

при значении  $\Delta H^0 = -40,50$  кДж/моль по базовой технологии. Возрастание энтропии для полифункциональных красителей достигает 0,35 кДж/моль·К и бифункциональных - 0,16 кДж/моль·К.

Повышение значения средства активных би- и полифункциональных красителей до 2 кДж/моль наблюдается при введении в состав красильного раствора органических растворителей R.1 и R.2. Значение теплового эффекта для полифункциональных красителей в случае применения R.1 и R.2 составляет -65,69 кДж/моль и -53,01 кДж/моль соответственно. Для бифункциональных активных красителей  $\Delta H^0 = -68,10$  кДж/моль при введении R.1 и  $\Delta H^0 = -66,99$  кДж/моль при добавлении R.2.

При этом обеспечивается незначительное увеличение показателя энтропии красильной системы.

### Выводы

Таким образом, в ходе экспериментальных исследований установлено, что применение интенсификаторов процесса крашения способствует повышению средства красителя к волокну и оказывает значительное влияние на термодинамические характеристики красильных систем.

### Литература

1. Мельников, Б.Н. Лабораторный практикум по применению красителей [Текст] / Б.Н. Мельников // - М.: Легкая индустрия, 1972.- 246 с.
2. Беленький, Л.И. Технологические расчеты в химической технологии волокнистых материалов [Текст]/ Л.И. Беленький/ - М.: Высшая школа, 1985.- 240 с.
3. Корчагин, М.В. Лабораторный практикум по химической технологии волокнистых материалов. Учеб. пособие для студентов вузов текстильной промышленности [Текст] /М. В. Корчагин, Н. М. Соколова, И. А. Шиканова и др.// - М.: «Легкая индустрия», 1976. - 352 с.
4. Мельников, Б.Н. Теоретические основы технологии крашения волокнистых материалов [Текст]/ Б.Н. Мельников, И.Б. Блиничева // - М.: Легкая индустрия, 1978.- 304с.
5. Челая, Н.Е. Сродство красителей к волокну как оценка эффективности крашения [Текст]/ Н.Е. Челая, В.В.Сафонов// Журн. Текстильная промышленность.- 2004.-№6.- С. 30-31.
6. Кричевский, Г.Е. Диффузия и сорбция в процессах крашения и печатания [Текст] / Г.Е. Кричевский // - М.: Легкая индустрия, 1981.-208 с.

*В статті представлені данні по впливу технологічних умов на такі властивості ферментів різної каталітичної природи, як активність і специфічність дії, термолабільність, залежність від рН середовища, присутності активаторів та інгібіторів*  
**Ключові слова:** ферменти, активність, специфічність, термолабільність

*В статье представлены данные по влиянию технологических условий на такие свойства ферментов различной каталитической природы, как активность и специфичность действия, термолабильность, зависимость от рН среды, присутствия активаторов и ингибиторов*

**Ключевые слова:** ферменты, активность, специфичность, термолабильность

*The data about an influence of technological conditions on such properties of enzymes of the various catalytic nature, as activity and specificity of action, thermolability, dependence on pH environment, presence of activators and inhibitors are presented in the article*

**Keywords:** enzymes, activity, specificity, thermolability

УДК 677.027.43

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ТЕХНОЛОГІЧНИХ УМОВ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ

**С. В. Колпак**  
Аспірант\*

**О. В. Скропишева**  
Кандидат технічних наук, доцент\*

**В. П. Гнідець**  
Кандидат хімічних наук, доцент  
\*Кафедра хімічної технології та дизайну  
волокнистих матеріалів  
Херсонський національний технічний університет  
шосе Бериславське, 24, м. Херсон, 73008

**Вступ**

Нові економічні умови, що склалися на Україні, привели до того, що найбільш актуальними стали питання екологічності та безпечності технологій та речовин, які використовуються при виготовленні тих чи інших товарів.

Один з шляхів вирішення цієї задачі є використання біотехнологій із застосуванням ферментних препаратів.

Сучасні ферментні препарати, у більшості випадків, являють собою суміш із декількох індивідуальних ферментів (поліферментний комплекс). Синергічний ефект від дії амілаз, пектиназ, целюлаз і протеаз сприяє підвищенню ефективності застосування ферментів і якості товарів, які випускаються з їх використанням.

**Вплив умов використання на біологічну активність ферментів**

При встановленні оптимальних умов використання ферментів треба виходити з їх властивостей. Основними властивостями ферментів як біологічних каталізаторів є їх висока активність і специфічність дії, термолабільність, залежність від рН середовища, присутності активаторів та інгібіторів. Тому дослідження активності ферментів в залежності від різних факторів (рН середовища, температури, присутності солей металів) є першим етапом в визначенні оптимальних умов їх використання.

Однією з характерних властивостей ферментів є їх термолабільність, тобто чутливість до змін температури. У відповідності до закону Вант-Гофа, швидкість хімічної реакції підвищується приблизно в два рази при підвищенні температури на кожні 10 °С. Ця закономірність справедлива і для ферментів, однак тільки в обмеженій області значень температур, в основному, в інтервалі від 0 до 50 °С. При температурі, яка не перевищує 35–50 °С, швидкість більшості ферментативних реакцій підвищується відповідно теорії хімічної кінетики.

Ферменти є білками і підвищення їх каталітичної активності відбувається доти, доки не почнеться денатурація білка, тобто руйнування його нативної структури. При цьому структура активного центру змінюється настільки, що фермент не може взаємодіяти з субстратом, тому що втрачає ферментативну активність (рис. 1) [1].

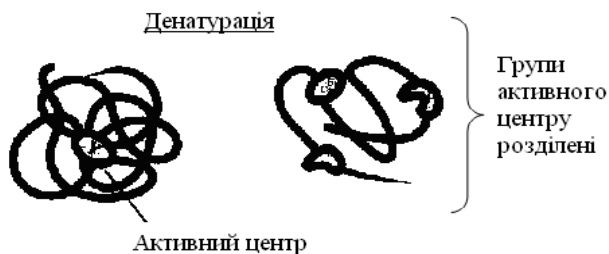


Рис. 1. Денатурація ферменту

Температура, при якій фермент має максимальну активність, називається оптимальною температурою ферменту. Інтерес представляють дані про вплив на швидкість ферментативної реакції низьких температур. Зниження температури нижче оптимальної тимчасово сповільнює активність ферменту в силу зменшення швидкості дифузії молекул. Коли ж температуру знов підняти до оптимальної величини - активність ферменту і швидкість реакції відновиться.

Графічна залежність швидкості більшості ферментативних реакцій від температури має дзвіноподібну форму (рис.2) [1].

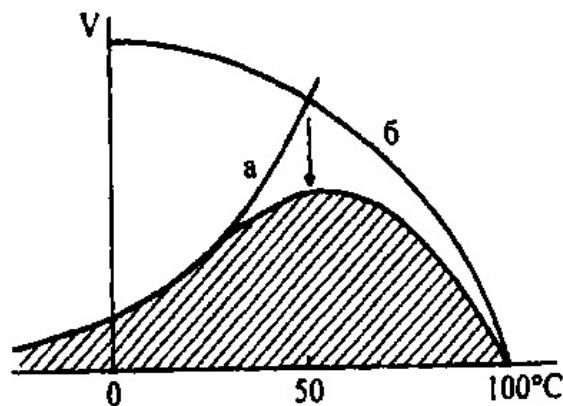


Рис. 2. Вплив температури на швидкість реакції, яка каталізується ферментом: а – підвищення швидкості реакції як функція температури; б – зниження швидкості реакції як функція денатурації білка - ферменту; - стрілка вказує на оптимум температури.

Сучасні ферментні препарати можуть проявляти найбільшу активність в широкому діапазоні температури: від 40 до майже 100°C.

В промисловості, при виготовленні різної продукції, одночасно з ферментами використовують добавки різних типів, серед яких можуть бути солі, поверхнево-активні речовини та інші. Ці добавки можуть впливати на активність ферментів.

Речовини, які підвищують активність ферментів, називають активаторами, а ті, що пригнічують – інгібіторами. Активатори та інгібітори (ефектори) можуть впливати безпосередньо на активний центр ферменту, а також можуть взаємодіяти з алостеричними (регуляторними) центрами і тим самим змінювати каталітичну активність ферменту. Інгібіторами можуть бути солі важких металів, ціаніди, фосфорорганічні сполуки, деякі продукти метаболізму, денатуруючі агенти та інші.

Здатність ферментів каталізувати певні хімічні реакції називається специфічністю фермента. Розрізняють абсолютну, відносну і стереохімічну специфічність. Якщо фермент каталізує перетворення тільки одного субстрату, то він має абсолютну специфічність. Так, мальтаза здійснює розщеплення мальтози, але не діє на сахарозу. Ферменти, які каталізують перетворення тільки однієї стереохімічної форми субстрату мають стереохімічну специфічність (наприклад, α- і β-глюкозидази). Якщо ферменти діють

на ряд субстратів з певним типом атомних груп, то вони мають відносну специфічність. Наприклад, пепсин розщеплює різні білкові речовини їжі: білки м'яса, молока, рослин, тому що амінокислоти в них з'єднані пептидним зв'язком. В роботах М. Бергманна і Д. Фрутона встановлено, що кожний протеолітичний фермент пред'являє свої специфічні вимоги до будови субстрату і до оточення пептидного зв'язку, який розщеплюється. Так, трипсин і хімотрипсин гідролізують не тільки пептидні, але й деякі ефірні й амідні зв'язки. Естеразну активність мають також і інші протеолітичні ферменти. Слід відмітити, що цілий ряд ферментів має дві або навіть три каталітичні функції і діє на різні субстрати, які мають різний склад і будову.

### Експериментальна частина

Оскільки температура має найбільш суттєвий вплив на біологічну активність ферментів, то на першому етапі роботи було досліджено вплив температур на швидкість ферментативної реакції.

В роботі для визначення термолабільності ферментів пробірки з їх розчинами витримували в термостаті в інтервалі температур 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 °С протягом певного часу (10 хв.). Потім охолоджували, додавали субстрат і проводили реакцію при однаковій температурі та оптимальному рН. В якості субстрату використовували крохмаль (для амілолітичних ферментів) і слабкий розчин желатину та молочно-ацетатну суміш (для протеолітичних ферментних препаратів) [2]. Вплив температури на активність ферментів, що досліджувались показана на рис.3.

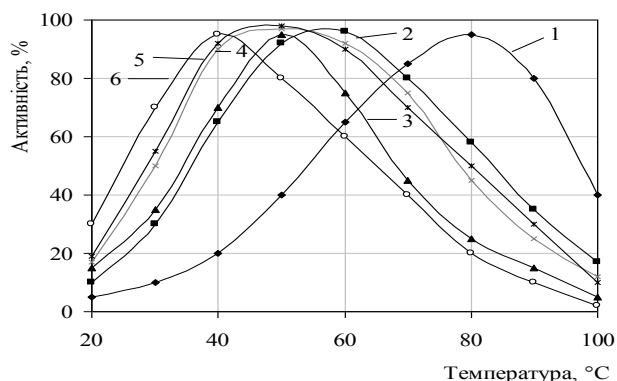


Рис. 3. Зміна активності ферментів від температури: 1 - Альфа-амілаза; 2 - Целюлазний комплекс; 3 - Амілосубтилін ГЗХ; 4 - Лужна протеаза; 5 - Basozym 1000; 6 - Ogoron ON-2.

Як видно з рис. 3, різні марки амілолітичних ферментів мають максимальну активність в досить широкому інтервалі температур 40-80 °С, на відміну від протеолітичних, досліджені марки яких термолабільні в межах 40-60 °С.

Вважається, що вплив водневого показника рН на активність ферментів пов'язаний насамперед з дією на активні центри ферментів аніонів та катіонів.

Залежно від рН середовища активний центр ферменту може бути в різній мірі іонізований, що впливає на формування активного ферментного комплексу.

Таким чином на другому етапі роботи визначали оптимальне значення рН середовища, при якому ефект від застосування ферменту буде найбільшим [2].

Ферменти, що використовуються в даній роботі належать до класу гідролаз, але мають різну каталітичну дію. А саме: амілолітичні (Альфа-амілаза, Целюлазний комплекс, Амілосубтилін ГЗХ), які каталізують гідролітичне розщеплення глюкозидних зв'язків, і протеолітичні (Лужна протеаза, Basozym 1000, Ogoron ON-2) ферменти, які впливають на гідроліз пептидних зв'язків в молекулах білків і поліпептидах.

Оптимальне значення рН для амілолітичних ферментів встановлювали за розщепленням крохмалю при різних значеннях рН середовища.

Ступінь гідролізу крохмалю оцінювали за результатом реакції з йодом. При оптимальному значенні рН розщеплення крохмалю відбувалось повністю (забарвлення з йодом відсутнє).

По мірі віддалення від оптимального значення рН в кислу або лужну сторону розщеплення крохмалю відбувалось частково, до стадії декстринів (фіолетове або червоно-буре забарвлення), або крохмаль взагалі не розщеплювався (синє забарвлення).

В процесі визначення активності протеолітичних ферментів в різному середовищі використовували біуретовий метод.

Ступінь гідролізу білку визначали за зміною інтенсивності кольору досліджуваного розчину при різних рН від рожево-фіолетового до майже повного знебарвлення.

За результатами дослідження побудовано криві залежності активності ферментів від рН розчину (рис.4).

Аналіз кривих залежності активності ферментів від рН середовища (рис.4) показав, що оптимальним значенням рН розчину для амілолітичних ферментних препаратів є рН 5,0-6,5, тобто слабко-кисле середовище.

В той же час для протеолітичних ферментів цей показник знаходиться у межах 7,0-9,0, тобто слабко-лужне, що надає можливість застосування ферментів в технологічних процесах харчової промисловості.

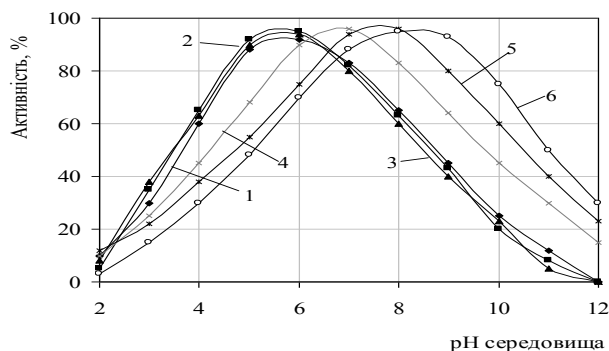


Рис. 4. Зміна активності ферментів від рН середовища: 1 - Альфа-амілаза; 2 - Целюлазний комплекс; 3 - Амілосубтилін ГЗХ; 4 - Лужна протеаза; 5 - Basozym 1000; 6 - Ogoron ON-2.

В роботі також було досліджено вплив солей різних кислот та металів на активність досліджуваних ферментів (табл.1) для визначення ролі, яку вони відіграватимуть при використанні ферментів [2].

совувати саме NaCl, оскільки останній в найменшому ступені пригнічує активність ферментів.

Таблиця 1

Вплив солей металів на активність амілолітичних і протеолітичних ферментів

Соли металів	Активність ферменту					
	Альфа-амілаза	Целюлазний комплекс	Амілосубтилін ГЗХ	Лужна протеаза	Basozym 1000	Ogoron ON-2
NaCl	++++	++++	++++	+++	+++	+++
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+++	+++	+++	++	++	++
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	++	++	++	++	++	++
NaHCO <sub>3</sub>	++	++	++	++	++	++
CuSO <sub>4</sub>	+	+	+	+	+	+
MgCl <sub>2</sub>	++	++	++	+	+	+
Без солі	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Аналіз результатів, наведених в табл. 1, показав, що активність ферментів подавляється усіма солями металів, що досліджувались, але найменший вплив має NaCl. Отже, при використанні ферментів можна засто-

дії складає рН 5-6, а протеолітичної дії рН 7-9. Визначено також температурні межі активності досліджуваних ферментів, а також виявлено вплив деяких активаторів і інгібіторів на активність ферментів.

**Висновки**

В даній роботі використовували гідролітичні ферментні препарати різної каталітичної дії, а саме амілолітичні, які мають високу специфічність щодо глікозидних зв'язків, і протеолітичні, які мають відносну специфічність щодо пептидних зв'язків.

За результатами досліджень встановлено значення рН середовища в межах яких ферменти проявляють максимальну активність. Оптимальне значення для максимальної активності ферментів амілолітичної дії складає рН 5-6, а протеолітичної дії рН 7-9.

**Література**

1. Дюга Г. Биологическая химия. Химические подходы к механизму действия ферментов [Текст] : пер. с англ. / Дюга Г., Пенни К. – М. : Мир, 1983. – 512 с.
2. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования [Текст] : учеб. / под ред. Е. А. Каст. – Москва : Медицина, 1975. – 383 с.