

# **Enzymkinetik mit Kartoffeln**

**Zentralkurs Chemie 2003**

Matthias Küng

MNG Bern-Neufeld

*kueng@gartenstrasse18.ch*

# Michaelis-Menten-Kinetik

*nach Michaelis, L. & Menten, M. (1913) Biochem. Z. 49, 333.*



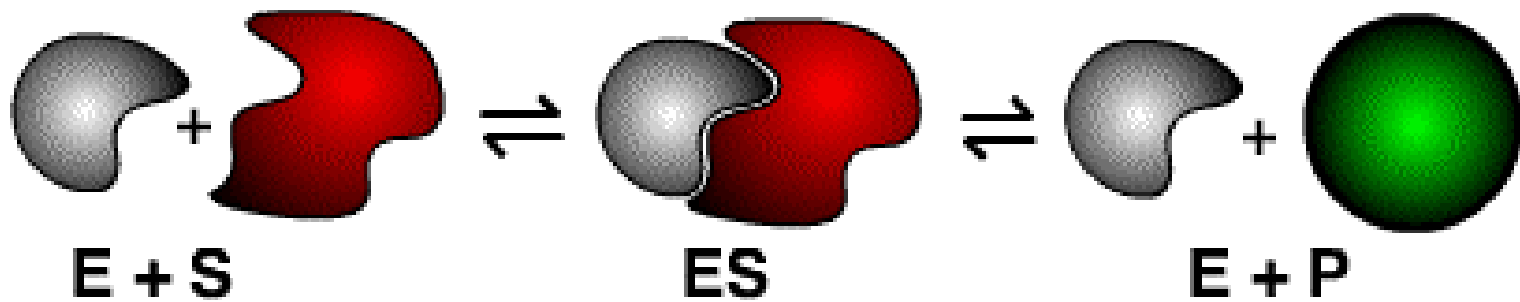
*Maud Menten (1879 – 1960)*



*Leonor Michaelis*

*Leonor Michaelis (1875 – 1949)*

# Ausgangslage



# Vorwissen – Einbettung im Unterricht

- Chemie der Aminosäuren
- Katalysatoren
- (Auf-)bau von Proteinen;  
Wechselwirkungen
- Kooperativität und Allosterie (am Beispiel  
von Hämoglobin)
- **Theorie Enzyme und Enzymkinetik**

# Ziele

- *Praktische* Biochemie mit einfachen Mitteln
- Anwendung der theoretischen Kenntnisse über Enzymkinetik
- *Eigenständige* Charakterisierung eines Enzym/Substratpaares
- Konfrontation mit alltäglichen Problemen in der naturwissenschaftlichen Laborarbeit

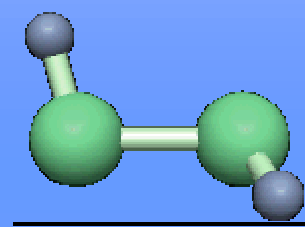
# „Chemikalien“

- Kartoffeln:



(Enzym)

- Wasserstoffperoxid:



(Substrat)

- Hydroxylamin-hydrochlorid

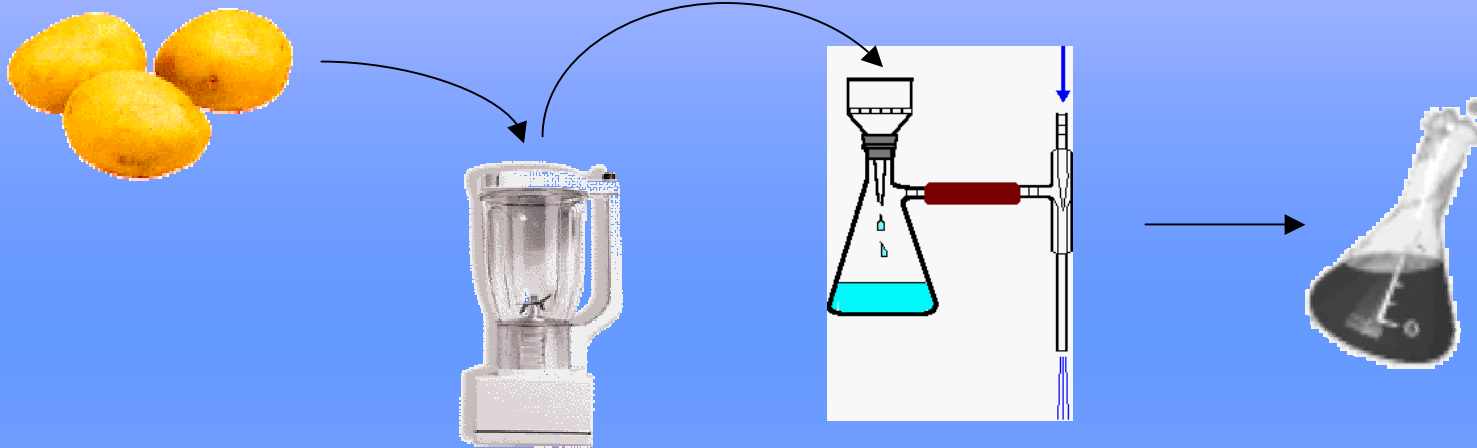


(Inhibitor)

# Material (pro Gruppe)

- 15 Bechergläser (100 ml)
- 1 Messzylinder (100 ml)
- Becherglas (500 ml)
- 1 Eisbehälter (Styroporbox)
- 1 Saugflasche inkl. Filternutsche mit Filterpapier
- Indikatorpapier
- Homogenisator (Mixer)
- Pinzette
- Pasteur-Pipetten
- ca. 100 Papierfilter  
(Ø 20 mm, Schleicher & Schuell Rundfilter 582/2,  
Bestellnr.:300 132)

# Allgemeines Vorgehen (I)

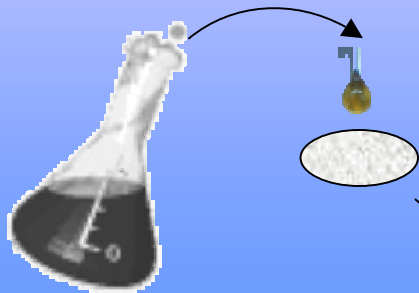


Eine oder zwei Kartoffeln werden geschält, in kleine Würfel geschnitten und in einem Mixer in Eiswasser homogenisiert.

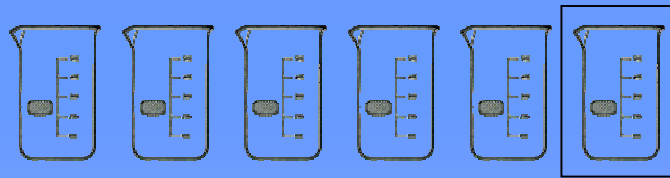
Der Zellsaft wird durch Filtration unter Vakuum von Zelltrümmern befreit und auf Eis aufbewahrt. Er enthält das Enzym Katalase.



# Allgemeines Vorgehen (II)



Das Zell-Lysat mit dem Enzym wird auf Papierfilter aufgetragen und in das Becherglas getaucht.



$H_2O_2$  wird unter verschiedenen Bedingungen in Bechergläsern gelöst vorgelegt



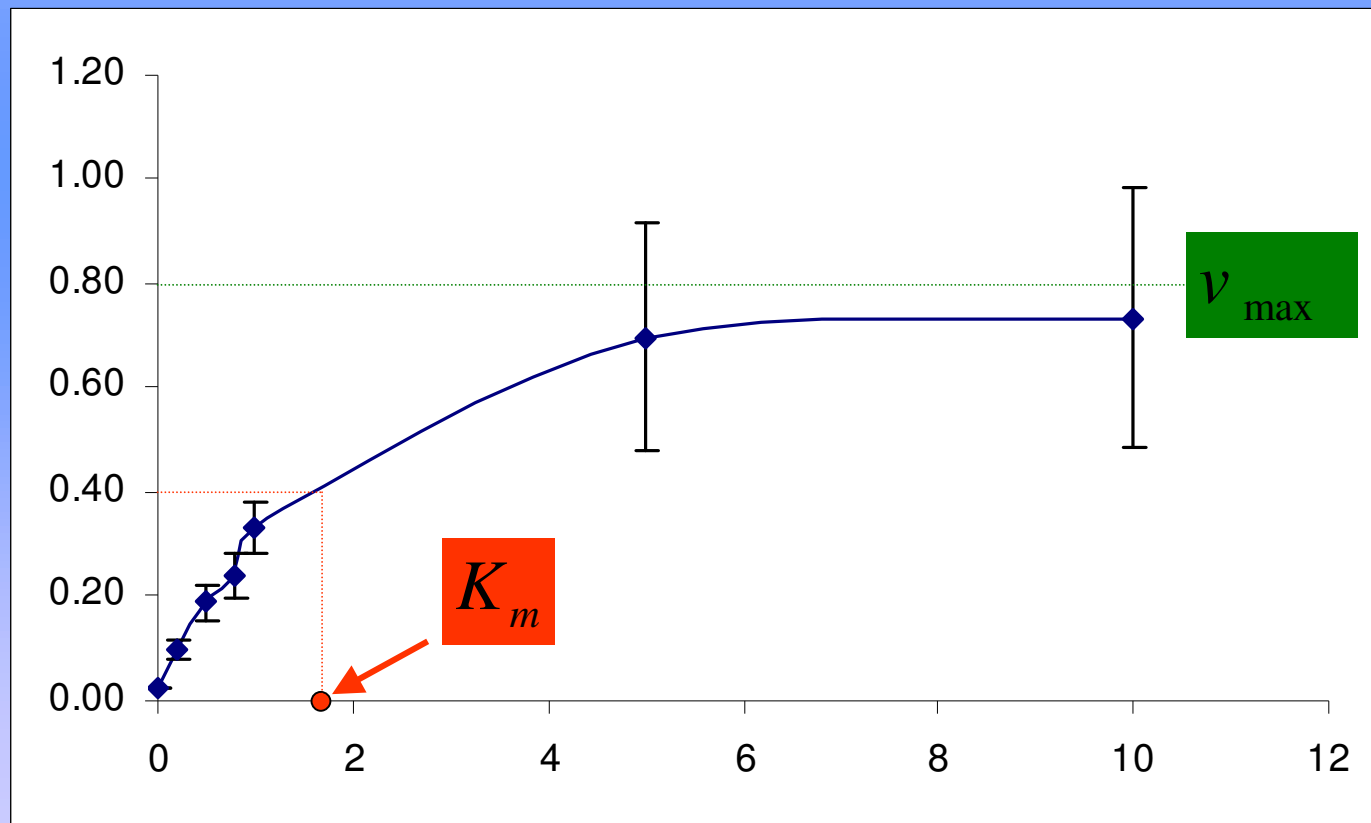
Die Auftauchzeit wird als Funktion der verschiedenen Reaktionsparameter (pH,  $H_2O_2$ -Konzentration) etc. aufgetragen.

# Ziele des Versuchs

- Präparation eines „Enzymextrakts“
- Aufnahme einer Substratsättigungskurve
- Bestimmung von  $K_m$
- pH-Abhängigkeit der Enzymaktivität
- Enzymhemmung, Bestimmung des Hemmtyps
- Diskussion der Resultate

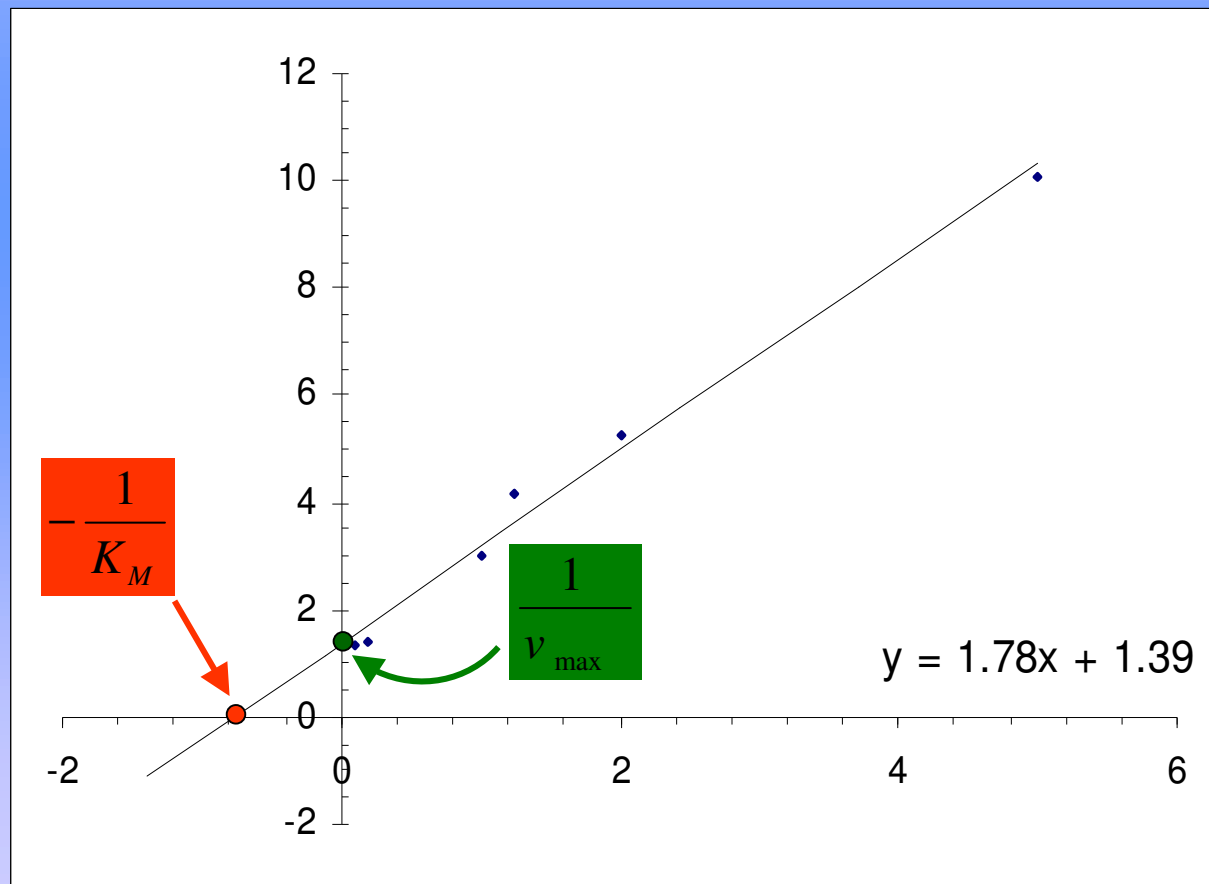
# Typische Resultate (I)

## V2: Substratsättigungskurve



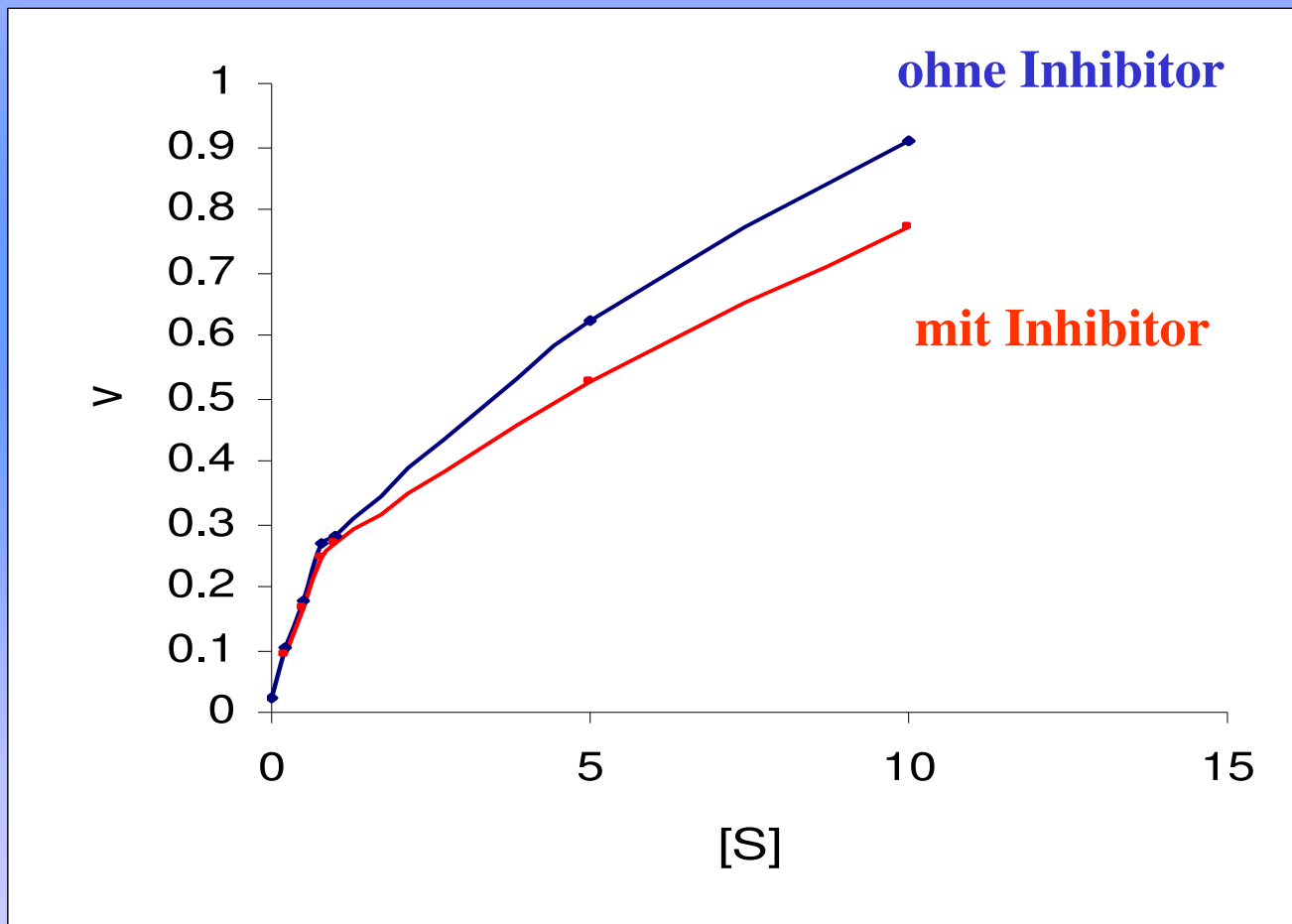
# Typische Resultate (II)

V2: Lineweaver-Burk-Plot, Bestimmung von  $v_{\max}$  und  $K_m$



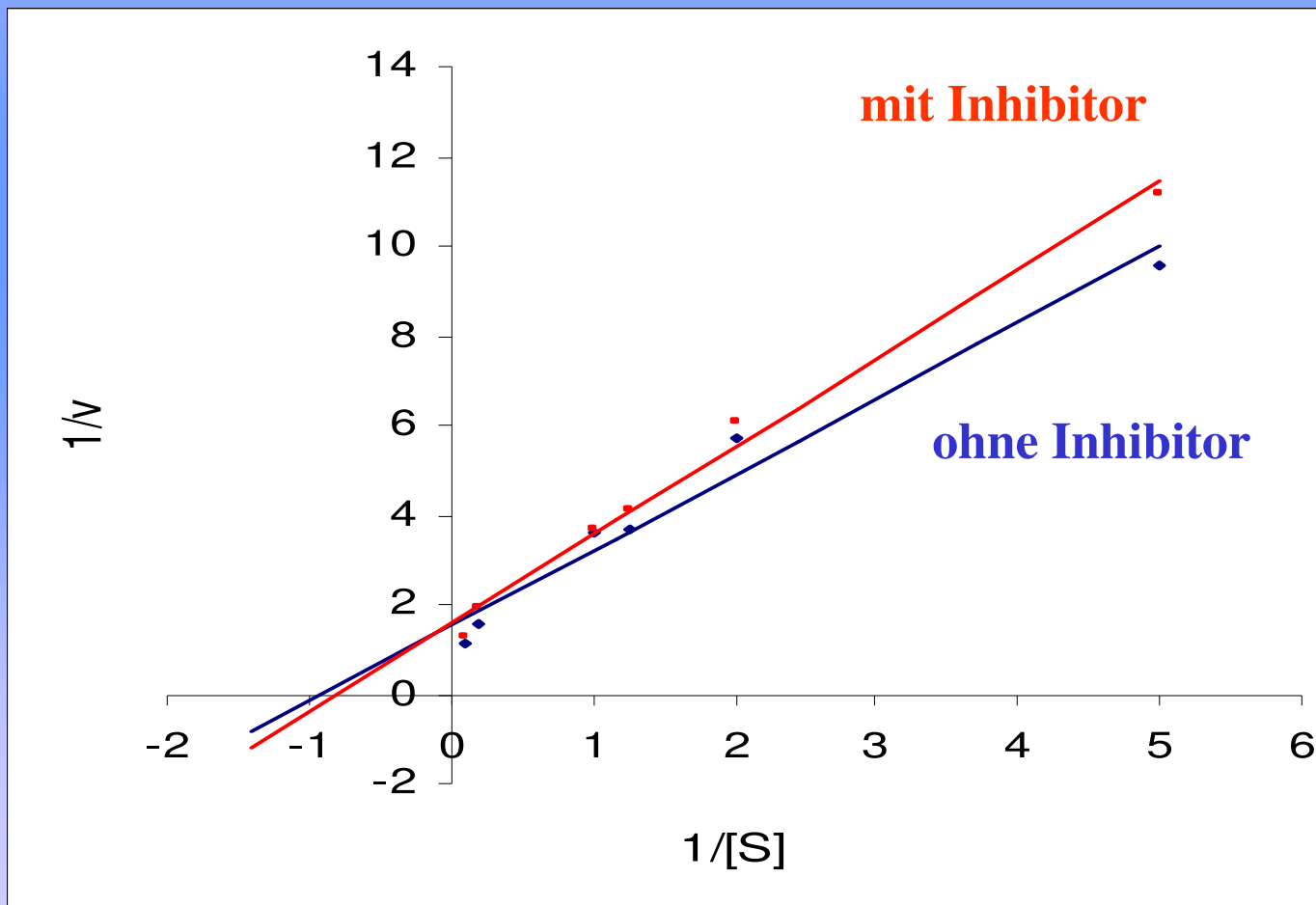
# Typische Resultate (III)

## V4: Enzymhemmung



# Typische Resultate (IV)

## V4: Enzymhemmung: Bestimmung des Hemmtyps



# Probleme - Bemerkungen

- Zeitlicher Aufwand
- Kartoffelsorten, Jahreszeit
- Fehlerquote, „Handling“, Zeiteinteilung
- Hemmtyp
- „Enttäuschung“ vs. realer Laboralltag
- Optimierung → Maturarbeit!

# Infos - Literatur

- **Originalliteratur:**

Nichols, B.A.D. und Cholewiak, L.B. (1991) in “Tested studies for laboratory teaching” 12 (Goldman C.A. ed.) pp. 88-99

- **Katalase:**

<http://www.worthington-biochem.com/manual/C/CTL.html>

- **Simulation Enzymkinetik**

[http://www.oup.co.uk/best.textbooks/chemistry/pchem7/living\\_graphs/P726C12.html](http://www.oup.co.uk/best.textbooks/chemistry/pchem7/living_graphs/P726C12.html)



# Dokumentendownload

<http://www.gartenstrasse18.ch/webdocs/...>

- Originalliteratur (pdf):  
*...EnzymkinetikKatalaseoriginal.pdf*
- Praktikumsvorschrift Kü (pdf):  
*...EnzymkinetikKatalasePraktikumsvorschrift.pdf*
- Präsentation (pdf):  
*...EnzymkinetikKatalasePraesentation.pdf*

*Matthias Küng*

*Gartenstrasse 18*

*3074 Muri*

*MNG Bern-Neufeld*

*Bremgartenstrasse 132/133*

*kueng@gartenstrasse18.ch*

*www.gartenstrasse18.ch*

**Weitere Infos unter**