



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

Ενόργανη Ανάλυση II

Ενότητα 1: Θεωρία Χρωματογραφίας
8^η Διάλεξη

Θωμαΐδης Νικόλαος
Τμήμα Χημείας
Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας

ΚΙΝΗΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Η χρησιμοποιούμενη αντίδραση κατά τη διάρκεια της μετρήσεως βρίσκεται σε εξέλιξη

Μετρούνται οι μεταβολές των συγκεντρώσεων ή ενός φυσικού μεγέθους (π.χ. απορρόφηση) και :

- είτε εξαγονται συμπεράσματα για την κινητική της
- **είτε συσχετίζονται με τη συγκέντρωση του αναλύτη**

Αναλύτες:

- αντιδρώντα
- προϊόντα
- καταλύτες
- παρεμποδιστές

Κλασσικές ΚΜΑ:

- Το συστατικό που ενδιαφέρει προσδιορίζεται ογκομετρικά.
- Εφαρμόζεται σε βραδείες αντιδράσεις
- Το σύστημα διαταράσσεται

Ενόργανες ΚΜΑ:

Η συγκέντρωση του αναλύτη συνδέεται με μια ιδιότητα (π.χ. Α) η οποία παρακολουθείται με μια ενόργανη τεχνική **συνεχώς**



ΚΙΝΗΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΜΑ

- **Ταχείες** μέθοδοι
- **Εκλεκτικές** για ορισμένες χημικές οντότητες στο διάλυμα: Ενζυμικές αντιδράσεις – **Ενζυμική ανάλυση**
- **Αξιόπιστες** μέθοδοι: Σχετικές και όχι απόλυτες μετρήσεις. Μετρείται η διαφορά της παραμέτρου, $\Delta A = f(C)$. Οι μετρήσεις μας είναι ανεπηρέαστες από τους παρεμποδιστές (π.χ. θολερότητα ορού)
- Επιτυγχάνεται προσδιορισμός δύο ή τριών ενώσεων χωρίς φυσικό διαχωρισμό τους, αφού μπορεί να έχουν διαφορετικές ταχύτητες αντίδρασης

ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ – ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΚΜΑ

- Ο χρόνος ημίσειας ζωής της αντίδρασης πρέπει να είναι μεγαλύτερος από το χρόνο ανάμιξης των αντιδρώντων και το χρόνο απόκρισης του οργάνου
- Οι συνθήκες (θ , pH, ιοντική ισχύς) επηρεάζουν σημαντικά την ταχύτητα \Rightarrow και την αξιοπιστία των μετρήσεων. Απαιτείται **αυστηρός έλεγχος συνθηκών \Rightarrow Αυτοματοποίηση**

➤ **Μη αυτοματοποιημένες ΚΜΑ:** το σήμα λαμβάνεται και καταγράφεται σε τακτά διαστήματα

➤ **Αυτοματοποιημένες ΚΜΑ:** το σήμα καταγράφεται συνεχώς και το αποτέλεσμα λαμβάνεται από μ/u



ΚΙΝΗΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΡΧΙΚΗΣ ΤΑΧΥΤΗΤΑΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ

Παρακολουθείται μόνο το αρχικό στάδιο της αντίδρασης (1-3%) διότι:

- Η αντίδραση είναι ταχύτερη στην αρχή
- Η καμπύλη της αντίδρασης είναι γραμμική και η κλίση της ανάλογη της συγκέντρωσης του αναλύτη
- Επειδή η συγκέντρωση των προϊόντων είναι μικρή αρχικά, αποφεύγεται η περίπτωση παράλληλων αντιδράσεων

ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΔΟΧΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΜΑ

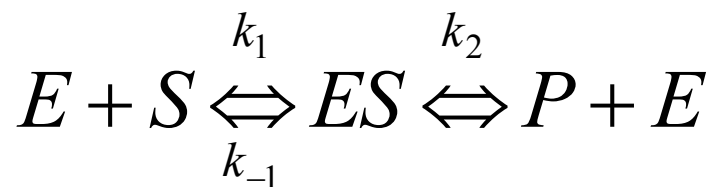
1. Η πορεία της αντίδρασης παρακολουθείται συνεχώς με παρακολούθηση ενός αντιδρώντος ή ενός προϊόντος
2. Η απόκριση του ανιχνευτή συμφωνεί ιδανικά με παραδεδεγμένες θεωρητικές σχέσεις
3. Η χρησιμοποιούμενη αντίδραση είναι ψευδομηδενικής ή ψευδοπρώτης τάξης
4. Η ταχύτητα αντίδρασης είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του αναλύτη
5. Η μέτρηση της ταχύτητας αντίδρασης σταματά ενώ η αντίδραση είναι στην αρχή και οι συγκεντρώσεις των αντιδρώντων δεν έχουν μεταβληθεί σημαντικά



ΕΝΖΥΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

ΕΝΖΥΜΑ:

Πρωτεΐνες μεγάλου ΜΒ (10^4 - 10^6) που καταλύουν βιοχημικές αντιδράσεις



Χαρακτηριστικό τους: **Μεγάλη εξειδίκευση**

- Οξειδάσες
- Αφυδρογονάσες
- Υδρολάσες
- Υδράσες
- Τρανσαμινάσες
- Δεσμουλάσες
- Κ.Ο.Κ



ΕΝΖΥΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ

Ποσότητα του ενζύμου σ' ένα βιολογικό δείγμα η οποία επιδρά στην ταχύτητα της αντίδρασης που καταλύει

Εξαρτάται από:

1. pH
2. θερμοκρασία
3. φύση και σύσταση ρυθμιστικού διαλύματος
4. Συγκέντρωση υποστρώματος [S]
5. την παρουσία ενεργοποιητών ή αναστολέων

Μονάδες ενζυμικής ενεργότητας

➤ **Διεθνή μονάδα ενεργότητας (IU):**

Αριθμός των μολ του S που μετατρέπονται ανά min κάτω από καθορισμένες συνθήκες

Συγκέντρωση ενζυμικής ενεργότητας: IU/L

⇒ Δεν υπονοεί καμία συγκεκριμένη θερμοκρασία, οπότε μαζί με την ενεργότητα πρέπει να δίνεται και η θ μέτρησης της (συνήθως 32 ή 37°C)

➤ **1 Katal (Kat, μονάδα στο SI):**

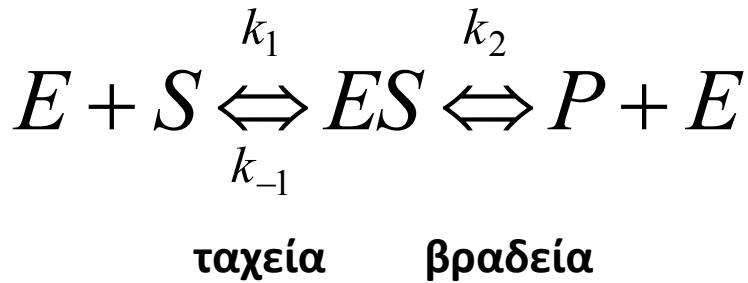
Η ποσότητα της ενεργότητας του ενζύμου που μετατρέπει ένα mol υποστρώματος ανά sec κάτω από καθορισμένες συνθήκες

$$1 \text{ Kat} = 6 \times 10^7 \text{ IU}$$



ΕΝΖΥΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΕΝΖΥΜΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ (Κινητική Michaelis-Menten)



$$u = -\frac{d[S]}{dt} = V_{\max} \cdot \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

V_{\max} = η μέγιστη ταχύτητα που μπορεί να εμφανίσει το ένζυμο και είναι σταθερή, ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση του υποστρώματος

Αριθμός ανακυκλώσεως: αριθμός των μορίων του S που μεταβάλλονται από ένα μόριο ενζύμου στη μονάδα του χρόνου

$$V_{\max} = k_2[E]_{ολ}$$



ΕΝΖΥΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Κινητική Michaelis-Menten:

Σταθερά Michaelis-Menten $K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$

για $u = \frac{V_{max}}{2} \Rightarrow K_m = [S]$

$K_m = \eta [S]$ η οποία δίνει αρχική ταχύτητα ίση με το μισό της μέγιστης ταχύτητας – είναι το μέτρο της συγγένειας του ενζύμου με το υπόστρωμα του
– όσο πιο μεγάλη η K_m τόσο πιο μεγάλη η χημική συγγένεια

Ενζυμική Ανάλυση:

1. **Ενεργότητα ενζύμου**

2. Συγκέντρωση **υποστρωμάτων**

3. **Συνένζυμα**: οργανικά μόρια με πολύπλοκη δομή που συμμετέχουν στην κατάλυση της αντίδρασης (πχ NAD)

4. **Ενεργοποιητές**: μικρά μόρια ή ιόντα που φέρνουν το ένζυμο σε δραστική (καταλυτική) κατάσταση

5. **Παρεμποδιστές ή αναστολείς**: ενώσεις που μειώνουν την καταλυτική δράση του ενζύμου (πχ CN^-)



Τέλος



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Σημειώματα



Σημείωμα Ιστορικού Εκδόσεων Έργου

Το παρόν έργο αποτελεί την έκδοση 1.0.

Έχουν προηγηθεί οι κάτωθι εκδόσεις:

- Έκδοση διαθέσιμη [εδώ](#).



Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Εθνικών και Καποδιστριακών Πανεπιστημίων
Αθηνών, Νικόλαος Θωμαΐδης 2015. Νικόλαος Θωμαΐδης.
«Ενόργανη Ανάλυση II». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2015.

Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:

<http://opencourses.uoa.gr/courses/CHEM104>.



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



- [1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>
- Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:
 - που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
 - που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
 - που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο
- Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

