

Frage 2: Bei der Km-Wert Ermittlung führen Sie Bestimmungen mit unterschiedlichen [S] aus. Woran beurteilen Sie, ob die Wahl der [S]-Werte sinnvoll oder schlecht war ? (ev. mit Graphik) ?

Die Michaelis-Menten Gleichung ergibt eine Kurve, genauer eine Art Hyperbel. Ihren Verlauf können Sie nur darstellen, wenn Sie auch das "Knie" dieser Kurve erfassen und nicht bloss eine der Tangenten. Schlecht ist es, wenn Sie ausschliesslich einen Bereich erwischen, in dem die 1. Ableitung der Kurve etwa 0 beträgt. Oder, sagen wir, wenn die Messerte nur über oder unter dem runden Teil der Kurve liegen.

Frage 4: Wenn Sie das Ammonium-Persulfat Gebinde aus dem Kühlschrank nehmen, machen Sie vor dem Einwiegen was ? Was würde geschehen, wenn Sie "das" vergessen ?

Sie lassen das Gefäss auf Raumtemperatur erwärmen. Beim Öffnen könnte ansonsten Luftfeuchtigkeit am kalten Inhalt des Gefässes kondensieren, was zu falscher Einwaage und im speziellen Fall zur langsamen Zerstörung des Reagens führen würde.

An sich ändert sich das Gewicht von Substanzen aber nicht bei Erwärmung !

### **Frage 5:**

Bei der Bestimmung einer Peroxidase pipettieren Sie 400  $\mu\text{L}$  Peroxidlösung, 400  $\mu\text{L}$  Puffer und 200  $\mu\text{L}$  einer 1 : 200 verdünnten Enzymlösung. Der molare Extinktionskoeffizient des Produktes beträgt  $1200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Welche Konzentration und Menge an Produkt hat der Messansatz, wenn die Absorption nach 20 min Inkubation 0.6 beträgt ?

- a) Der Messansatz war .....0.5..... mM an Produkt.  
 $7000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} = 1 \text{ M Lösung ... } 1200, 1 \text{ mM daher } 1.2,$   
die gemessenen 0.6 sind entsprechen daher 0.5 mM
- b) Der Messansatz enthielt .....0.5.....  $\mu\text{mol}$  Produkt.  
Von 1 L auf 1 mL umgerechnet
- c) Der Messansatz enthielt ..... 0.025..... U an Enzym.  
0.5 / 20
- d) Die ursprüngliche Enzymlösung wies eine Aktivität von .....25..... U/mL auf.  
 $0.025 \times 5$  (wegen 0.2 mL)  $\times 200 = 0.025 \times 1000 = 25$

### **Frage 6:**

Zur Kalibration einer Aktivitätsbestimmung setzen Sie anstelle der 500  $\mu\text{L}$  Substratlösung Produktlösungen verschiedener Konzentration ein. Bei 16 mM ergibt sich eine Absorption von 0.793.

- a) Welche Menge an Produkt war in diesem Kalibrationsansatz ? .....8.....  $\mu\text{mol}$   
16 mmol in 1 L, 16  $\mu\text{mol}$  in 1 mL, 8  $\mu\text{mol}$  in einem halben mL

Für die Aktivitätsbestimmung setzen Sie 1400  $\mu\text{L}$  Puffer, 500  $\mu\text{L}$  Substratlösung und 100  $\mu\text{L}$  Enzymlösung ein. Sie inkubieren für 8 min und messen die Absorption. Die 1 : 379 Verdünnung Ihres Enzyms ergibt eine Absorption von - rein zufällig - auch 0.85.

- b) Welche Menge an Produkt hat das Enzym pro min erzeugt ? ..... 1 .....  $\mu\text{mol/min}$  (U)
- c) Die 1 : 379 verdünnte Lösung wies daher pro mL welche Aktivität auf ? ....10 .... U/mL  
da 0.1 ml 1 U enthielt.
- d) Daher wies die Original-Enzymlösung die Aktivität von .....3790..... U/mL auf.

Hm, da wird man dann doch nachdenklich.