

ЭНТАЛЬПИЯ РЕАКЦИИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА N-АЦЕТИЛ-D, L-МЕТИОНИНА

Резарский М. В., Сикоренко Ю. Б., Гальченко Г. Л.

Энтальпия реакции ферментативного гидролиза N-ацетил-D,L-метионина измерена с использованием микрокалориметра ЛКБ-2107-111, оснащенного приставкой для калориметрического титрования. Установлено, что величина энтальпии исследуемой реакции, при которой происходит разрыв N—C-связи в молекуле субстрата, существенно отличается от энтальпии аналогичных реакций гидролиза N—C-связи в амидах и пептидах.

Ацетилпроизводные аминокислот, в том числе и N-ацетилметионин, в настоящее время используются в биотехнологической промышленности для получения оптически активных аминокислот. Фермент аминокислацилаза — аминокислоролиза L-ацетиламинокислот (КФ 3.5.1.14) проводит стереоспецифический гидролиз N-ацетилпроизводных только L-аминокислот, и, таким образом, в результате реакции получают чистые оптически активные L-аминокислоты. Свободная энергия рассматриваемой реакции найдена в [1], величины энтальпии реакции в литературе отсутствуют.

В настоящей работе определена энтальпия реакции гидролиза N-ацетилметионина с использованием фермента аминокислацилазы в 0,05 М фосфатном буферном растворе (рН 6,86; 298,15 К).

В экспериментах применялись хроматографически чистые образцы N-ацетил-D,L-метионина и N-ацетил-D-метионина с содержанием воды не более 0,2%. Согласно данным завода-изготовителя, соотношение L-гидролизной активности используемых нами образцов фермента к D-активности составляет не менее 10⁵. Отсутствие в образцах фермента оксидантной и декарбоксилазной активности протекторировано нами по отсутствию тепловыделения при смешении в микрокалориметрической ячейке фермента аминокислацилазы и раствора продукта реакции гидролиза — метионина.

При определении энтальпии реакции ферментативного гидролиза использовалась приставка для микрокалориметрического титрования на «бач»-микрокалориметре ЛКБ-2107-111 (Швеция). Сигнал от термопары микрокалориметра, усиленный прибором Кейтлы-150Б, подавался на самоинтегрирующий интегратор ЛКБ-2220. С помощью интегратора автоматически производился расчет величины тепловыделения в опыте и при электрической калибровке.

Для проверки правильности работы всей установки в целом предварительно было проведено определение энтальпии реакции нейтрализации гидроксида натрия соляной кислотой; найденная величина $\Delta H_{\text{н}}^{\circ} = -55,16 \pm 0,55$ кДж·моль⁻¹ согласовалась с надежными литературными данными $\Delta H_{\text{н}}^{\circ} = -55,85 \pm 0,30$ кДж·моль⁻¹ [2]. При экспериментальном определении энтальпии реакции ферментативного гидролиза в реакционную ячейку микрокалориметра, содержащую 6 мл буферного раствора фермента¹ аминокислацилазы с концентрацией 2500 ед·мл⁻¹, каждые 30 мин вводили порции по 0,01582 ± 0,00006 мл (высокоточным шприцем² Гамильтона 1750 (Швейцария)) буферного раствора N-ацетил-D,L-метионина с концентрацией 0,2 моль·л⁻¹. Результаты эксперимента приведены в таблице.

Значения $Q_{\text{оп}}$, приведенные в таблице, получены путем усреднения тепловых эффектов внутри серий, каждая из которых состояла из 6–8 опытов. При расчете энтальпии реакции ферментативного гидролиза N-ацетилметионина вводили поправку на теплоту разбавления N-ацетилметионина от данной концентрации до бесконечного разбавления в 0,05 М фосфатном буферном растворе. Поправку вычисляли на основе полученных нами экспериментальных данных. Найденная величина с учетом теплоты, выделяющейся при вращении калориметра (см. ниже) составила $Q_{\text{разб}} = -0,0068 \pm 0,0005$ Дж. Нами также были экспериментально определены и учтены величины теплоты, выделяющейся в реакционной ячейке, которая заполнена буферным раствором без фермента ($Q_{\text{вр}} = 0,0031 \pm 0,0003$ Дж) и с ферментом ($Q_{\text{вр}} = 0,0037 \pm 0,0008$) при вращении микрокалориметра, а также теплота смешения продукта реакции с ферментом, которая совпала в пределах погрешности с теплотой разбав-

¹ Фермент, имеющий активность 1 ед., гидролизует 1 мкМ N-ацетилметионина за 1 ч при рН 7,0 и 298,15 К.

² Шприц Гамильтона 1750 калибровали по реакции нейтрализации гидроксида натрия соляной кислотой, энтальпия которой с высокой точностью известна из литературы.

$Q_{\text{оп}}, \text{ Дж}$	$Q_{\text{оп}} - Q_{\text{разб}}, \text{ Дж}$	$c, \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$	$n \cdot 10^{-6}, \text{ моль}$	$-\Delta_r H^\circ, \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$
0,01095	0,00415	0,2057	1,627	2,55
0,01195	0,00515	0,1771	1,401	3,68
0,01212	0,00532	0,1999	1,581	3,36
0,00953	0,00273	0,1999	1,581	1,73
0,00827	0,00147	0,2107	1,667	0,88

Примечание. c — концентрация N-ацетил-D,L-метионина в 1 порции, n — концентрация N-ацетил-L-метионина; $\Delta_r H^\circ = -(Q_{\text{оп}} - Q_{\text{разб}}) n^{-1} \cdot 10^{-3} \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$; среднее: $-2,44 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$.

ления N-ацетил-D,L-метионина. Энтальпия исследуемой реакции найдена равной $\Delta_r H^\circ = -2,4 \pm 1,5 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$.

Значительная величина погрешности обусловлена тем, что тепловой эффект, непосредственно наблюдаемый в опыте, мал и соизмерим с величиной разбавления субстрата (см. таблицу). Полученная в настоящей работе величина $\Delta_r H^\circ = -2,4 \pm 1,5 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$ не противоречит найденной нами ранее на проточном микрокалориметре ЛКБ 2107-121 ($\Delta_r H^\circ = -1,3 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$ [3]), погрешность которой могла составлять $\sim 2 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$ и которую можно считать ориентировочной вследствие недостижения полноты протекания реакции гидролиза даже при очень высоких концентрациях фермента ($3-4 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$).

Найденная величина энтальпии реакции гидролиза N-ацетилметионина, при которой происходит разрыв N-C-связи в молекуле субстрата, отличается от энтальпий аналогичных реакций гидролиза амидов ($\Delta_r H^\circ = -24,7 \pm 2,0 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$ [4, 5]) и пептидов ($\Delta_r H^\circ = -7,6 \pm 2,0 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$ [6]).

ЛИТЕРАТУРА

1. Швабас В.-Ю. К., Галаев И. Ю., Березин И. В. // Биохимия. 1980. Т. 45. № 10. С. 1833.
2. Parker V. B. Thermal Properties of Aqueous Uni-univalent Electrolytes. Washington: NBS USA, 1965. P. 19.
3. Рекарский М. В., Сложеникина Ю. Б., Егоров А. М., Гальченко Г. Л. // Журн. физ. химии. 1986. Т. 60. № 6. С. 1548.
4. Rekharsky M. V., Slozhenikina Yu. B., Skya A. Zh. et al. // Thermochim. Acta. 1985. V. 91. P. 79.
5. Rekharsky M. V., Skya A. Zh., Lopatnev S. V. et al. // J. Biochem. Biophys. methods. 1986. V. 12. P. 247.
6. Rekharsky M. V., Egorov A. M., Galchenko G. L. // Thermochim. Acta. 1987. V. 112. P. 151.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова
Химический факультет

Поступила в редакцию
20.VI.1988

УДК 536.7

ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНАЯ ЭНТАЛЬПИЯ И ТЕПЛОЕМКОСТЬ НИКЕЛАТОВ ЛАНТАНА И НЕОДИМА

Лазарев В. М., Воробьев А. Ф., Нгуен В. Н., Суноницкий Ю. Л.

Синтезированы никелаты лантана La_2NiO_4 и неодима Nd_2NiO_4 . Определены величины энтальпии и теплоемкости этих соединений в интервале 298–923 К. Обнаружен фазовый переход никелата неодима при 520° С и определена его энтальпия.

Экспериментальная часть. Для синтеза никелатов лантана и неодима использовали оксиды лантаноидов (La_2O_3 и Nd_2O_3) чистотой 99,99% и NiO чистотой 99,76%. Синтез проводили путем нагревания с последующим прокаливанием при 1000° С в