

02738452 เคมีเชิงฟิสิกส์ทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ \$+ต.ค. (#

อัตราของปฏิกิริยา (ต่อ)

+++ การวัดอัตราปฏิกิริยาโดยใช้เครื่อง spectrophotometer +++

ตัวอย่าง (ข้อ 6.7 ใน textbook) *The molar absorption coefficient of a substance dissolved in water is known to be $855 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ at 270 nm. To determine the rate of decomposition of this substance, a solution with a concentration of $3.25 \text{ mmol dm}^{-3}$ was prepared. Calculate the percentage reduction in intensity when light of that wavelength passes through 2.5 mm of this solution. (Ans: 79.8 %) คำตอบใน Textbook ผิด*

วิธีทำ จาก $I/I_0 = 10^{-(\epsilon[\text{substance}]L)}$

$$\text{แทนค่าได้ } I/I_0 = 10^{-(855 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \times 3.25 \text{ mmol dm}^{-3} \times 2.5 \text{ mm})}$$

แปลงหน่วยให้เป็นหน่วยเดียวกัน เพื่อให้ตัดกันได้

$$I/I_0 = 10^{-(855 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \times 3.25 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3} \times 0.25 \text{ cm})}$$

$$= 0.202 \quad \text{ดังนั้น / คิดเป็น 20.2% ของ } I_0$$

และเปอร์เซ็นต์ความเข้มของแสงลดลงไปจากเดิม $100\% - 20.2\% = 79.8\%$ Ans

+++ การประยุกต์ chemical kinetics กับปฏิกิริยาที่มีหลายขั้นตอน +++

ปฏิกิริยาที่มีขั้นตอนเดียว เช่น $A + B \rightarrow \text{Products}$ นั้น ที่จริงแล้วในระบบชีวภาพไม่ค่อยพบบ่อย ปฏิกิริยาทางชีวเคมีส่วนมากจะมีความซับซ้อนกว่านี้ เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาย่อย ๆ หลายขั้นตอน เช่น



และสารตั้งต้นกับผลิตภัณฑ์ก็มักจะมีส่วนร่วมในปฏิกิริยาอื่น ๆ อีกด้วย อย่างที่เห็นใน metabolic pathways

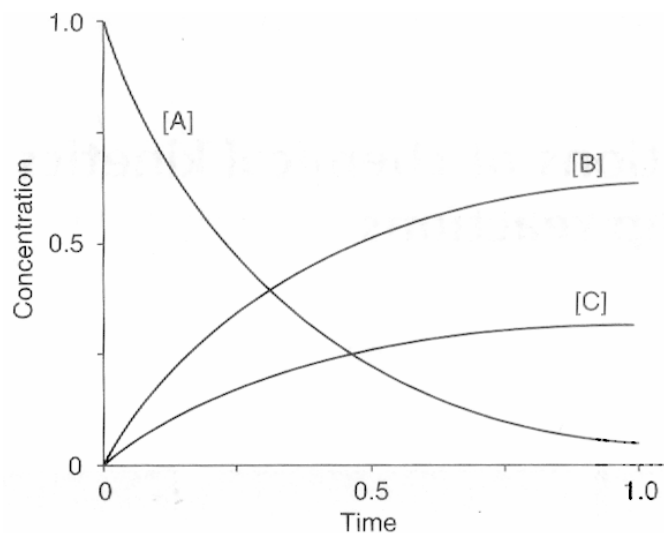
ปฏิกิริยาคู่ขนาน (Parallel reactions)

ในกรณีนี้ สารประกอบ A สามารถก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์แยกกันสองชนิด คือ B กับ C



ภาพกราฟขวามือ เป็นตัวอย่างกรณีนี้

$k_1 = 2k_2$ และทั้งสามเส้นเป็น first order



โดยที่ ค่าคงที่อัตราคือ k_1 และ k_2 ตามลำดับ อัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ B และ C เป็นไปตามสมการดังนี้ $d[B]/dt = k_1[A]$ และ $d[C]/dt = k_2[A]$

อัตราการหายไปของ A คือ “อัตราการหายไปของ A กลายเป็น B” บวก “อัตราการหายไปของ A กลายเป็น C”

$$-d[A]/dt = k_1[A] + k_2[A] = (k_1 + k_2)[A]$$

ตัวอย่าง ติดฉลากเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วย ^{59}Fe ซึ่งมีครึ่งชีวิตของการสลายตัวเท่ากับ 45 วัน เก็บตัวอย่างเม็ดเลือดแดง ล้างแล้วนำมานับ activity ตามช่วงเวลา ได้ผลดังนี้

เวลา/ชั่วโมง	0	12	24	48	96	192	384
Activity/counts	532	525	518	504	478	429	347

จงคำนวณหาเวลาครึ่งชีวิตทางชีวภาพ (biological half-time) สำหรับ Fe ที่อยู่ในเซลล์เม็ดเลือดแดง

biological half-time หมายถึงอัตราที่ Fe แลกเปลี่ยนกับสิ่งแวดล้อม

วิธีทำ Activity ของ ^{59}Fe หายไปเรื่อย ๆ ด้วยกระบวนการ 2 อย่าง คือ การสลายตัวของกัมมันตรังสี (radioactive decay) กับ การหายไปสู่อสิ่งแวดล้อม ทั้งสองกรณีนี้เป็นกระบวนการแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ดังนั้น

$$-d[\text{Fe}]/dt = (k_1 + k_2)[\text{Fe}] = k^{\text{app}}[\text{Fe}]$$

เมื่อ k_1 คือ อัตราการสลายตัวของกัมมันตรังสี และ k_2 คือ อัตราการหายไปสู่อสิ่งแวดล้อม

อัตราปฏิกิริยาแบบอันดับหนึ่งในภาพรวมคือ k^{app} สามารถหาได้จากข้อมูลจากการทดลอง โดยพล็อต

กราฟ $\ln(\text{activity})$ กับ เวลา



จะได้ค่าความชัน $k^{\text{app}} = 0.0011 \text{ h}^{-1}$

ค่าคงที่อัตราสำหรับการสลายตัวของกัมมันตรังสี หาได้จาก

$$k_1 = (\ln 2)/t_{1/2} = 0.0006 \text{ h}^{-1}$$

$$\text{ดังนั้น } k_2 = k^{\text{app}} - k_1 = 0.0005 \text{ h}^{-1}$$

$$\text{จะได้เวลาครึ่งชีวิตทางชีวภาพ } t_{1/2} = (\ln 2)/k_2 = 57.8 \text{ วัน} \quad \text{Ans}$$

ข้อเสนอแนะ : ถึงแม้ว่า Fe จะเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของ metalloproteins หลายชนิด แต่ความเข้มข้นของ Fe อิสระในสารละลายภายในเซลล์มีค่าต่ำมาก เพราะว่าเป็นสารที่มีพิษสูง ดังนั้น Fe ภายในเซลล์จึงต้องเกาะติดอยู่กับสารโมเลกุลใหญ่และโปรตีนที่สามารถจับกับ Fe อิสระได้

ระบบเหล่านี้เองที่คอยจับ Fe ไว้ ทำให้เกิดการแลกเปลี่ยน Fe กับสิ่งแวดล้อมภายนอกเซลล์ช้ามาก 🙏

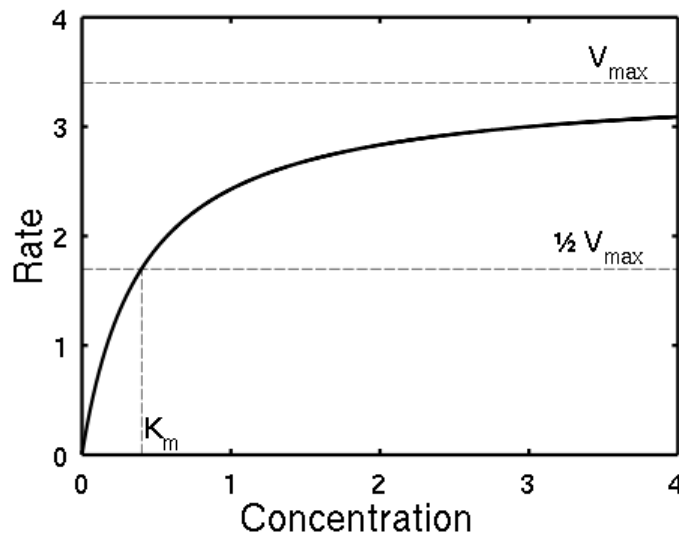
02738452 เคมีเชิงฟิสิกส์ทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ \$+ต.ค. (#

Enzyme Kinetics

+++ การวิเคราะห์ข้อมูล kinetics ของเอนไซม์ +++

Michaelis-Menten equation

$$V_o = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$



K_m เป็นค่าที่ใช้บอกว่าเอนไซม์กับ substrate มี affinity กันมากน้อยเพียงใด

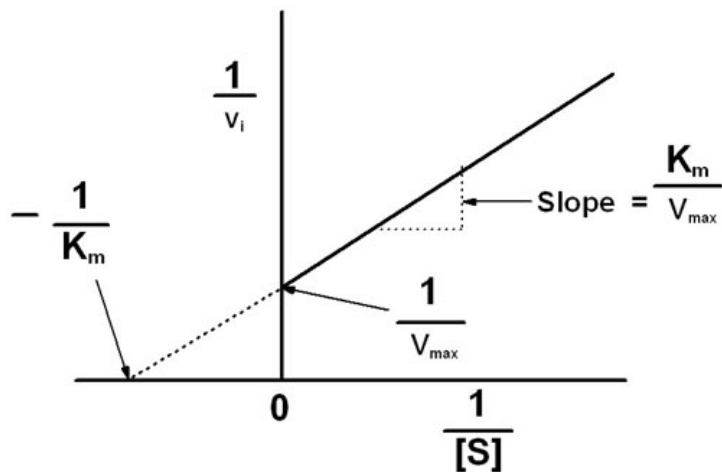
ยิ่ง K_m มีค่าน้อย แสดงว่าเอนไซม์กับ substrate มี affinity กันมาก

ในกรณีที่ $[S]$ มีค่าน้อยกว่า K_m มาก ๆ ค่า V จะแปรผันตรงกับค่า $[S]$ และเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่งเมื่อเทียบกับ $[S]$

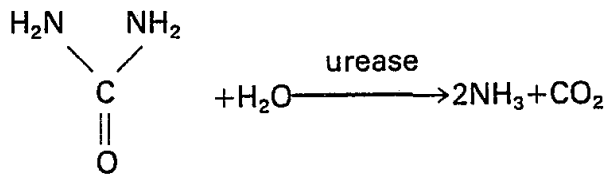
ส่วนกรณีที่ $[S]$ มีค่ามาก ค่า V จะเข้าใกล้ V_{max} และ V ไม่แปรผันตาม $[S]$ และเป็นปฏิกิริยาอันดับศูนย์เมื่อเทียบกับ

$[S]$

Lineweaver-Burk Plot



ตัวอย่าง ศึกษาจลจกรของเอนไซม์ urease ซึ่งเร่งปฏิกิริยา ดังนี้



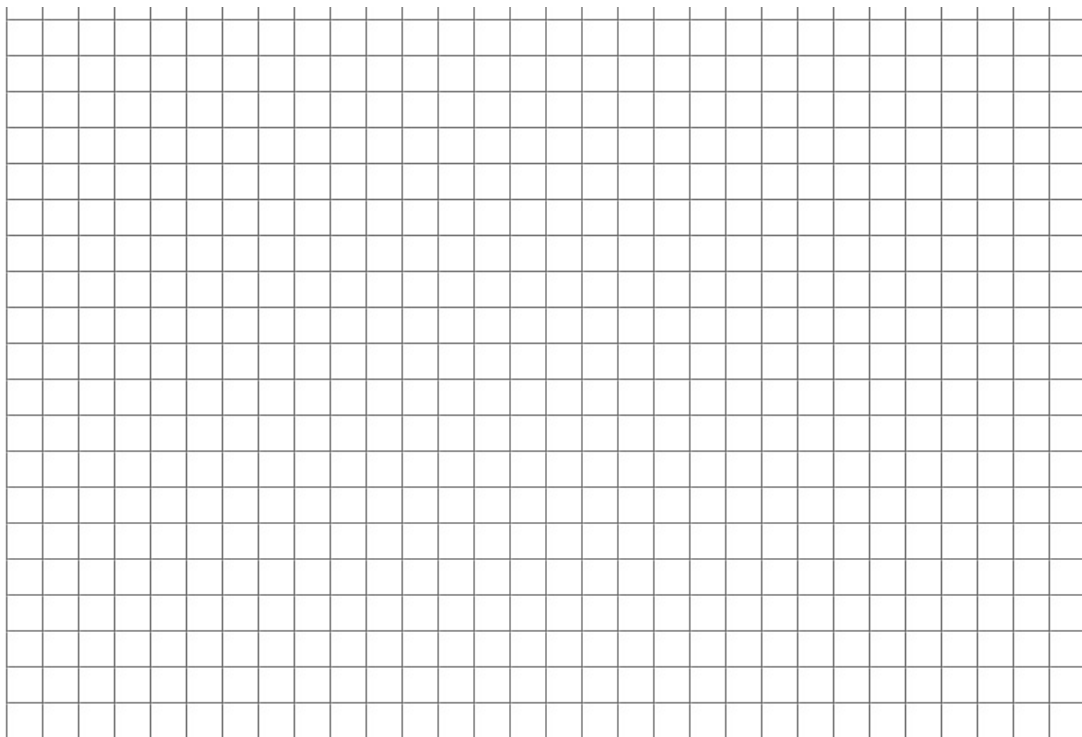
ได้ผลดังนี้

Urea concentration/mM	30	60	100	150	250	400
Velocity/mmol urea consumed (mg enzyme) ⁻¹ min ⁻¹	3.37	5.53	7.42	8.94	10.70	12.04

จงคำนวณหาค่าคงที่ Michaelis (K_m) และความเร็วสูงสุด (V_{max})

วิธีทำ สร้างตารางระหว่าง $1/[S]$ กับ $1/V_i$ แล้วพล็อตกราฟ ให้แกน x เป็น $1/[S]$ และแกน y เป็น $1/V_i$

$1/[S]$						
$1/V_i$						



ตอบ $K_m = 105 \text{ mM}$, $V_{max} = 15.2 \text{ mmol urea consumed mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$

ตัวอย่างเพิ่มเติม ดูตัวอย่าง 8.1 ใน Textbook หน้า 276