

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.

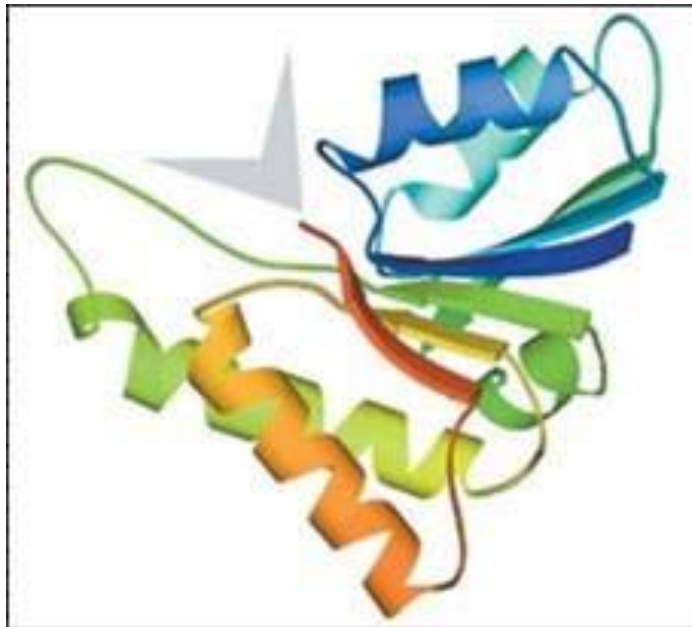
Поступая в биосферу, тяжелые металлы активно включаются в различные миграционные циклы эко- и геосистем и представляют потенциальную опасность для всего живого.

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

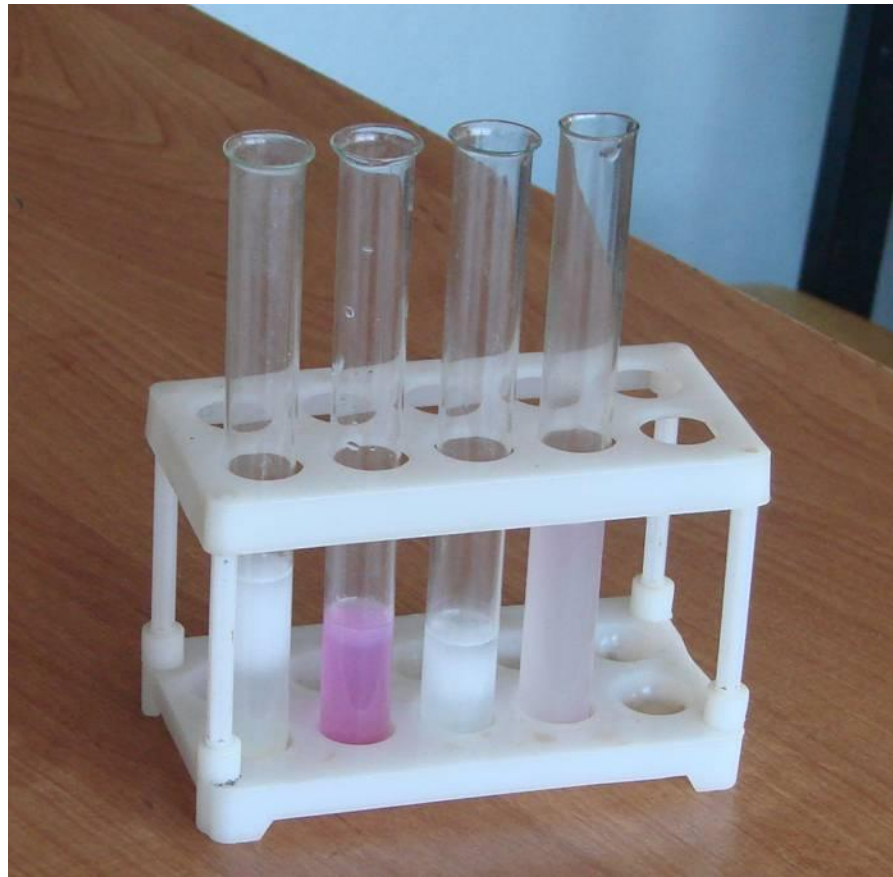
Определить влияние солей тяжелых металлов и фенола на активность ферментов на примере фермента уреазы.

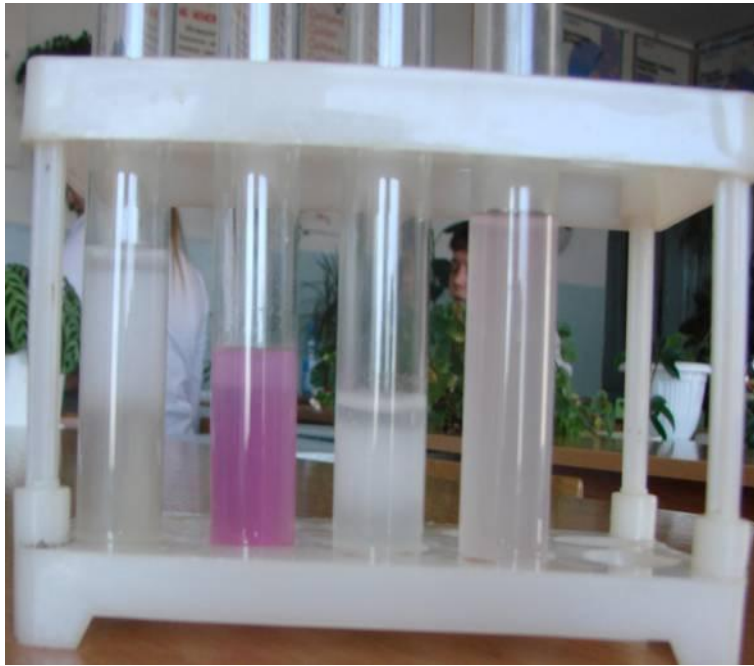
Задачи исследования

- 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.

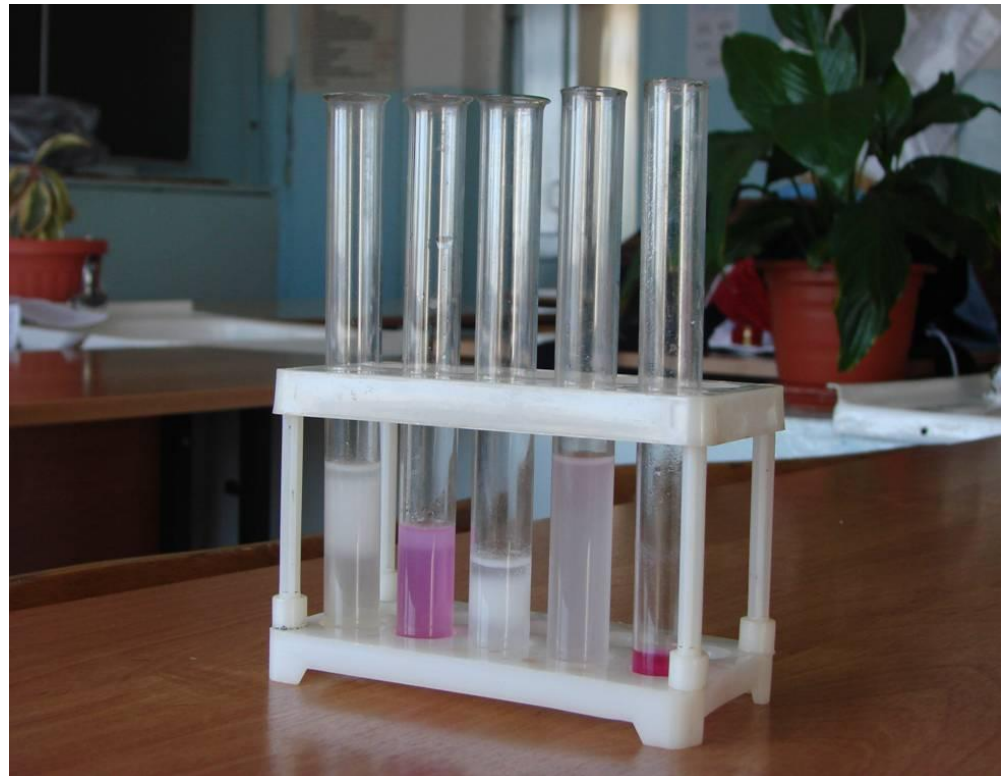
Изучение влияния фенола на активность уреазы.

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

