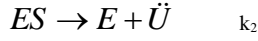
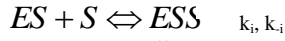
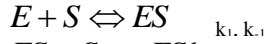


Substrat İnhibisyonu:

Yüksek substrat derişimlerinde tepkime hızının beklenenin aksine azalması

Mekanizma:

Yaklaşık yarıstabil koşu varsayımı ile:

$$\frac{dC_{ES}}{dt} = 0 \quad \frac{dC_{ESS}}{dt} = 0 \quad r = k_2 C_{ES}$$

$$\frac{dC_{ES}}{dt} = k_1 C_E C_S - k_{-1} C_{ES} - k_i C_{ES} C_S + k_{-i} C_{ESS} - k_2 C_{ES} = 0$$

$$C_{ES} = \frac{k_1 C_E C_S + k_{-i} C_{ESS}}{(k_{-1} + k_i C_S + k_2)}$$

$$\frac{dC_{ESS}}{dt} = k_i C_{ES} C_S - k_{-i} C_{ESS} = 0$$

$$C_{ESS} = \frac{C_{ES} C_S}{(k_{-i} / k_i)}$$

C_{ES}'de yerine konursa:

$$C_{ES} = \frac{k_1 C_E C_S + k_{-i} \frac{C_{ES} C_S}{(k_{-i} / k_i)}}{(k_{-1} + k_i C_S + k_2)}$$

$$[(k_{-1} + k_2 + k_i C_S) - k_i C_S] C_{ES} = k_1 C_E C_S \quad C_{ES} = \frac{k_1 C_E C_S}{(k_{-1} + k_2)}$$

$$C_{ESS}'de yerine konursa: \quad C_{ESS} = \frac{k_1}{K_i} x \frac{C_E C_S^2}{(k_{-1} + k_2)}$$

Enzim için: C_{Eo}=C_E+C_{ES}+C_{ESS}

$$C_{Eo} = C_E + \frac{k_1 C_S}{(k_{-1} + k_2)} C_E + \frac{k_1 C_S^2}{K_i (k_{-1} + k_2)} C_E$$

$$C_E = \frac{C_{Eo}}{1 + \frac{k_1 C_S}{(k_{-1} + k_2)} + \frac{k_1 C_S^2}{K_i (k_{-1} + k_2)}}$$

C_{ES}'de yerine konursa:

$$C_{ES} = \frac{k_1}{(k_{-1} + k_2)} x \frac{C_S C_{Eo}}{1 + \frac{k_1 C_S}{(k_{-1} + k_2)} + \frac{k_1 C_S^2}{K_i (k_{-1} + k_2)}}$$

$$C_{ES} = \frac{C_{Eo} C_S}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + C_S + \frac{C_S^2}{K_i}} \quad C_{ES} = \frac{C_{Eo} C_S}{K_m + C_S + \frac{C_S^2}{K_i}}$$

Tepkime hız ifadesinde yerine konursa:

$$r = k_2 C_{ES} \quad r = \frac{k_2 C_{Eo} C_S}{K_m + C_S + \frac{C_S^2}{K_i}} \quad r = \frac{r_{\max} C_S}{K_m + C_S \left(1 + \frac{C_S}{K_i} \right)}$$

Denklem doğrusallaştırılırsa:

$$\frac{1}{r} = \frac{K_m}{r_{\max}} \frac{1}{C_S} + \frac{1}{r_{\max}} \left(1 + \frac{C_S}{K_i} \right)$$

Denklem C_S nin küçük değerlerinde MM denklemine benzemektedir. Bu nedenle LB çiziminde yüksek $1/C_S$ değerlerinde çizilen doğrunun kayması $1/r_{\max}$, eğimi ise K_m/r_{\max} değerini verir.

$(1/C_S)_{\min}$ veya $(C_S)_{\max}$ değerini bulmak için:

$$\frac{dr}{dC_S} = 0$$

$$(C_S)_{\max} = \sqrt{K_m K_i} \quad \text{veya}$$

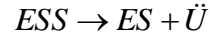
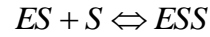
$$\left(\frac{1}{C_S} \right)_{\min} = \frac{1}{\sqrt{K_m K_i}} \quad \text{bulunur.}$$

$(1/C_S)_{\min}$ veya $(C_S)_{\max}$ değerlerinden K_i bulunur.

Substrat Aktivasyonu:

Enzim molekülüne birden fazla substrat molekülünün bağlanması aktivasyon etkisi de yaratabilir. Substrat derişimi ile tepkime hızının sigmoidal değişimi aktivasyon etkisindedir.

Mekanizma:



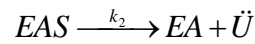
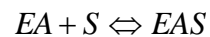
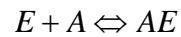
$$r = \frac{r_{\max} \frac{C_S^2}{K_S^2}}{1 + \frac{C_S}{K_S} + \frac{C_S^2}{K_S^2}}$$

Enzim Aktivasyonu:

Enzimatik tepkimelerin hızını artıran maddelere aktivatör (A) ismi verilir.

(Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} , Zn^{+2} , Cd^{+2} , Cu^{+2} , Cr^{+3} , Mn^{+2} , Fe^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Al^{+3})

Örnek:



mekanizması için:

$$r = \frac{r_{\max} C_A C_S / K_A K_m}{1 + \frac{C_A}{K_A} + \frac{C_A C_S}{K_m K_A}} \quad \text{bulunur.}$$

İntegre Michaelis-Menten Denklemi:

Substratın %10-90 dönüşümünün gerçekleştiği durumlarda K_m ve r_{\max} bulunması için integre MM denklemi kullanılabilir. İntegre hız denklemi tüm tepkime süresi için geçerlidir.

$$r = -\frac{dC_S}{dt} = \frac{r_{\max} C_S}{K_m + C_S}$$

$$r_{\max} dt = -\frac{K_m + C_S}{C_S} dC_S \quad r_{\max} \int_0^t dt = -\int_{C_{S_0}}^{C_S} \frac{K_m + C_S}{C_S} dC_S$$

$$r_{\max} t = -K_m \int_{C_{S_0}}^{C_S} \frac{dC_S}{C_S} - \int_{C_{S_0}}^{C_S} dC_S \quad r_{\max} t = -K_m \ln \frac{C_S}{C_{S_0}} - (C_S - C_{S_0})$$

$$r_{\max} t = K_m \ln \frac{C_{S_0}}{C_S} + (C_{S_0} - C_S)$$

Bu denklem zamana karşı substrat derişimleri biliniyorsa K_m ve r_{\max} sabitlerinin bulunmasında veya K_m ve r_{\max} biliniyorsa substrat derişiminin zaman ile değişiminin bulunmasında kullanılır.

Denklem doğrusallaştırılırsa:

$$\frac{1}{t} \ln \frac{C_{S_0}}{C_S} = -\frac{1}{K_m} \frac{C_{S_0} - C_S}{t} + \frac{r_{\max}}{K_m} \text{ elde edilir.}$$

Burada $C_{\dot{U}} = C_{S_0} - C_S$ de yazılabilir.

Aynı denklem başka şekillerde de doğrusallaştırılabilir:

$$\frac{t}{C_{\dot{U}}} = \frac{K_m}{r_{\max}} \left[\frac{\ln \frac{C_{S_0}}{C_S}}{C_{\dot{U}}} \right] + \frac{1}{r_{\max}}$$

$$\frac{t}{\ln \frac{C_{S_0}}{C_S}} = \frac{1}{r_{\max}} \left[\frac{C_{\dot{U}}}{\ln \frac{C_{S_0}}{C_S}} \right] + \frac{K_m}{r_{\max}}$$

$$\frac{C_{\dot{U}}}{t} = -K_m \left[\frac{1}{t} \ln \frac{C_{S_0}}{C_S} \right] + r_{\max}$$

Enzimatik Tepkime Hızına Etki Eden Diğer Faktörler:

Sıcaklık Etkisi:

Her enzimin en iyi aktive gösterdiği optimum bir sıcaklık vardır. Sıcaklık ile enzimatik tepkime hızının değişimi bir çan eğrisi şeklindedir. Bu çan eğrisinin artan bölgesi *ısıl aktivasyon bölgesidir* ve bu bölgede tepkime hızı sıcaklığa Arrhenius denklemleri ile bağlıdır.

Isıl aktivasyon bölgesinde: $r_{\max} = k_2 C_{E_0}$

$$k_2 = A e^{-E_a / RT}$$

$(\ln k_2; 1/T)$ veya $(\ln r_{\max}; 1/T)$ grafięinin eğimi $-E_a/R$ dir.

Çan eğrisinin azalan bölgesi *ısıl deaktivasyon bölgesidir* ve ısıl deaktivasyon kinetiği 1.mertebedir.



$$r_d = -\frac{dC_{E_a}}{dt} = k_d C_{E_a}$$

$$\text{Çözümü: } C_{E_a} = C_{E_{a0}} e^{-k_d t}$$

Burada $C_{E_{a0}}$, $t=0$ anındaki başlangıç enzim derişimidir. Bu denkleme göre aktif enzim derişimi zaman ile üstel olarak azalır. Diğer taraftan r_{\max} aktif enzim derişimine bağlıdır. Aktif enzim derişimi azaldıkça r_{\max} da azalır. r_{\max} 'ın zamanla değişimini řu şekilde bulunur.

$$r_{\max} = k_2 C_{E_a}$$

$$r_{\max} = k_2 C_{E_{a0}} e^{-k_d t}$$

k_d sıcaklığa Arrhenius denklemleri ile bağlıdır.

$$k_d = A e^{-E_d / RT} \quad E_d = \text{deaktivasyon enerjisi (kcal/mol)}$$

Sıcaklık ile enzim deaktivasyonu da artar. $(\ln k_d; 1/T)$ grafiğinden E_d deaktivasyon enerjisi bulunur.

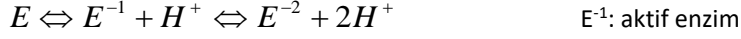
Enzim Yarı Ömrü: Deaktivasyon nedeniyle enzim aktivitesinin yarıya düşme süresi

$$C_E = C_{Eo} e^{-k_d t} \quad C_E = \frac{C_{Eo}}{2} \quad t = \frac{\ln 2}{k}$$

pH Etkisi:

Enzimin yapısı amino asitlerden oluşur ve asit ve baz şeklinde olabilen iyonik gruplar vardır. Bu gruplar katalitikçe aktiftir. Ortamın pH'ının değişmesi ile aktif konumların iyonik formları, dolayısıyla enzimin aktivitesi değişecektir. Sadece bir pH'da iyonlaşabilen grup sayısı maksimum değerdedir. pH'daki değişim enzimin üç boyutlu yapısını da değiştirebilir.

Optimum pH'ı bulmak için şöyle bir yaklaşım yapılabilir:



$$K_1 = \frac{C_{H^{+}} C_{E^{-1}}}{C_E} \quad E \text{ ve } E^{-2}: \text{inaktif enzim}$$

$$K_2 = \frac{C_{H^{+}} C_{E^{-2}}}{C_{E^{-1}}} \quad K_1 \text{ ve } K_2: \text{denge sabitleri}$$

$$C_{Eo} = C_E + C_{E^{-1}} + C_{E^{-2}}$$

y = aktif enzim kesri olarak tanımlanırsa:

$$y = \frac{C_{E^{-1}}}{C_{Eo}} = \frac{1}{1 + \frac{C_{H^{+}}}{K_1} + \frac{K_2}{C_{H^{+}}}} \quad \text{Michaelis pH fonksiyonu}$$

Bu değer maksimum olduğu nokta pH'ın optimum olduğu H^{+} derişimidir.

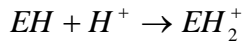
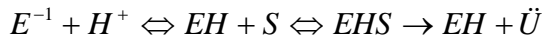
$$\frac{dy}{dH^{+}} = 0$$

$$(C_{H^{+}})_{opt} = \sqrt{K_1 K_2} \quad \text{veya}$$

$$(pH)_{opt} = \frac{1}{2}(pK_1 + pK_2)$$

$$pK = -\log K$$

Enzimatik tepkime hızının pH'a göre değişimi için aşağıdaki mekanizma kullanılabilir:



Denge sabitleri:

$$K_m = \frac{C_{EH} C_S}{C_{EHS}}$$

$$K_1 = \frac{C_{EH} C_{H^{+}}}{C_{EH_2^{+}}}$$

$$K_2 = \frac{C_{E^{-1}} C_{H^{+}}}{C_{EH}}$$

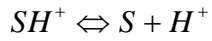
$$C_{Eo} = C_{E^{-1}} + C_{EH} + C_{EH_2^{+}} + C_{EHS}$$

$$r = k_2 C_{EHS}$$

MM yaklaşımı ile:

$$r = \frac{r_{\max} C_S}{K_m \left[1 + \frac{K_2}{C_{H^{+}}} + \frac{C_{H^{+}}}{K_1} \right] + C_S} \quad \text{bulunur.}$$

Enzimatik bir tepkimede substrat da iyonlaşıyorsa aşğıdaki mekanizma kullanılabilir.:



$$r = \frac{r_{\max} C_S}{K_m^* \left[1 + \frac{K_1}{C_{H^+}} \right] + C_S}$$

Optimum pH deęerinin kuramsal olarak bulunması:

$$r_{\max} = k_2 C_{Eo}$$

iyonlaşan kesir y ise:

$$r_{\max} = k_2 y C_{Eo}$$

$$r_{\max} = \frac{k_2 C_{Eo}}{1 + \frac{C_{H^+}}{K_1} + \frac{K_2}{C_{H^+}}}$$

Farklı pH'larda elde edilecek r_{\max} değerleri kullanılarak bu formül yardımıyla K_1 ve K_2 değerleri de bulunabilir.

Kaynak:

1. Bailey JE and Ollis DF, 1986. Biochemical Engineering Fundamentals, McGraw Hill, 2.baskı, NY
2. Shuler,ML and Kargı F, 2001. Bioprocess Engineering: Basic Concepts, 2. Baskı, Prentice Hall, NJ