

(рис. 2). Отрезок на оси абсцисс, соответствующий скорости, равной половине максимальной, будет представлять собой  $K_M$ . При проведении ферментативной реакции реакционная смесь должна содержать такое количество субстрата, которое обеспечит насыщение фермента в течение всего хода определения (количество субстрата, взятого для проведения ферментативной реакции, должно быть примерно на 30% выше насыщающей концентрации).

Если форма кривой зависимости начальной скорости реакции ( $v_o$ ) от начальной концентрации субстрата ( $[S]_0$ ) отличается от гиперболической, определение параметров по уравнению Михаэлиса–Ментен невозможно. Такие отклонения наблюдаются в случае ингибирования или активации фермента субстратом, а также при работе с аллостерическими ферментами. В этом случае оптимальной является та концентрация субстрата, при которой начальная скорость реакции максимальна ( $[S]_{opt}$ ) – точка перегиба на экспериментальной кривой зависимости начальной скорости реакции от начальной концентрации субстрата (рис. 2).

После выбора насыщающей концентрации субстрата необходимо проверить, сохраняется ли при ней линейная зависимость  $[P]$  от  $t$ .

В качестве субстратов используются как природные вещества, такие как альбумин, казеин, крахмал, так и синтетические. Природные субстраты ферментов используют большей частью для подтверждения подлинности. Синтетические субстраты обеспечивают более высокую точность и лучшую воспроизводимость при количественном определении ферментативной активности.

**3. Концентрация фермента ( $[E]_0$ ).** В соответствии с уравнением Михаэлиса–Ментен начальная скорость ферментативной реакции ( $v_o$ ) в подавляющем большинстве случаев линейно зависит от концентрации фермента ( $[E]_0$ ). Выбор оптимальной для каждого метода концентрации