ;  $10^{-1}$ ;  $10^{-2}$ ;  $10^{-3}$  моль/л) проводила с добавлением разных объемов исходного раствора фенола (0,5 моль/л) в опытные пробирки. В контрольную пробирку - 1 мл воды.**

# Результаты исследований

1. Исследование арбузных семечек показало наличие в них фермента уреазы. Активность фермента была высокой, так как малиново-розовая окраска появилась через 1 минуту.

2. Исследование кабачковых семечек показало наличие в них фермента уреазы, активность фермента была высокой, так как малиново-розовая окраска появилась через 2 минуты.



## 2. Изучение влияния солей тяжелых металлов на активность уреазы показало следующие результаты:

Концентрация токсиканта	Нитрат кадмия $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$	Ацетат свинца $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	Контрольная проба
$10^{-1}$ моль/л	—	—	+
$10^{-2}$ моль/л	—	—	+
$10^{-3}$ моль/л	—	—	+
$10^{-4}$ моль/л	+	+	+

+

—

— - появляется розовая окраска, реагент не ингибирует фермент

— - розовая окраска не появляется, реагент ингибирует фермент

#### 4. Изучение влияния фенола на активность уреазы показало следующие результаты:

Концентрация токсиканта	Фенол	Контрольная проба
0,5 моль/л	—	+
$10^{-1}$ моль/л	—	+
$10^{-2}$ моль/л	—	+
$10^{-3}$ моль/л	+	+

- +
- 
- появляется розовая окраска, реагент не ингибирует фермент
- розовая окраска не появляется, реагент ингибирует фермент

# Выводы

- 1. Фермент уреазы, биологический катализатор разложения мочевины на аммиак и углекислый газ, содержится в семенах арбузов и кабачков.**
- 2. Метод тестирования выделяющегося аммиака фенолфталеином при разложении мочевины подтвердил активность фермента уреазы в исследуемых образцах.**
- 3. Соли тяжелых металлов (нитрат кадмия и ацетат свинца) подавляют активность уреазы (ингибируют фермент) даже в самых небольших концентрациях.**
- 4. Фенол подавляет активность уреазы (ингибирует фермент) даже в самых небольших концентрациях.**

# Выводы

5. Минимальная концентрация ацетата свинца, при которой не происходит подавление активности уреазы (ингибирования фермента), равна  $10^{-4}$  моль/литр.
6. Минимальная концентрация нитрата кадмия, при которой не происходит подавление активности уреазы (ингибирования фермента), равна  $10^{-4}$  моль/литр.
7. Минимальная концентрация фенола, при которой не происходит подавление активности уреазы (ингибирования фермента), равна  $10^{-3}$  моль/литр.

# Благодарю за внимание

