

EESTI PÕLLUMAJANDUSE AKADEEMIA

A. SAAR

# FERMENDID

JA NENDE  
KLASSIFIKATSIOON

TARTU 1966

1A

A-28077

EESTI PÕLLUMAJANDUSE AKADEEMIA

A. SAAR

# FERMENDID

JA NENDE  
KLASSIFIKATSIOON

TARTU 1966

Эстонская сельскохозяйственная академия  
г. Тарту, ул. Рийа, 12

А. СААР

ФЕРМЕНТЫ И ИХ КЛАССИФИКАЦИЯ

На эстонском языке

2



II täiendatud trükk  
Toimetaja: A. Männik  
Korrektor: V. Kingo

---

Paljundamiseks antud 10. IX 1966. Paber 60x84 cm.  
Trükipoognaid 1,75. Tingtrükipoognaid 1,59. Arves-  
tuspoognaid 1,54. Tiraaž 700. MB 07556. Tell. nr. 124.

EPA rotaprint, Tartu, Riia 12

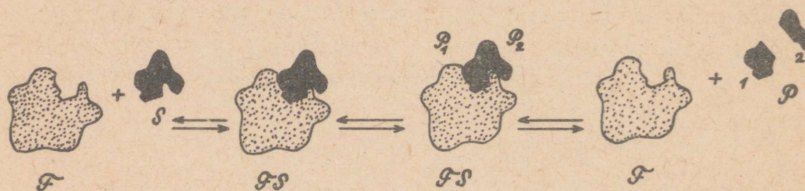
• Hind 4 kop.

Käesolev õppematerjal moodustab ühe osa taimefüsioloogia kursusest. Viimasel ajal on ensümoloogias tehtud palju avastusi ja täiendusi, mis tingib konspekti väljaandmise vajaduse, sest sellealane kirjandus ei ole üliõpilastele alati kättesaadav.

Konspekt "Fermentid ja nende klassifikatsioon" on täiendav õppevahend lisaks loengutele. Mõnedel probleemidel, mida loengutel käsitletakse põhjalikumalt, on siin peatunud põgusamalt.

Konspekt on määratud EPA Agronoomia- ning Metsanduse ja Maaparanduse Teaduskonna statsionaarsetele ja mittestatsionaarsetele üliõpilastele.

Elusas organismis, sealhulgas ka taimorganismis, kulgevad keemilised reaktsioonid tohutult kiiremini ja kergemalt kui analoogilised protsessis (näit. tärklise lagundumine suhkruteks) väljaspool elusat organismi. Selle põhjuseks on peamiselt asjaolu, et taimes võtavad nendest protsessidest osa taime enda poolt sünteesitavad kõrge füsioloogilise aktiivsusega orgaanilised ained fermentid (lad. k. fermentum - juuretis), mis täidavad katalüsaatori osa. Seetõttu nimetataksegi fermente e. ensüüme ka bioloogilisteks katalüsaatoriteks ehk biokatalüsaatoriteks. Katalüsaatoritena võtavad fermentid biokeemilistest reaktsioonidest osa, moodustades vahepealse ühendi ferment-substraadi (joon. 1), kuid ei esine ise reaktsiooni



Joon. 1. Vahepealse kompleksi ferment-substraadi moodustumine. F - ferment, S - substraat, FS - ferment-substraat, P, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> - produktid.

lõpp-produktis. Reaktsiooni katalüüsiks vajalikud fermentid kogused on väga väikesed ja fermentid ise jäävad kvalitatiivselt ning kvantitatiivselt oluliselt muutumatuks.

Et fermentidest ja nende aktiivsusest olenevad suurel määral organismi ainevahetusprotsesside kulg ja kiirus, siis on fermentide ja nende toime uurimisel füsioloogiliste protsesside mõistmiseks oluline tähtsus.

Teadusharu, mis uurib fermente ja nende toimet, nimetatakse ensümoloožiaks (ka fermentoloožiaks).

Ensümolooži sünniaastaks võib pidada 1814. aastat, milal Vene Akadeemia tegevliige K. S. Kirchof avastas idanevates terades aine, mille toimel tõrklis muutub suhkruks. Avastatud aineks osutus ferment amülaas. Tänu arvukatele uurimistele on tänaseni taimedest eraldatud mitusada erinevat fermenti, kuid arvestuslikult eeldatakse, et fermentide üldarv ulatub tuhandeteni.

Tähtsamate teadlastena, kelle nimega on seotud ensümolooži areng, tuleb selle rajaja K. S. Kirchofi kõrval nimetada A. J. Danilevskit, A. H. Bachi, V. A. Engelhardti, O. Warburgi, R. Willstätterit, M. H. Ljubimenkoti ja V. S. Palladini. Nõukogude teadlastest on oma uurimustega andnud suure panuse ensümolooži arengusse A. I. Oparin, H. M. Sissakjan, B. A. Rubin jt. Nende ja teiste nõukogude teadlaste tööd, mis on pühendatud eriti fermentide toime uurimisele vahenditult elusas organismis, on tegelikult rajanud ensümolooži uue haru, mida nimetatakse fermentide bioloogiks.

## FERMENTIDE OMADUSED

Fermentide kui bioloogiliste katalüsaatorite ja anorgaaniliste katalüsaatorite vahel võib märkida küllaltki suuri erinevusi. See selgub, kui vaadelda fermentide omadusi.

Üks fermentide tähtsaid omadusi on nende erakordselt suur katalüütiline aktiivsus, mis ületab anorgaaniliste katalüsaatorite aktiivsuse tunduvalt. Näiteks laguneb vesinikülihapend ( $H_2O_2$ ) veeks ja hapnikuks nii rauaioonide kui ka

ferment katalaasi katalüütilisel toimel. Esimesel juhul lagundab rauaioon 1 sekundi jooksul ( $0^{\circ}\text{C}$  temperatuuril)  $10^{-5}$  mooli  $\text{H}_2\text{O}_2$ , teisel juhul aga lagundab 1 mool katalaasi  $10^5$  mooli  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Fermentide katalüütilist aktiivsust iseloomustatakse O. Warburgi järgi nn. ringluste arvuga. Ringluste arvuks nimetatakse substraadi (s. o. aine, millele ferment mõjub) moolide arvu, mis muunduvad 1 minuti jooksul 1 mooli fermendi toimel. Nii näiteks on pärmil alkoholdehüdrogenaasi ringluste arv 4700, kartuli fosforilaasil 40 000, fosfortrioksi isomeeraasil aga koguni 500 000.

Seega võib üks fermendi molekul väga kiiresti lagundada tohutut arvu substraadi molekule.

Fermentide teine tähtis omadus on nende toime spetsiifilisus. Näiteks lagundab sahharoos sahharoosi, kuid teistele sarnastele disahhariididele (näit. maltoosile) ta mõju ei avalda. Teisel juhul väljendub fermendi spetsiifilisus selles, et ta toimib ainult teatud keemilise sideme tüübile erinevates ühendites. Näiteks katalüüsib ferment lipaas lagundavalt rasvade esterlikku sidet, sõltumata rasvhapetest, millest rasvad koosnevad.

3) Kolmandaks fermentide iseloomulikuks omaduseks on nende toime labiilsus, sõltuvus paljudest teguritest, nagu vesinikioonide kontsentratsioon, temperatuur, hapendus-taandusreaktsioonid jm. tegurid.

Nagu anorgaanilistel katalüsaatoritel, nii on ka enamikul fermentidel võime katalüüsida keemilisi reaktsioone kahes suunas. Seetõttu võib sama ferment ühel juhul katalüüsida hüdrolüüsi-, teisel juhul sünteesiprotsessi. Seda on kinnitanud paljud uurijad oma katsetega (Oparin, Rubin).

#### FERMENTIDE KATALÜÜTILISE TOIME MEHHANISM

Nagu teada, kiirendavad fermentid katalüsaatoritena keemilist reaktsiooni. Selle protsessi mõistmiseks tuletagem meelde, et keemilise reaktsiooni kiirus oleneb reageerivate molekulide kokkupõrgete sagedusest, viimane omakorda sõltub

peamiselt reageerivate ainete kontsentratsioonist ja temperatuurist. Fermentid aga pole võimalised tõstma reageerivatele ühenditele ei kontsentratsiooni ega temperatuuri. Milles seisneb siis fermentide katalüütilise toime mehhanism?

Keemilistest reaktsioonidest võtavad osa üksnes need molekulid, mis on aktiivses seisundis. Keemilise reaktsiooni kiirenemine tõstab temperatuuri, sellega kaasneb ka aktiivsete molekulide arvu suurenemine.

Fermentide katalüütiline toime seisneb selles, et nad vähendavad molekulide aktiveerimiseks vajaliku energia hulka. See saavutatakse sel teel, et ferment, reageerides substraadiga, moodustab vaheprodukti ja lõhub teatud määral substraadi molekuli struktuuri. See deformatsioon muudab molekulidevahelised sidemed nõrgemaks, mistõttu nende aktiveerimine toimub tunduvalt kergemini kui ilma katalüsaatori osavõtuta. Reaktsiooni edasises käigus fermentist ja substraadist moodustunud vaheprodukt laguneb, kusjuures katalüsaator regenereerub. Nii toimub reaktsioon  $AB \rightarrow A+B$  katalüsaatori K toimel järgmiselt:  $AB+K \rightarrow ABK$  ja edasi  $ABK \rightarrow A+BK$  ja  $BK \rightarrow B+K$ .

Katalüütilises protsessis kulutatav molekulide aktiveerimisenergia on palju väiksem kui energia, mida vajatakse reaktsiooni  $AB \rightarrow A+B$  toimumiseks ilma vaheproduktita.

Selle väite illustreerimiseks vaatleme sahharoosi hüdrolüüsi glükoosiks ja fruktoosiks. Kui see reaktsioon peab toimuma katalüsaatori osavõtuta, siis vajatakse molekulide aktiveerimiseks 1 mooli kohta 32 kalorit, ferment sahharoosi osavõtu puhul vaid 9,4 kalorit energiat.

Seega vaatamata kaudsele teele, mis kulgeb läbi vaheprodukti, toimub reaktsioon fermenti osavõtul väiksema aktiveerimisenergia kuluga ja kiiremini.

## FERMENTIDE STRUKTUUR

Seni on taimedest saadud mitusada fermenti. Kõik nad kujutavad endast suure molekulkaaluga liht- või liitvalke. Peroksüdaasi molekulkaaluks on näiteks 40 000, katalaasil 250 000.

Oma ehituselt jagatakse fermente ühekomponentseteks ja kahekomponentseteks.

Ühekomponentseteks nimetatakse neid fermente, mis kujutavad endast lihtvalke e. proteiine. Sellesse rühma kuuluvad näiteks amülaas, mis lagundab tärklisi, ja proteolüütilised ferendid, mis katalüüsivad valkude lagundamist.

Puhtad ühekomponentsed ferendid võivad esineda valgu-kristallidena. Nende puhastamine mitmesugustest lisanditest toimub elektroforeesi, adsorptsiooni ja teiste meetodite abil. Keemiliselt puhtaid fermente on tänapäeval saadud juba üle 200. Esmakordselt saadi puhast kristalset fermenti 1926. a. See oli ureaas.

Ühekomponentsete fermentide aktiivseks osaks on valgu enda teatud keemiliselt aktiivne grupp. Pepsiinis näiteks on selleks türosiini fenoolsed grupid.

Kahekomponentsed ferendid on oma keemiliselt iseloomult liitvalgud e. proteiidid. Nad koosnevad kahest osast: mingist spetsiifilisest valgust, mida nimetatakse valguliseks kandjaks e. apofermendiks e. ferooniks, ja sellega labiilselt seotud aktiivsest prosteetilise grupist e. kofermendist e. agoonist.

Kofermendiks võivad fermentis olla metalli aatomid või keerukad orgaanilised ühendid, sageli vitamiinid (vt. tabel 1).

Lihtsaimal juhul koosneb prosteetiline grupp ka ainsast metalli aatomist. Selline ferment on näiteks türosinaas, mille prosteetilisse gruppi kuulub üks vase aatom. Kui see eemaldatakse, siis muutub ülejäänud türosinaasi valk katalüütiliselt inaktiivseks. Samuti on vase aatom prosteetiliseks grupiks askorbiinhapet hapendavas oksüdaasis. Seega ei määrata antud juhtudel nende fermentide spetsiifilisust mitte prosteetiline grupp, vaid fermenti feroon. Mitmete fermentide agooni koostises on Zn, Mn, Mg, Fe. Mõnede taimede väga väikestes kogustes vajalike metallide füsioloogiline tähtsus selles peamiselt seisabki, et taim kasutab neid oma fermentide sünteesimiseks.

Paljudel juhtudel on kahekomponentse fermenti prosteetiliseks grupiks küllaltki keerukas orgaaniline ühend, sageli mõni vitamiin. Kõrgemate taimede fermentide prosteetilises grupis on leitud näiteks tiamiini ( $B_1$ -vitamiin), riboflaviiini ( $B_2$ ), püridoksiini ( $B_6$ ) ja teisi vitamiine.

Fermentide kofarmenti nimetus

Kofarmenti nimetus	Vitamiinid, mis on kofarmentideks	Grupp, mis kofarmenti osavtuli ligub ühel substraadil tehes
Nikotiinhappesamiid-adeniini-dinukleotiid (NAD)	nikotiinhappesamiid, nikotiinhape (PP-vitamiin)	vesiniku atomid
Nikotiinhappesamiid-adeniini-dinukleosiif	nikotiinhappesamiid (PP-vitamiin)	vesiniku atomid
Flaviini-mononukleotiid (FMN)	riboflaviin (B <sub>2</sub> -vitamiin)	vesiniku atomid
Flaviini-adeniindinukleotiid (FAD)	riboflaviin (B <sub>2</sub> -vitamiin)	vesiniku atomid
Koensüüm A (Koa)	panoteenhape	atssetüülised ja atsüülised grupid
Tetraühüdrofoolhape RH <sub>4</sub>	foolhape	formüülgrupid
Biotiin	biotiin (H-vitamiin)	karboksüülgrupid (aktiivne CO <sub>2</sub> )
Flaviinürofoosforhape (FPP)	flaviin (B <sub>1</sub> -vitamiin)	C <sub>2</sub> -aldehüüdsed grupid, keto-hapete dekarboksüüleerimine

Varem arvati, et fermentide toime kandjaks on üksnes prosteetilised grupid, sest need võivad ühineda väga mitmesuguste valkudega. Tänapäeval aga ollakse arvamisel, et ainevahetusprotsessides etendab aktiivset osa ka valguline kandja. Näiteks määrab hapendus-taanduspotentsiaali suuruse organis- mis vastava fermendi valguline kandja.

## KESKKONNATINGIMUSTE MÕJU FERMENTIDE AKTIIVSUSELE

Fermentide aktiivsus sõltub tervest hulgast tegureist. Selle põhjuseks on fermentide valguline koostis, sest valgud alluvad kergesti keemilistele või füüsikalistele mõjustustele. Sellest ongi tingitud fermentide suur labiilsus.

Üks tähtsamaid fermendi toimet mõjustavaid faktoreid on temperatuur. Optimaalseks temperatuuriks on tavaliselt 40-50 °C, temperatuuri edasine tõus aga hakkab fermendi aktiiv- sust vähendama ja 100°-le lähenedes aktiivsus kaob. Ka väga lühiajaline keetmine hävitab fermendi katalüütilise toime täielikult.

Fermendi toime intensiivsuse alanemine temperatuuri tõus- tes üle optimaalse piiri seletub asjaoluga, et kuigi kõrgemal temperatuuril keemilise reaktsiooni kiirus kasvab, suureneb veelgi kiiremini fermente lagundav denatureerimisprotsess.

Fermendi optimaalne temperatuur pole absoluutselt jääv suurus. See sõltub ka muudest teguritest, eelkõige aga reakt- siooni ajalisest kestusest. On tehtud kindlaks, et kui näiteks proteinaasi optimaalseks temperatuuriks on 3-tunnilise kestus- sega katse puhul 40-50 °C, siis 50-tunnilise kestusega katsel osutub optimumiks 30 °C.

Teiseks oluliseks faktoriks, mis määrab fermendi katalü- tüütilise aktiivsuse, on keskkonna pH. Igafermendile on omane teatud optimaalne pH väärtus, mille puhul selle katalü- tüütiline aktiivsus on suurim. Erinevus üksikute fermentide pH optimaalse suuruse vahel on küllaltki ulatuslik: lipaasil kanepiseemnetes on see 8,6, linnase maltaasil 4,5-5,0, pep- siinil 1,5. Sama fermendi optimaalne pH pole siiski kindel

suurus, vaid muutub olenevalt taime liigist (näit. on nisuterises lipaasi optimaalne pH 8).

3) Lisaks keskkonnale, milles fermentid toimivad, sõltub fermentatiivsete protsesside kiirus ka fermentide endi kontsentratsioonist. Mida rohkem on antud substraadis fermenti, seda kiiremini kulgevad reaktsioonid. Fermentide kontsentratsioonil substraadis on oma piir. Näiteks ülikõrgetel kontsentratsioonidel keemilised protsessid katkevad.

#### (+) FERMENTIDE AKTIVAATORID JA PARALÜSAATORID

Lisaks eeltoodud faktoritele sõltub fermentide tegevus suurel määral ka teatud keemilistest ühenditest. Fermenti toimet aktiveerivaid aineid nimetatakse aktivaatoriteks.

Ühendeid, mille manulusel fermenti toime pidurdub, nimetatakse paralüsaatoriteks e. inhibiitoriteks.

Paljudes reaktsioonides saavutavad fermentid oma katalüütilise aktiivsuse mitmesuguste anorgaaniliste ioonide mõjul. On kindlaks tehtud, et fermentide aktivaatoriteks ühel või teisel juhul on järgmised katioonid:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ . Aktivaatoritena võivad aga toimida ka anioonid ja orgaanilised ained. Paljudele fermentidele on aktivaatoriteks sulfhüdrilised ühendid, mis sisaldavad -SH-rühma.

Oma toimelt on osa aktivaatoreid mõne fermenti suhtes kindlalt spetsiifilised. Nii näiteks on pürofosfaatas aktiivne üksnes Mg-ioonide manulusel - ükski teine kation seda ei asenda. Seejuures võib sama kation olla spetsiifiliseks aktivaatoriks mitmele fermentile.  $\text{Mg}^{2+}$  ongi üks seesuguseid aktivaatoreid, sest ta aktiveerib fosfaataasi, fosforikinaasi jt. fermente substraadi fosforileerimisel.

Mitmed aktivaatorid on aga mõne fermenti suhtes vastastikku asendatavad. Nii aktiveerivad peptiidaasi ja mõningaid lämmastikainevahetusest osavõtvaid fermente ühteviisi nii  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  kui ka  $\text{Zn}^{2+}$ .

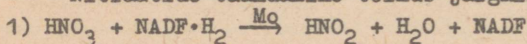
Esineb ka ioone, mis ühtesid fermente aktiveerivad, teisi paralüseerivad. Mõnede fermentide aktiveerimiseks aga on vajalik kahe erinevaiooni olemasolu. Näiteks tõuseb Školniku

andmeil maisitaimede peroksüdaasi aktiivsus, kui kasutada üheaegselt molübdeeni ja tsinki.

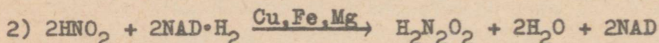
Eeltoodu põhjal võib öelda, et ka fermentatiivsete reaktsioonide normaalseks kulgemiseks peavad taimed saama pinnasest kõiki makro- ja mikroelemente vajalikus koguses.

Iseloomulikuks näiteks mikroelementide tähtsusest aktivaatoritena on nitraatide taandamine taimede lämmastiktoitumisel. On teada, et taandamisreaktsioonidest, mis toimuvad reduktaasfermentide NADF - nikotiinhappeamiid-adeniindinukleotiidfosfaadi<sup>1</sup> (trifosforpüridiinnukleotiid TPN) ja nikotiinhappeamiid-adeniindinukleotidi NAD (difosforpüridiinnukleotiid DPN) kaasabil, võtavad osa mikroelemendid Mo, Cu, Fe, Mg ja Mn.

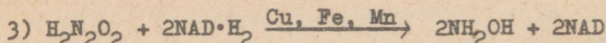
Nitraatide taandamine toimub järgmiselt:



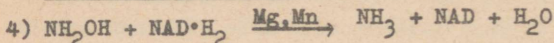
ferment nitraatreduktaas taandab nitraadi nitritiks, mille protsessi aktiveerib Mo.



nitritreduktaas taandab nitriti hüponitritiks ja protsessi aktiveerivad Cu, Fe ja Mg.

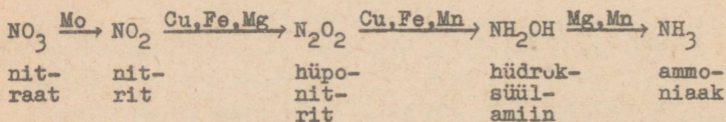


hüponitritreduktaas taandab hüponitriti hüdroksüülamiiniks.



hüdroksüülamiinreduktaas taandab hüdroksüülamiini ammoniagiks.

#### Summaarne reaktsioon



<sup>1</sup>Vana nimetus sulgudes.

Nitraatide taandamisprotsess kulgeb taimedes väga kiiresti. Taandamise lõpp-produktiks on ammoniaak, mis on valkude sünteesi lähteaineks. Et vaba ammoniaak on taimedele mürgine, seepärast taimede toitumisel ammooniumsooladega ei kogune vaba ammoniaak taimedes, vaid kasutatakse kohe ketohapete amineerimisel, mille tagajärjel tekivad aminohapped.

Inhibiitoreid, mis pidurdavad fermentide toimet, võib jaotada (Novikovi järgi) kaheks suureks rühmaks - konkureerivaiks ja mittekonkureerivaiks. Konkureerivad inhibiitorid on oma molekulaarselt ehituselt sarnased kas substraadiga või vastava fermenti prosteetilise grupiga. Esimesel juhul ühineb ferment inhibiitoriga, kuid ei vabane sellest nii kiiresti kui substraadiga tekkivast ühendist, mistõttu ferment blokeeritakse ja tema toime aeglustub. Teisel juhul, kui inhibiitor sarnaneb fermenti prosteetilise grupiga, ühineb inhibiitor valguga prosteetilise grupi asemel, mille tulemusel fermenti aktiivsus kaob.

Konkureerivaid inhibiitoreid kasutatakse võitluses mitmete haigusttekitavate bakterite vastu. Paljud bakterid näitaks hingavad fermentide abil, mille tähtsaks koostisosaks on paraamino-bensoehape. See ühend aga asendatakse fermentis edukalt struktuurilt sarnase streptotsiidiga, mille tulemusel bakteri hingamisfermentide katalüütiline tegevus lakkab.

Inhibiitoreid, mis fermentides võivad asendada vitamiine, nimetatakse antivitaminideks. Viimastel on väga suur tähtsus võitluses mitmesuguste haiguste vastu.

Mittekonkureerivad inhibiitorid muudavad fermenti struktuuri viimasega ühinedes. Ühinemine ei toimu aga nende gruppide kohal, kus ferment on kontaktis substraadiga, vaid teistes osades. Ka seesugused muudatused paralüüeerivad fermenti toime.

Mõningad inhibiitorid, nagu raskemetallide (elavhõbeda, seatina, hõbeda) soolad, kanged happed ja ultraviolettkiired, on inhibiitoriteks kõikidele fermentidele, sest nende toimel tekib fermenti valkudest vees lahustumatu sade.

On ka spetsiifilisi inhibiitoreid, mis mõjuvad teatud fermentidele. Näiteks sinihape on spetsiifiline inhibiitor paljudele oksüdaasidele, mille aktiivseks grupiks (kofermendiks)

on Cu või Fe. Astudes keemilisse ühendisse nende metallidega, blokeerib sinihape fermendi aktiivse grupi - metalli - ja selle tagajärjel kaotab ferment oma aktiivsuse.

Skemaatilisel on see kujutatud joonisel 2.



Joon. 2. Spetsiifilise inhibiitori toime. F - ferment, S - substraat, FS - ferment-substraadi kompleks, P - produktid, I - inhibiitor, FI - ferment-inhibiitori kompleks (inaktiivne).

Spetsiifiliste aktivaatorite ja paralüsaatorite mõju fermentidele on olulise tähtsusega organismis toimuvate fermentatiivsete protsesside reguleerimisel. Näiteks taimedel on rida olulisi füsioloogilisi tunnuseid, nagu külmaskindlus, varavalmivus, põuaskindlus jne., mis on tihedalt seotud fermentatiivsete protsesside suunaga ja intensiivsusega.

Elusates normaalselt funktsioneerivates taimerakkudes toimuvad katkestamatult omavahel kooskõlastatud sünteesi- ja hüdrolüüsiprotsessid. Iga rakus kulgev sünteesi- ja hüdrolüüsiprotsess läbib mitmeid etappe. Protsesside toimumiseks on vajalikud teatud fermentide koordineeritud süsteemid.

Fermentide koordinatsioon rakus on tingitud fermentide spetsiifilisest toimest ja sellest, et fermentid on adsorbeerunud kindlatele rakusisestele organoididele. Fermentide lokaliseerimise uurimised on näidanud, et fermentid on seotud kindlate rakustruktuuridega. Nii on hingamisfermentid seotud põhiliselt mitokondritega.

Fermentide aktiivsus taimedes on ainult keskkonningimustest ( $t^{\circ}$ , keskkonna pH jne.), vaid ka sellest, kuidas fermentid on adsorbeerunud protoplasma mitmesugustele kolloidsüsteemidele. Esimesena tegi selle kindlaks nõukogude biokeemik A. J. Oparin. Selgus, et fermentid võivad olla rakkudes ja kudedes kas vabalt või seotud olekus. Seotuna on nad adsorbeeritud protoplasma struktuursetele elementidele. Vabas olekus on fermentid hüdrolüütiliselt aktiivsed ja katalüüsivad hüdrolüüsiprotsesse; seotud olekus kaotavad nad hüdrolüütilise aktiivsuse ja rakkudes toimuvad valdavalt sünteesiprotsessid.

Nõukogude teadlased A. J. Oparin, A. L. Kursanov, B. A. Rubin hakkasid esimestena uurima fermentide toimet elusates vigastamata taimedes. Need õpetlased tõestasid, et rakkude ja kudede võime fermente adsorbeerida on taimel arenemisprotsessist ning väliskeskkonna tingimustest. Vastavalt sellele toimuvad ka muutused organismi ainevahetuses ja taimede keemilises koostises. Seda uut suunda ensüömoloogias - uurida fermentide toimet elusates taimedes - hakati nimetama fermentide bioloogiaks.

Fermentide toime uurimiseks elusates rakkudes võtsid nõukogude teadlased kasutusele uue meetodi, nn. vaakuum-infiltratsioonimeetodi. Sellega sai võimalikuks määrata kasvavates taimedes fermentide aktiivsuse muutusi. Nii tehti näiteks kindlaks, et tugevasti transpireerivatel taimedel in-

tensiivistuvad hüdrolüüsiprotsessid. Suure veekaotuse korral (närbunud olek) on hüdrolüüsiprotsessid ülekaalus sünteesiprotsessidest. Samuti intensiivistub hüdrolüüsivate fermentide tegevus kõrge temperatuuri korral, kusjuures süntees võib peaaegu täielikult katkeda (näiteks põua ajal).

Fermentide aktiivsus sõltub valgustuse intensiivsusest. Sahharoosi süntees on lehtedes kõige kõrgem keskpäeval. Glükoosi on lehtedes keskpäeval kõige vähem ja seepärast ei ole fotosünteesiprotsessid takistatud. Öhtul ja öösel ületab saharoosi hüdrolüüs sünteesi, mistõttu leht vabaneb kiiresti fotosünteesiproduktidest. Hüdrolüüsil laguneb saharoos fruktoosiks ja glükoosiks, mis liiguvad lehtedest taime juurtesse, juurikatesse.

Lisaks välistingimustele avaldavad fermentatiivsete protsesside suunale ja kiirusele mõju taime enda liigilised, sordilised ja arengulised erinevused.

Näiteks varavalmivad sordid erinevad teistest sortidest fermentide kõrge hüdrolüütilise aktiivsuse poolest. Noortel taimedel on sünteesiprotsessid hüdrolüüsiprotsessidega võrreldes ülekaalus. Lehtede vananemisega intensiivistub hüdrolüüsivate fermentide aktiivsus.

Andmed välistingimuste mõjust fermentide aktiivsusele taimedes näitavad, et taime kohastumisel etendavad fermentid eriti suurt osa. Fermentide kohastumine temperatuurile, niiskusele ja valgusele tunnistab, et taimede fermentatiivne aparatuur on erakordselt tundlik mehhanism, millest olenevad elusa organismi kogu ainevahetuse käik ja suund.

Mineraalne toitumine avaldab fermentatiivsetele protsessidele taimes väga tugevat mõju. Mineraalelemendid reguleerivad nende fermentide tegevust, mis aktiveerivad saharoosi, tärglise, valkude, rasvade ja teiste ainete sünteesi lehtedes. Toitumistingimuste muutmisega võib muuta taimede ainevahetust soovitud suunas. Tutvume mõningate andmetega toitumise mõjust fermentide aktiivsusele taimedes. Kaaliväetised suurendavad tärglise moodustamist taimedes ja nõrgendavad selle lõhustumist. Samuti kiireneb valkude süntees, kuna valkude lagunemise intensiivsus oluliselt ei muutu. Seega kaalium intensiivistab nende fermentide aktiivsust, mis katalüüsivad tärglise ja valkude sünteesi.

Fosforil on suur mõju paljudele biokeemilistele protsessidele taimedes. Otseselt mõjub ta sahharoosi, tärklise, valkude, rasvade ja paljude teiste ainete sünteesile ja hüdrolüüsile. Fosfori vähesuse korral on taimedes vähem sahharoosi ja tärklist ning rohkem valke. Sellest järeldub, et fosfor avaldab nõrgemat mõju valku sünteesivatele fermentidele kui tärklist ja sahharoosi sünteesivatele fermentidele. Väga tugev mõju on fermentide tegevusele lämmastikväetistel. Lämmastiku külluse korral intensiivistub sahharoosi hüdrolüüs ja taimed on glükoosirikkad. Sahharoosi lagundavate fermentide aktiivsus on siis kõrge.

Seega muudetakse taimede mineraalse toitumisega fermentide aktiivsust ja suunda ning järelikult ka biokeemiliste protsesside intensiivsust ja suunda.

Fermentide aktiivsuse seaduspärasuste uurimine taimede toitumisel näitab, et organismide ainevahetust on võimalik suunata fermentide kaudu ja seega taimede saagikust suurendada.

#### FERMENTIDE KASUTAMISEST TÖÖSTUSES

Tänapäeval kasutatakse fermentipreparaate ka tööstuses, peamiselt toiduainete- ja kergetööstuses. Kõige sagedamini on leidnud rakendamist karbohüdraasid, proteasid ja pektinaasid.

Karbohüdraasidest kõige tähtsam on ferment amülaas, mis lagundab kõrgmolekulaarseid polüsahhariide. Amülaasid mõjuvad tärklisele järgmiselt:

tärklis  $\alpha$ -amülaas  $\longrightarrow$  dekstriinid ja maltoos  
(lagundavalt)

tärklis  $\beta$ -amülaas  $\longrightarrow$  maltoos ja dekstriinid  
(suhkrustavalt)

dekstriinid dekstrinaas  $\longrightarrow$  maltoos

tärklis või dekstriinid amülo-glükosidaas  $\longrightarrow$  glükoos

Fermentipreparaatidel on väga kõrge aktiivsus. Nii näiteks võetakse leivatööstuses 20 g amülaasi ühe tonni rukki-  
jahu kohta. Selliselt töödeldud jahust valmistatud leib on  
parema maitsega, aromaadne ja kõrgema suhkruisaldusega. Fer-  
ment amülaas lagundab jahus teatud hulga tärglist suhkruks.  
Seetõttu intensiivistuvad taigas käärimisprotsessid ja lei-  
va kvaliteet paraneb.

Nii leiva kui ka õlle- ja piiritustööstuses kasutatakse  
peamiselt pärmseente poolt produtseeritud amülaasi. Amülaasi-  
preparaadi mõjul hüdroolüüsib rohkem tärglist suhkruteks, mis-  
tõttu ka alkoholi tekib rohkem. Terade töötlemise protsess  
lüheneb. Hüdroolüüs toimub fermentipreparaatide mõjul 30-40  
minutiga, kuna ilma nendeta kuluks sellele mitukümmend tundi.

Amülaasipreparaate kasutatakse veel konservitööstuses  
mahlade, konservide ja ekstraktide maitse parandamiseks.

Karbohüdraasidest rakendatakse peale amülaasi tööstuses  
sagedamini veel kolme fermenti - maltaasi, laktaasi ja invertaasi.  
Need fermentid lagundavad disahhariide monosahhariidideks  
järgmiselt:

maltoos maltaas → glükoos + glükoos

laktoos laktaas → glükoos + galaktoos

sahharoos invertaas → glükoos + fruktoos

Tööstuses on neist kolmest fermentist leidnud kõige  
sagedamat rakendamist ferment invertaas invertisuhkrute saami-  
seks, seda eriti kondiitritoodete valmistamisel.

Proteolüütilistest fermentidest kasutatakse kõige rohkem  
proteaaase. Proteaasi mõjul lagunevad valgud aminohapeteks  
järgmiselt:

valgud endopeptidaas → peptoonid eksopeptidaas → aminohapped.  
polüpeptiidid

Proteaaase ja proteinaase kasutatakse peamiselt liha-,  
kala-, piima-, juustu-, õlle- ja nahatööstuses. Proteinaasi-  
preparaatidega töödeldud liha muutub pehmeks, maitavamaks ja  
organismi poolt kergemini omastatavaks. Juustu valmistatakse

paljudel juhtudel puhtfermentatiivsel teel.

Õlletööstuses toimub proteolüütiliste fermentide mõjul õlle selgitamine. Õlle hägusus on tingitud valkude denatureerumisest. Fermentipreparaadi lisamisel valgud lagundatakse ja õlu muutub läbipaistvaks.

Pektinaase kasutatakse konservitööstuses. Kõige rohkem on selle grupi fermentidest tuntud pektiin-esteraas ja polügalakturonaas, mis mõjuvad substraadile järgmiselt:

pektiin pektiin-esteraas → metanool + polügalakturoonhape

polügalakturoonhape polügalakturonaas → galakturoonhape.

Marjad töödeldakse enne mahla väljapressimist fermentidega, mille tõttu mahlade eraldumine marjadest on täielikum. Tavaliselt on marjades 90-95% mahla, kuna kätte saadakse ainult 60-70%. Pektinaasi mõjul saadakse kogu hinnaline mahl kätte. Sageli läheb mahladesse marjadest ka pektiini, mistõttu mahl on hägune. Mahl muutub tavalisel seismisel läbipaistvaks alles mõne kuu pärast, kuid pektinaasipreparaadi mõjul 5-7 tunni pärast.

Vähem kasutatakse tsellulaasi, hemitsellulaasi, pentosa-naasi, glükoosoksüdaasi jt. fermentipreparaate.

Fermentide kasutusele võtmine tööstuses on laienenud eriti viimastel aastatel. Nad annavad suurt majanduslikku efekti.

#### FERMENTIDE NOMENKLATUUR JA KLASSIFIKATSIOON

Fermentide nimetusi tuletatakse sufiksi -aas abil, mis lisatakse kas selle substraadi nimetusele, millesse ferment toimib, lõpp-produkti või katalüüsitava protsessi nimetusele. Nii nimetataksegi näiteks valke (proteiine) lõhustavaid fermente proteinaasideks, hüdroolüütiliste protsesside katalüsaatoreid hüdrolaasideks. Ferment alkoholaasi nimetus aga on tuletatud reaktsiooni lõpp-produkti nimetusest.

Juhul kui ferment toimib mitmesse substraadisse, tuletakse tema nimetus substraadist, mille suhtes fermenti katalüütiline toime on aktiivseim.

Lisaks eeltoodud põhimõttele tuletatud nimetustele kasutatakse mõnede fermentide puhul veel klassikalisi, varem kujunenud nimetusi, nagu näiteks pepsiin, trüpsiin jt.

Fermente klassifitseeritakse nende füsioloogilise funktsiooni, katalüütilise toime, prosteetilise grupi ehituse või mõne muu tunnuse järgi. Fermentide klassifikatsioon on palju. 1964. a. võeti vastu rahvusvaheliselt kinnitatud ühtne fermentide klassifikatsioon, mis on trükkis avaldatud Fedorovi (1963) jt. töödes.

Selles klassifikatsioonis on jagatud fermentid 6 klassi:

- 1) hüdrolaasid (lagundavad fermentid),
- 2) oksüdo-reduktaasid (hapendus-taandusfermentid),
- 3) transferaasid (ülekandefermentid),
- 4) lüaasid (lõhustusfermentid),
- 5) isomeraasid,
- 6) ligaasid (süntetaasid).

### 1. Hüdrolaasid

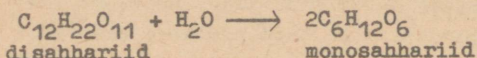
Sia klassi kuuluvad fermentid, mis hüdrolyüsivad polüsahhariide, disahhariide, rasvu ja valkusiid.

Struktuurilt on hüdrolaasid enamikus ühekomponentsed fermentid. Mõningaid neist on saadud puhtal kristalsel kujul, mistõttu nende valguline olemus on täpselt teada.

Hüdrolaasidest võib nimetada järgmisi fermente.

- a) Fermentid, mis katalüüsivad disahhariidide hüdrolyüsi ja sünteesi.

Hüdrolyüsireaktsioon on järgmine:



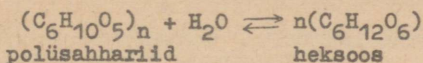
Iga disahhariidi lagundab vastav ferment, millest tähtsamad on järgmised:

sahharaas (invertaas) lagundab sahharoosi glükoosiks ja fruktoosiks;

maltaas lagundab maltoosi kaheks glükoosi molekuliks;  
laktaas hüdrolüüsib piimasuhkru glükoosiks ja galaktoosiks;

tselloobiaas lagundab tsellobioosi kaheks glükoosi molekuliks.

- b) Fermendid, mis katalüüsivad polüsahhariidide lagundamist. Nende ühendite hüdrolüüsil saadakse di- ja monosahhariide



Selle grupi tähtsamad ferendid on:

amülaas (diastaas), mis lagundab tärglise lihtsamateks ühenditeks.

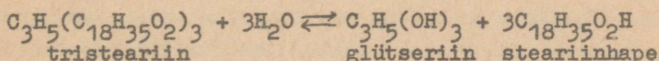
On olemas  $\alpha$  - ja  $\beta$  -amülaas.  $\alpha$  -amülaas hüdrolüüsib tärglise dekstriinideks ja vähesel hulgal tekib maltoosi. Amülaasid esinevad rukki-, nisu- ja odraidandites, inimese süljes, hallitusseentes jm.

$\beta$  -amülaasi toimel laguneb tärglis maltoosiks ja tekib vähesel hulgal kõrgmolekulaarseid dekstriine.

$\beta$  -amülaasi on sojaubades jm. Amülaas on ühekomponentne ferment.

tsellulaas (tsütaas) lagundab tselluloosi tsellubioosiks.

- c) Fermendid, mis kutsuvad esile estrite hüdrolüüsi. Selline ferment on näiteks lipaas, mis lagundab rasvad glütseriiniks ja rasvhapeteks järgmiselt:

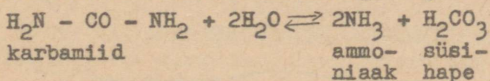


pektaas (pektiin-esteraas) lagundab pektiinaineid.

- d) Fosfataasid - ferendid, mis on seotud fosforhappeestrite muutmisega. Siia kuulub näiteks monofosfataas, mis kutsub esile fosforhappe monoestrite hüdrolüüsi;

difosfataas, mis lagundab fosforhappe diestreid.

- e) Fermendid, mis sünteesivad ja lagundavad amiide ja aminohappeid. Sellesse rühma kuulub näiteks ferment ureaas, mis lõhustab karbamiidi ammoniaagiks ja süsihappeks.



- f) Fermentid, mis katalüüsivad valkude ja polüpeptiidide lõhustamist (proteasid). Proteasid võtavad osa ka valkude sünteesist. Need fermentid jaotatakse tavaliselt proteinaasideks, mis katalüüsivad valkude hüdrolyüüsi, ja peptidaasideks, mis hüdrolyüsivad dipeptide ja polüpeptide.

## 2. Oksüdo-reduktaasid

Hapendus-taandusfermentid e. oksüdo-reduktaasid katalüüsivad hingamisprotsessides elektroni või vesiniku ülekandmist ja hapniku aktiveerimist. Vesiniku ülekandmist katalüüsivad dehüdrogenaasid.

Oksüdaasid aga aktiveerivad molekulaarset hapnikku ja selle ülekandmist.

Dehüdrogenaasid jagatakse kahte rühma:

- a) Primaarsed (anaeroobsed) dehüdrogenaasid, mis astuvad ühendusse substraadiga ja võtavad sellelt ära vesiniku. Vesinikku aga pole nad võimelised ära andma õhuhapnikule, küll aga mingile teisele aktseptorile, näiteks tsütokroom-süsteemile.

Paljude dehüdrogenaaside aktiivsel grupil - kofermentid - on tähtis osa piimhappelisel ja alkohoolsel käärmisel. Koferment astub ühendusse ühe või teise spetsiifilise valguga ja moodustab dehüdrogenaase, mis võtavad ära vesiniku teatud orgaaniliselt ainelt. Taandatud koferment (dehüdrokosümaas) võib anaeroobsetes tingimustes oma vesiniku edasi anda teatud keemilisele ühendile. Näiteks alkohoolsel käärmisel taandab see vesinik atseetaldehüüdi etüülalkoholiks.

Anaeroobsed dehüdrogenaasid jaotatakse kahte gruppi: ühtede dehüdrogenaaside kofermentiks on NAD, mida nimetatakse kodehüdrogenaas I-ks (Ko I ehk kodehüdraas), teistel NADP, mida nimetatakse ka kodehüdrogenaas II-ks (Ko II ehk kodehüdraas II).

Need on suure reaktsioonivõimega redoksfermentid. Viimasel ajal peetakse neid üha tähtsamateks ka vees oleva vesiniku ülekandmisel CO<sub>2</sub> taandamisprotsessis fotosünteesil.

- b) Sekundaarsed (aeroobsed) dehüdrogenaasid kannavad vesiniku üle primaarselt dehüdrogenaasilt teistele süsteemidele (polü-



hapniku abil uuestiokinooniks. A. V. Palladin nimetas taimes esinevaid polüfenoole (värvusetud) hingamiskromogeenideks ja nende hapendamisel tekkivaid vastavaid kinoone (värvilised) hingamispigmentideks.

Hingamisprotsessis etendab tähtsat osa veel ferment askorbiinoksüdaas. Askorbiinoksüdaas hapendab askorbiinhappe dehüdroaskorbiinhappeks, kusjuures eraldub 2 H. Dehüdroaskorbiinhape võib olla uuesti dehüdrogenaaside poolt loodava vesiniku aktseptoriks.

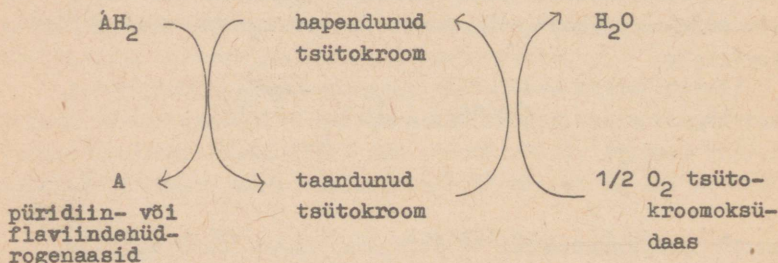
Oksüdaaside tegevuse mehhanism seisneb selles, et substraadi dehüdrogeniseerimisel (H ära võtmisel) ühendavad nad endaga elektroni, taandades kahevalentse vase ühevalentseks. Andes elektroni hapnikule, aktiveerivad nad sellega hapniku, mis on võimaline siis ühinema vesinikiooniga.

Oksüdaasidest tuleb nimetada veel tsütokroomoksüdaassüsteemi, mis koosneb tsütokroomidest ja tsütokroomoksüdaasist.

Tsütokroomoksüdaassüsteem kuulub hemiinühendite gruppi - need on raua ja porfüriini kompleksühendid. Tsütokroomid on kõikides aeroobselt hingavates organismides.

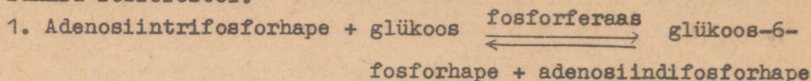
Need ferendid esinevad hapendunud ja taandatud vormides ning muutuvad kergesti üksteiseks. Seejuures muutub Fe valents - kolmevalentne raud ferendis muutub kahevalentseks.

Tsütokroomoksüdaassüsteem etendab vahepealse lüli osa taandatud püridiin- või flaviindehüdrogenaaside ja õhuhapniku vahel järgmise skeemi kohaselt:

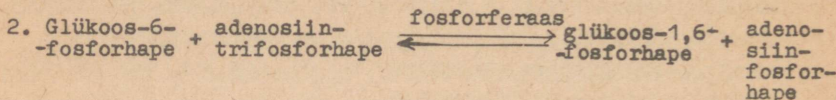




Siinjuures moodustub adensiindifosforhape ja vastava suhkru fosforester.



Moodustunud glükoos-6-fosforhape võib fosforferaaside abil edasi ühineda ühe fosforhappe jäägiga, saades selle adensiintrifosforhappe uuest molekulist.



Esimest reaktsiooni katalüüsivad fosforferaaside grupist ferment heksokinaas ja teist reaktsiooni fosforheksokinaasid.

#### 4. Isomeraasid

Antud grupi fermentid katalüüsivad mitmesuguste orgaaniliste ühendite isomerisatsiooni, millel on organismi ainevahetuses tähtis koht.

Isomeraaside mõju võib esineda näiteks fosfortriooosi moodustumises, mis on käärimise vaheproduktiks.



3-glütserinaldehüüd-fosforhape      fosfordioksüatsetoon

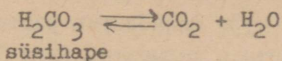
P - fosforhappe jääk.

Oksüisomeraasid ja fosforglükomutaasid, kuuludes siia gruppi, katalüüsivad suhkrute fosforileerimist, estrite muutmist käärimis- ja hingamisprotsesside esimestel etappidel.

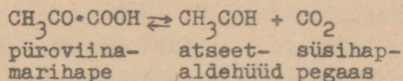
## 5. Lüaasid

Need ferendid katalüüsivad ainete lõhustumist vee ja fosforhappe osavõttuta. Nad eraldavad süsihappegaasi, ammoniaagi jne. aatomeid substraadist.

Lõhustusfermentide gruppi kuulub näiteks süsihappeanhüdraas, mis lõhustab süsihappe süsihappegaasiks ja veeks.



Püroviinamarihappe lõhustumine toimub ferment karboksülaasi mõjul.



## 6. Süntetaasid (ligaasid)

Ferendid süntetaasid katalüüsivad orgaaniliste ainete ülesehitusprotsesse. Seda gruppi kuuluvad spetsiifilised ferendid, mis kutsuvad esile sünteesiprotsesse. Näiteks glutamiinsüntetaasi mõjul sünteesitakse glutamiini glutamiin- hapest ja ammoniaagist.

## K i r j a n d u s

- Männik, A., Bioaktiivsed ained, Tartu 1962.  
Владимиров, Г. Е. и Лызлова, С. Н., Энзимология, Изд. Ленинг.  
Универ. 1962.  
Диксон, М. и Уебб, Э., Ферменты, М. 1961.  
Кретович, В. Л., Основы биохимии растений, М. 1964.  
Максимов, Н. А., Краткий курс физиологии растений, М. 1958.  
Пейве, Я. В., Микроэлементы и ферменты, Рига 1960.  
Рубин, Б. А., Курс физиологии растений, М. 1964.  
Туркова, Н. С., Дыхание растений, М. 1963.  
Федоров, М. В., Микробиология, М. 1963.  
Цыперович, А. С., Ферменты в промышленности, Киев 1962.  
Ферменты. Под редакцией А. Е. Браинштейна, М. 1964.

## S i s u k o r d

Fermentide omadused .....	5
Fermentide katalüütilise toime mehhanism .....	6
Fermentide struktuur .....	7
Keskkonnatingimuste mõju fermentide aktiivsusele .....	10
Fermentide aktivaatorid ja paralüsaatorid .....	11
Fermentide bioloogiast .....	15
Fermentide kasutamisest tööstuses .....	17
Fermentide nomenklatuur ja klassifikatsioon .....	19
Kirjandus .....	28

A-28077

Hind 4 kop.

TÜ RAAMATUKOGU



1 0300 00446433 7