

3. *Верещагин А. Г.* Биохимия триглицеридов. М., 1972.
4. *Грибанов Г. А.* Успехи современной биологии, 87, 1, 1979.
5. *Грибанов Г. А., Сергеев С. А.* Вопросы медицинской химии, 21, 6, 1975.
6. *Кеннеди Е.* V Междунар. биохим. съезд. Симпозиум 7, 105, М., 1962.
7. *Саатов Т. С.* IV Всесоюз. биохим. съезд Тез. научн. сообщ., 1, М., 1979.
8. *Третьяк А. Т.* Полифосфонозитиды и их функция в биологических мембранах. М., 1978.
9. *Brown Gregory N. David.* Can. J. Bot., 55, 18, 1977.
10. *Fasoli J.* Human hyperlipoproteinemia, 25, New York—London, 1973.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVI, № 4, 1983

УДК 541.127:516.215:631.465

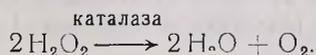
КИНЕТИКА РАЗЛОЖЕНИЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА ПОЧВОЙ

М. Г. ГЕВОРКЯН, А. Ш. ГАЛСТЯН, А. А. ПЕТРОСЯН, Н. М. БЕИЛЕРЯН

Изучена кинетика разложения H_2O_2 почвой при различных температурах. Показано, что при $[H_2O_2] \leq 0,12$ М скорость ферментативной реакции удовлетворяет уравнению Михаэлиса-Ментен. Рассчитаны постоянные этого уравнения в узком интервале температур, 20—30°, оценены значения эффективных энергий активации образования и распада фермент-субстратного комплекса.

Ключевые слова: каталаза, пероксид водорода, почва.

В процессах превращения веществ и энергии в почве активное участие принимают оксидоредуктазы, в частности, каталаза [2], роль которой в живом организме и, по-видимому, в почве состоит в разрушении ядовитого пероксида водорода [5]. Описаны различные методы определения каталазной активности почв, основанные на установлении скорости разложения пероксида водорода по реакции:



Разложение H_2O_2 в почве—сложный процесс, так как он может катализироваться как почвенными ферментами, так и металлами переменной валентности, имеющимися в почве.

Генетические типы почв характеризуются различной ферментативной, в том числе каталазной, активностью, являющейся показателем плодородия, биологической активности, а также критерием их окультуренности [2]. Однако в литературе мало работ о механизме действия почвенных ферментов. Известно, что сведения о механизме действия ферментов можно получить, изучая кинетические закономерности ферментативных реакций. В свете этих представлений нами изучались кинетика и механизм распада H_2O_2 в почве.

Материал и методика. Исследования проводились на черноземе и горно-луговой дерновой почве. Образцы воздушно-сухой почвы готовили принятым в почвенной

энзимологиче­ским спосо­бом [3]. Для учета ферментативной реакции при определении каталазной активности почв производили контрольные измерения в стерилизованной сухой жаром в течение трех часов ($t=180^\circ$) почве. Считается [1, 4], что при такой термообработке ферменты почвы инактивируются. Поэтому по разности степени разложения H_2O_2 за определенный промежуток времени пестерильной и стерильной почвами количественно определяется степень протекания ферментативной реакции. Для изучения кинетики распада H_2O_2 готовили суспензию, помещали ее в термостат при $t \pm 0,05^\circ$, а после термостатирования добавляли к ней определенную концентрацию суб­страта и фиксировали начало реакции. Через определенные промежутки времени из реакционной смеси брали пробы определенного объема и в них перманганатометрически определяли концентрацию непрореагировавшего суб­страта. По разности его кон­центраций в исходный и в данный момент времени определяли концентрацию прореагировавшего суб­страта во времени. Поскольку разложение H_2O_2 в присутствии почвы—гетерогенный процесс, в течение всего периода исследований сохранялось отношение объема жидкой фазы к навеске почвы (80 мл на 1 г почвы) и изучалось влияние степени дисперсности частиц почвы на скорость процесса. Для фракционирования частиц почвы по степени дисперсности она просеивалась через набор сит с уменьшающимися отверстиями.

Результаты и обсуждение. По полученным кинетическим кривым расхода H_2O_2 в присутствии нестерильной и стерильной почв рассчитывались скорость процесса, а по разности скоростей—скорость ферментативной реакции (рис. 1 а). Кинетические данные о ферментативном

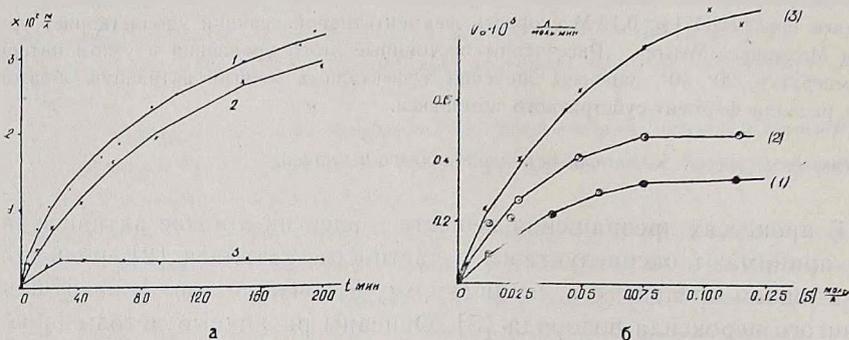


Рис. 1. а) Кинетические кривые распада H_2O_2 в нестерильной (1), стерильной (3) почвах, кинетическая кривая ферментативного распада H_2O_2 (2); б) влияние концентрации суб­страта на начальную скорость ферментативного распада H_2O_2 при различных температурах: 1— 20° , 2— 25° , 3— 30° .

распаде H_2O_2 в присутствии различных фракций почвы, а также при ее отсутствии приведены в табл. 1. Скорость распада H_2O_2 при отсутствии почвы даже в условиях 65° пренебрежимо мала по сравнению со скоростью процесса в ее присутствии, она максимальна для фракции почвы с $d=0,25$. Дальнейшие исследования проведены при наличии этой фракции почвы.

При различных температурах изучено влияние концентрации суб­страта на начальную скорость ферментативной реакции. Полученные данные представлены на рис. 1 б, из которого видно, что зависимость скорости процесса от концентрации суб­страта (при $[S] \leq 0,120 M$) удовлетворяет уравнению Михаэлиса-Ментен. Спрямлением этих зависимостей в координатах уравнений Лайнуивера-Берка (рис. 2 а), а также Иди определены постоянные уравнения Михаэлиса-Ментен при

Таблица 1

Влияние дисперсности частиц почвы на скорость ферментативного распада субстрата, $[H_2O_2] = 0,05 M$, $t = 25^\circ$ (почва—чернозем выщелоченный)

Время, мин	X 10 ³ M				Пудра	Без почвы, t = 65'
	Размер частиц, α, мм					
	1,0	0,5	0,25			
5	2,1	2,4	2,8	2,3	0,2	
20	5,4	6,2	7,2	6,0	0,5	
40	8,0	9,2	11,2	8,6	0,5	
60	10,6	12,4	14,8	10,6	0,5	
80	13,2	15,0	17,2	13,0	0,5	
100	15,6	17,6	20,8	14,6	0,5	
120	18,1	20,1	23,7	16,2	0,5	

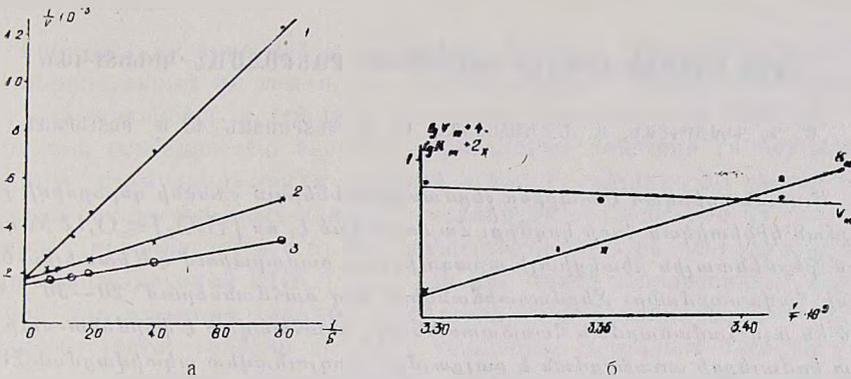


Рис. 2. а) Зависимость начальной скорости ферментативного распада H_2O_2 от концентрации субстрата при различных температурах в координатах уравнения Лайнуивера-Берка; б) зависимость K_m и V_{max} от температуры в координатах Арениуса.

различных температурах (табл. 2). Как видно из приведенных данных, постоянные V_{max} и K_m , найденные по различным трансформациям, практически совпадают. При этом значение максимальной скорости ферментативной реакции мало зависит от температуры, а значение кон-

Таблица 2
Значения постоянных уравнения Михаэлиса-Ментен при различных температурах

t°	$10^4 \cdot V_{max} \frac{M}{л. мин}$		$10^3 K_m, M$	
	а	б	а	б
20	5,9	5,8	7,7	7,7
25	5,9	5,8	2,4	2,3
30	6,7	6,5	1,5	1,6

станты связывания субстрата с увеличением температуры уменьшается. Полученные данные согласуются с литературными [1]. По значениям K_m и V_{max} , полученным при различных температурах, с помощью графика в координатах Аррениуса (рис. 2б) оценены эффективные значения энергий активации образования фермент-субстратного комплекса (130,4 кдж/моль), а также энергии активации процесса каталитического распада его (28,0 кдж/моль).

На основании кинетических кривых расхода пероксида водорода ($[H_2O_2] = 0,05\%$), полученных при различных температурах, методом трансмиссионных коэффициентов [6] рассчитана эффективная энергия ферментативного распада субстрата в присутствии почвы, равная 82,1 кдж/моль. Полученные данные указывают на то, что скорость ферментативного распада H_2O_2 обусловлена скоростью образования фермент-субстратного комплекса.

Ереванский государственный университет,
кафедра физической и коллоидной химии

Получено 22.XII 1982 г.

ՀՈՂԻ ԿՈՂՄԻՑ ԶՐԱՄԵՆ ԳԵՐՕՔՍԻԴԻ ՔԱՅՔԱՅՄԱՆ ԿԻՆԵՏԻԿԱՆ

Մ. Գ. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Ա. Շ. ԳԱԼՏՅԱՆ, Ա. Ա. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ, Ն. Մ. ԲԵՅԼԵՐՅԱՆ

Ուսումնասիրված է տարբեր ջերմաստիճաններում ջրածնի գերօքսիդի քայքայման կինետիկան հողի կողմից: Հաստատված է, որ $[H_2O_2] \leq 0,12$ M դեպքում ֆերմենտային ռեակցիայի արագությունը բավարարում է Միխաելիս-Մենտենի հավասարմանը: Զերմաստիճանների նեղ սահմաններում՝ 20—30°, հաշված են այդ հավասարման հաստատունները, դնահատված է ֆերմենտ-սուբստրատ կոմպլեքսի առաջացման և քայքայման արդյունավետ ակտիվացման էներգիայի նշանակությունը:

KINETICS OF HYDROGEN PEROXIDE DECOMPOSITION BY SOIL

M. G. GEVORKIAN, A. Sh., GALSTIAN, A. A. PETROSSIAN, N. M. BEJLERIAN

Decomposition kinetics of hydrogen peroxide by soil has been investigated at different temperatures. It has been shown that in case of $[H_2O_2] \leq 0,12$ M, the speed of enzymatic reaction satisfies the equation of Michaelis — Menten. Constants of that equation have been calculated at small temperature intervals (20—30°). Importance of effective activation energy of enzyme—substrate complex formation and decay has been evaluated.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алиев С. А., Гаджиев Д. А., Михайлов Ф. Д. Почвоведение, 9, 1981.
2. Галстян А. Ш. Ферментативная активность почв Армении. Ереван, 1974.
3. Галстян А. Ш. Почвоведение, 2, 1978.
4. Крегович В. Л. Введение в энзимологию, М., 1967.
5. Хазиев Ф. Х. Ферментативная активность почв, М., 1976.
6. Эмануэль Н. М., Кнорре Д. Г. Курс химической кинетики. М., 1969.