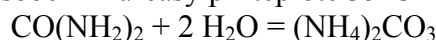


Úloha 9-10 Výpočet molární aktivity enzymu z integrálních dat

Při studiu rozkladu močoviny působením ureasy při teplotě 35°C



byl sledován vliv koncentrace enzymu.

K 10 cm³ roztoku, který obsahoval 0,00165 molu močoviny, bylo přidáváno 1 až 5 cm³ roztoku ureasy (podle pokusu) a množství vody, potřebné k doplnění vzorku na objem 15 cm³. V 1 cm³ roztoku ureasy bylo obsaženo 3,6 mg ureasy ($M = 480 \text{ kg mol}^{-1}$). Reakce byla přerušována po vhodně volené době přidáním přebytku 0,1 M HCl. Tím se enzym zničil a množství HCl, zbylé po neutralizaci uhličitanu amonného, vytvořeného rozkladem močoviny, bylo stanoveno titrací 0,1 M hydroxidem. Byla zjištěna tato data:

τ / min	relativní množství enzymu	rozložená močovina / %
80,0	1	51,2
40,0	2	52,0
26,6	3	52,6
20,0	4	53,2
16,0	5	53,3

Množství enzymu je uváděno relativně k množství enzymu přidanému při prvním pokusu. Jaká je molární aktivita ureasy? Michaelisova konstanta má hodnotu $K_M = 0,04 \text{ mol dm}^{-3}$.

$$[k_2 = 36,458 \text{ s}^{-1}]$$

Řešení:

Výpočet počáteční koncentrace substrátu:

$$n_{S0} = 0,00165 \text{ mol CO}(\text{NH}_2)_2$$

$$V_{\text{roztok}} = 15 \text{ cm}^3 = 0,015 \text{ dm}^3$$

$$c_{S0} = \frac{n_{S0}}{V_{\text{roztok}}} = \frac{0,00165}{0,015} = 0,11 \text{ mol dm}^{-3}$$

c_{S0} je srovnatelná s $K_M = 0,04 \text{ mol dm}^{-3}$

$$v = \frac{dc_P}{d\tau} = -\frac{dc_S}{d\tau} = \frac{v_{\max} \cdot c_S}{K_M + c_S} \quad (1)$$

$$c_S = c_{S0} - c_{S0} \cdot \alpha \quad (2)$$

$$c_{S0} \cdot \frac{d\alpha}{d\tau} = \frac{v_{\max} \cdot c_{S0} \cdot (1 - \alpha)}{K_M + c_{S0} \cdot (1 - \alpha)} \quad (3)$$

$$v_{\max} \cdot d\tau = \frac{K_M}{(1 - \alpha)} d\alpha + c_{S0} \cdot d\alpha \quad (4)$$

$$v_{\max} = k_2 \cdot c_{E0} \quad (5)$$

$$v_{\max} \cdot \tau = k_2 \cdot c_{E0} \cdot \tau = -K_M \cdot \ln(1 - \alpha) + c_{S0} \cdot \alpha \quad (6)$$

$$k_2 = -\frac{K_M}{(c_{E0})_i \cdot \tau_i} \cdot \ln(1 - \alpha_i) + \frac{c_{S0} \cdot \alpha_i}{(c_{E0})_i \cdot \tau_i} \quad (7)$$

(i je číslo pokusu)

Výpočet koncentrace enzymu při jednotlivých pokusech:

$$m_{E0} = 3,6 \text{ mg} = 3,6 \cdot 10^{-6} \text{ kg}, \quad M_E = 480 \text{ kg mol}^{-1}$$

Látkové množství enzymu v 1 cm³

$$(n_{E0})_1 = \frac{m_{E0}}{M_{E1}} = \frac{3,65 \cdot 10^{-6}}{480} = 7,5 \cdot 10^{-9} \text{ mol}$$

Koncentrace enzymu při jednotlivých pokusech ($i = 1$ až 5):

$$(c_{E0})_i = \frac{(n_{E0})_i}{V_{\text{roztok}}} = \frac{(n_{E0})_1}{V_{\text{roztok}}} \cdot i = \frac{7,5 \cdot 10^{-9}}{0,015} \cdot i = 5 \cdot 10^{-7} \cdot i$$

[illegible]