

TEMA 10. REACCIONES ENZIMÁTICAS

FUNDAMENTOS DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

- **Enzimas:** proteínas de elevado peso molecular (10^4 - 10^6 g mol⁻¹) sintetizados por los organismos vivos
- Son capaces de **catalizar reacciones bioquímicas/biológicas**
 - Elevadas velocidades de reacción** 10-10.000 moléculas enz⁻¹ s⁻¹)
 - Elevada selectividades** ~ 100% (controlan la formación de productos no deseados)
- Catalizadores efectivos a **concentraciones bajas** (10^{-5} - 10^{-10} mol l⁻¹)
- Son **sintetizadas *in vitro* o extraídas** de su fuente biológica

FUNDAMENTOS DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

- Se **nombran** en términos de la reacción que catalizan. Se añade el **sufijo –asa** al nombre del sustrato sobre el que la enzima actúa (ureasa) o al nombre del tipo de reacción que cataliza (hidrolasa))

Oxireductasas

catalizan reacciones redox

Transferasas

transfieren grupos funcionales

Hidrolasas

catalizan reacciones de hidrólisis

Liasas

rompen enlaces C-O, C-C y C-N

Isomerasas

reagrupan grupos funcionales

Ligasas

juntan dos moléculas

FUNDAMENTOS DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

- Funcionan en condiciones suaves de temperatura (25-70 °C) y pH (4-9)
- En condiciones severas pueden desnaturalizarse (alteración o modificación de los centros activos)
- Difícil y cara separación del producto ⇒ heterogeneización del proceso
- Tipos de especificidades enzimáticas

De acción ⇒ cada enzima sólo puede llevar a cabo un tipo de transformación química

De sustrato

Absolutamente específicos ⇒ Sólo reaccionan con un único sustrato

Específicos funcionales ⇒ Actúan sobre moléculas similares que tienen el mismo grupo funcional

Específicos de enlace ⇒ Transforman un tipo específico de enlaces

Específicos estereoquímicos ⇒ Distinguen entre isómeros ópticos (D ó L)

MECANISMO DE LAS REACCIONES ENZIMÁTICAS

En una reacción catalizada por un enzima:

1. La sustancia sobre la que actúa el enzima se llama **sustrato**
2. El sustrato se une a una región concreta del enzima, llamada **centro activo**
3. Se forman los productos y el enzima ya puede comenzar **un nuevo ciclo de reacción**

Enzima + Sustrato



Enzima-Sustrato



Producto + Enzima

TIPOS DE REACCIONES ENZIMÁTICAS

- I. ENZIMA SOLUBLE – SUSTRATO SOLUBLE
CATÁLISIS ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA
- II. ENZIMA INSOLUBLE – SUSTRATO SOLUBLE
CATÁLISIS ENZIMÁTICA HETEROGÉNEA
(unión de grupos enzimáticos a superficies sólidas)

Cinética de
Reacciones
Biológicas

Orden cero

independiente de la concentración de sustrato

Orden uno

directamente proporcional a la concentración de sustrato

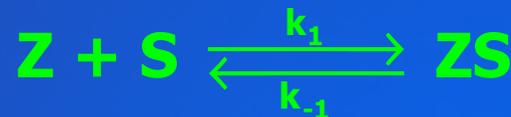
Combinación de ambas

ecuación de Michaelis-Menten

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

CINÉTICA DE MICHAELIS MENTEN

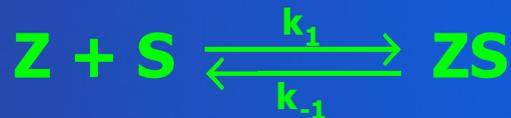
Las reacciones enzimáticas pueden considerarse como **no elementales**



S: sustrato

Z: enzima

P: producto



$$\frac{dC_{ZS}}{dt} = 0 = k_1 C_Z C_S - k_{-1} C_{ZS} - k_2 C_{ZS}$$

Concentración total de enzima activa $C_{Za} = C_Z + C_{ZS}$

$$C_{ZS} = \frac{k_1 C_S C_{Za}}{k_1 C_S + k_{-1} + k_2}$$

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

CINÉTICA DE MICHAELIS MENTEN

$$r = k_2 C_{zs} = \frac{k_1 k_2 C_s C_{za}}{k_1 C_s + k_{-1} + k_2} = \frac{k_2 C_s C_{za}}{K_M + C_s}$$

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

CONSTANTE DE MICHAELIS-MENTEN

Si $C_s \ll K_m$ $r = \frac{k_2 C_{za} C_s}{K_M}$ Orden 1

Si $C_s \gg K_m$ $r = k_2 C_{za}$ Orden 0

$r = \frac{k_2 C_s C_{za}}{K_m + C_s}$ $C_s \rightarrow \infty$ $r = r_{\text{máx}}$ $r_{\text{máx}} = k_2 C_{za}$

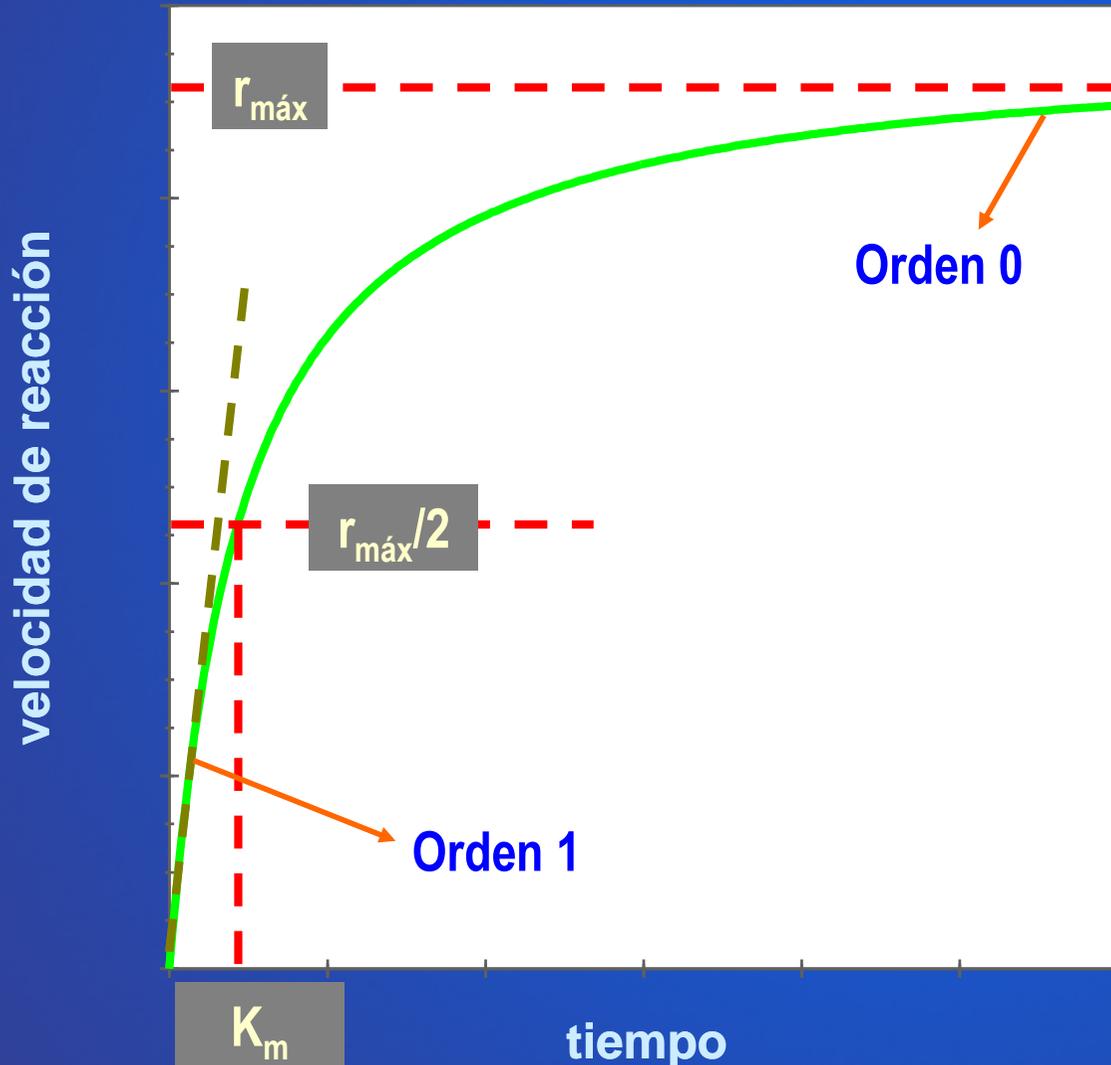
$$r = \frac{r_{\text{máx}} C_s}{K_M + C_s}$$

ECUACIÓN DE MICHAELIS-MENTEN

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

CINÉTICA DE MICHAELIS MENTEN

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE MICHAELIS-MENTEN



$$\begin{aligned} K_M &= \frac{r_{\text{máx}} C_S}{r} - C_S = \\ &= \frac{r_{\text{máx}} C_S}{r_{\text{máx}}/2} - C_S = \\ &= C_S \text{ (para } r = r_{\text{máx}}/2 \text{)} \end{aligned}$$

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

CINÉTICA DE MICHAELIS MENTEN

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE MICHAELIS-MENTEN

$r_{\text{máx}}$ Es la máxima velocidad que puede alcanzar esta reacción

K_M Es la concentración de sustrato para la cual la reacción alcanza la mitad de la velocidad máxima (velocidad semimáxima)

Es característica para cada enzima y cuanto menor sea su valor, mayor afinidad tendrá la enzima por el sustrato, ya que alcanzará antes la velocidad semimáxima

$$r = \frac{r_{\text{máx}} C_S}{K_M + C_S}$$

$$\frac{1}{r} = \frac{K_M}{r_{\text{máx}} C_S} + \frac{1}{r_{\text{máx}}}$$

Representación de
Lineweaver-Burk

$$\frac{C_S}{r} = \frac{K_M}{r_{\text{máx}}} + \frac{C_S}{r_{\text{máx}}}$$

Representación de
Hanes

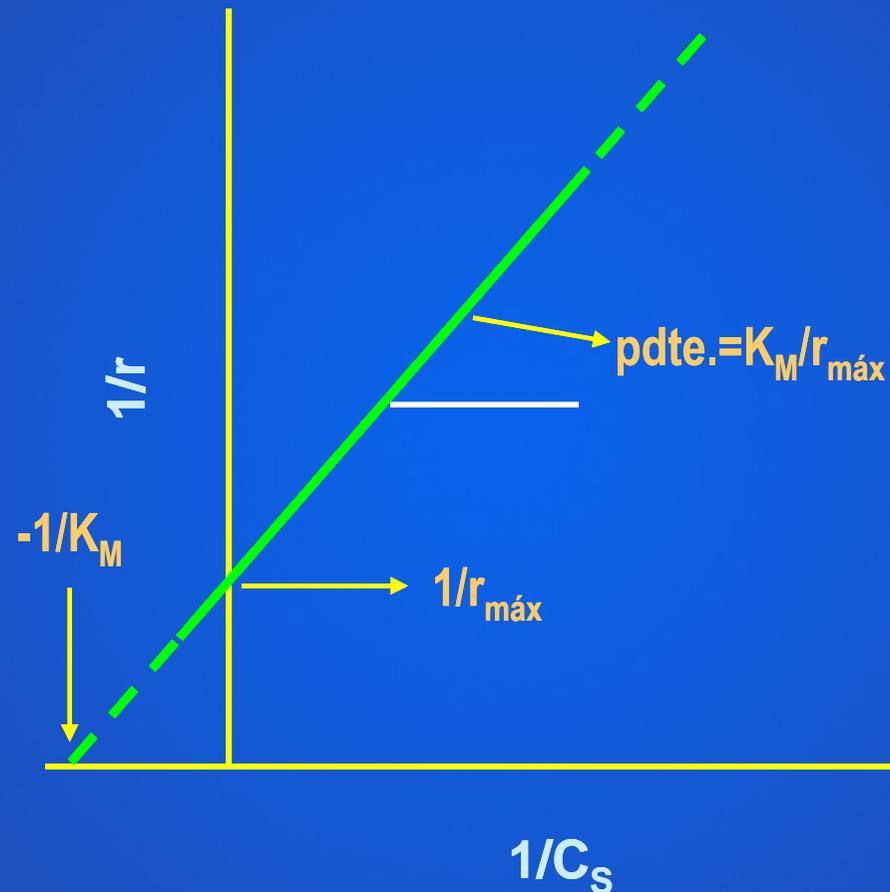
$$\frac{r}{C_S} = \frac{r_{\text{máx}}}{K_M} - \frac{r}{K_M}$$

Representación de
Eadie-Hofstee

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

CINÉTICA DE MICHAELIS MENTEN

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE MICHAELIS-MENTEN



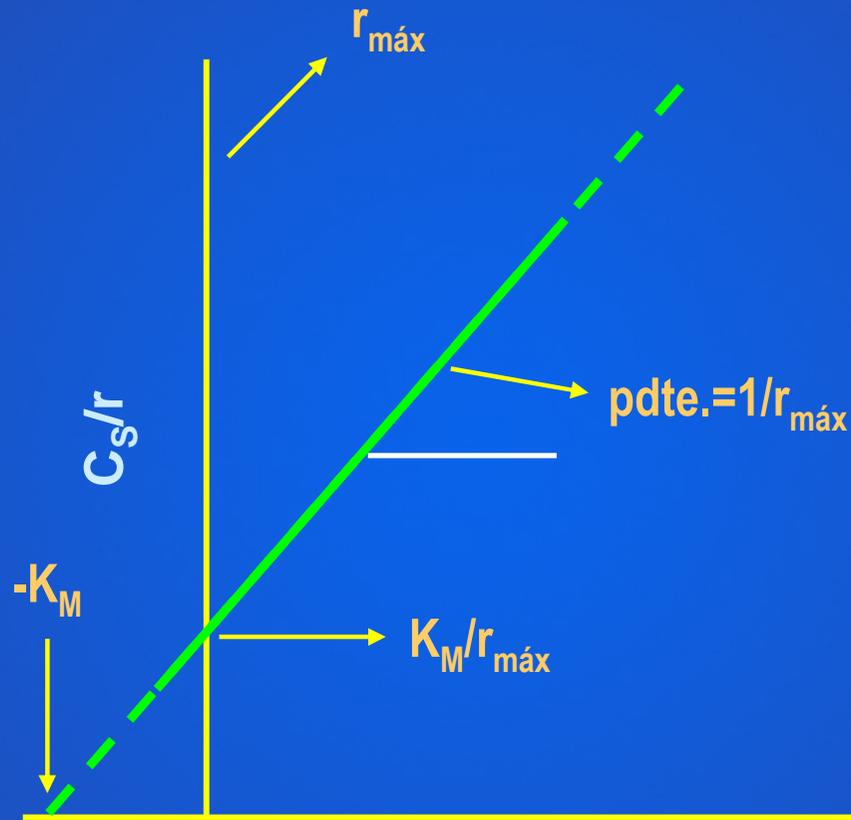
$$\frac{1}{r} = \frac{K_M}{r_{\text{máx}} C_S} + \frac{1}{r_{\text{máx}}}$$

Representación de
Lineweaver-Burk

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

CINÉTICA DE MICHAELIS MENTEN

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE MICHAELIS-MENTEN



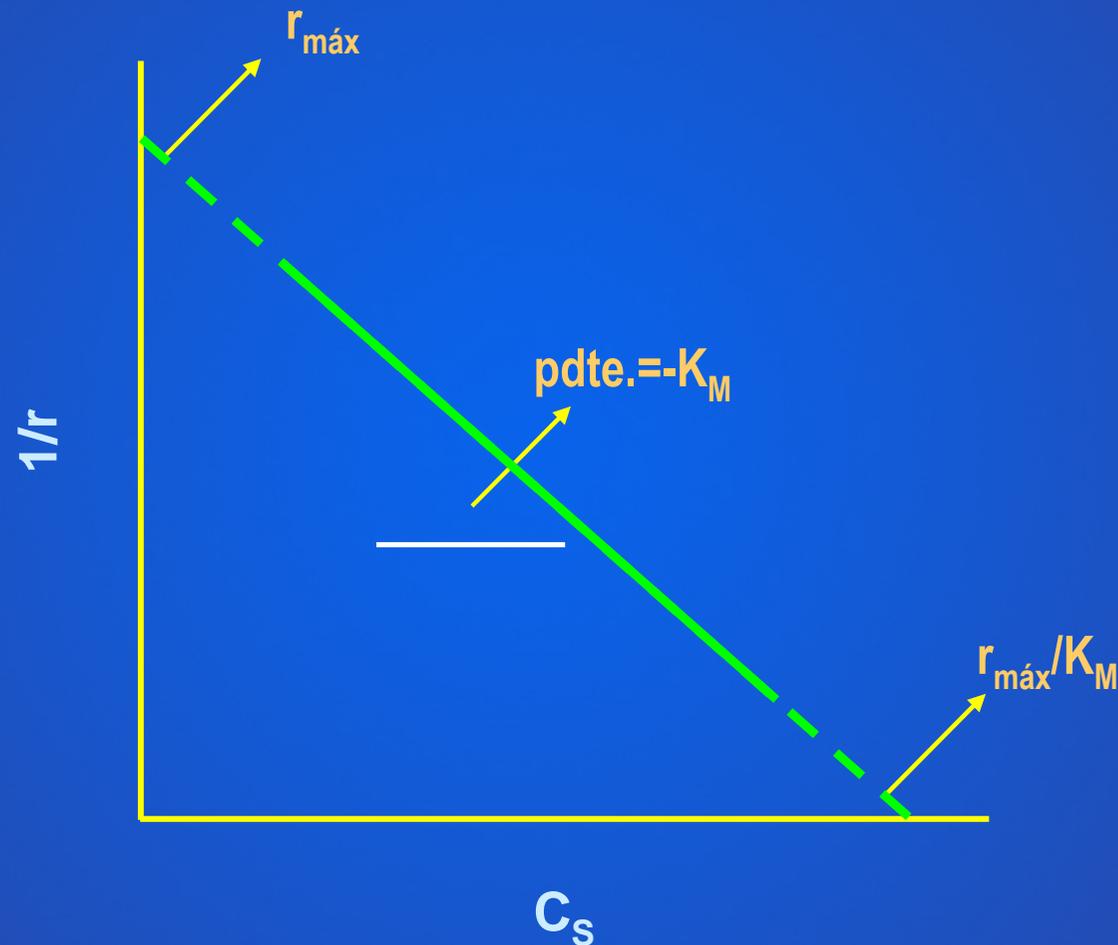
$$\frac{C_S}{r} = \frac{K_M}{r_{\text{m\acute{a}x}}} + \frac{C_S}{r_{\text{m\acute{a}x}}}$$

Representación de Hanes

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

CINÉTICA DE MICHAELIS MENTEN

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE MICHAELIS-MENTEN



$$\frac{r}{C_s} = \frac{r_{\text{máx}}}{K_M} - \frac{r}{K_M} C_s$$

Representación de
Eadie-Hofstee

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

Constantes de Michaelis-Mentes para algunos sistemas enzima-sustrato

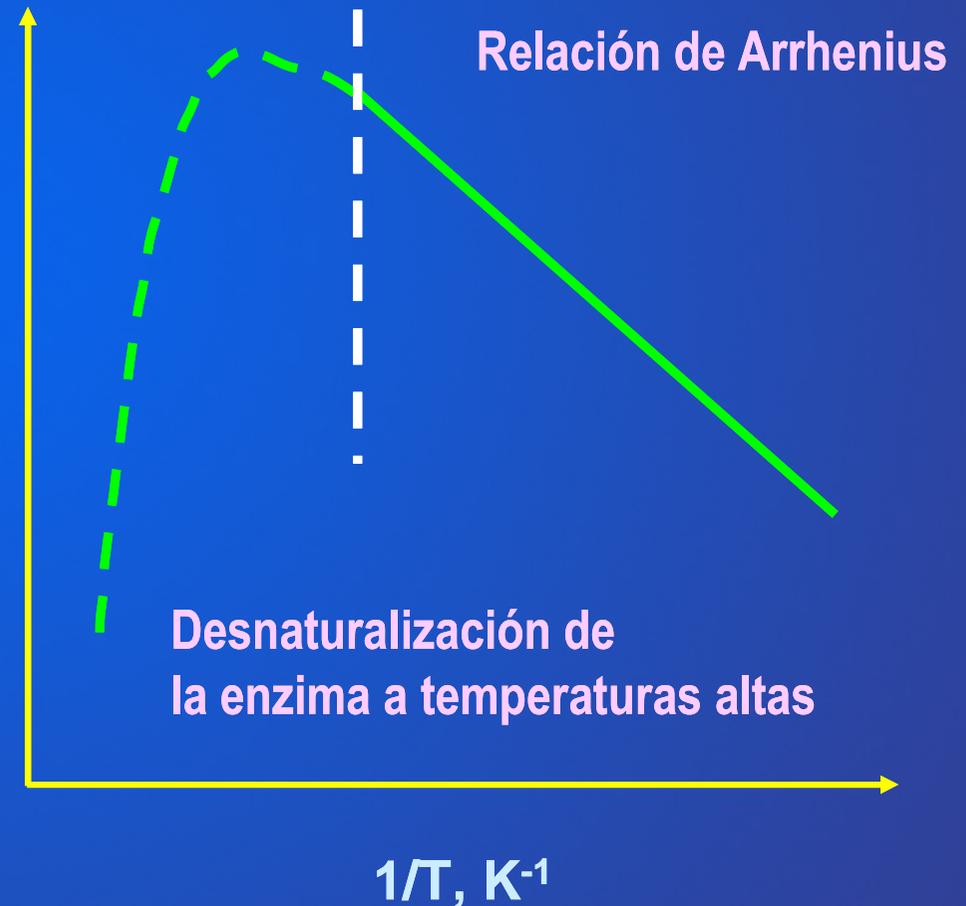
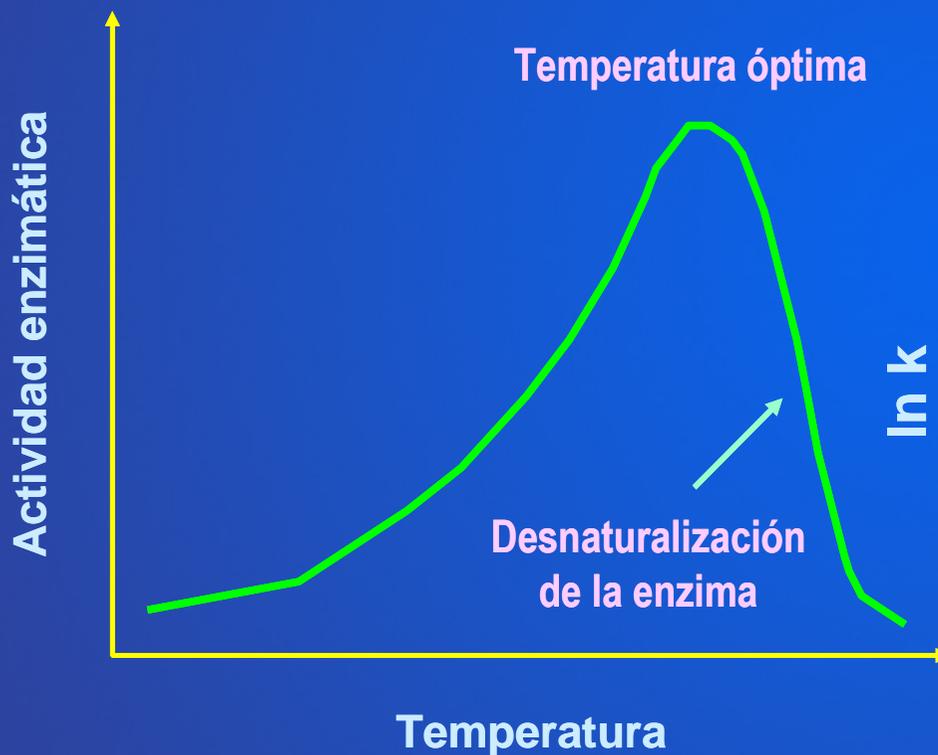
| Enzima | Fuente | Sustrato | K_M , mmol l ⁻¹ |
|-----------------|--------------------------|------------------|------------------------------|
| Deshidrogenasa | Saccharomyces cerevisiae | Etanol | 13,0 |
| B-Amilasa | Patata | Amilosa | 0,07 |
| B-Galactosidasa | Escherichia coli | Lactosa | 3,85 |
| Glucoxidasa | Aspergillus niger | D-Glucosa | 33,0 |
| | Penicillium notatum | D-Glucosa | 9,6 |
| Invertasa | Saccharomyces cerevisiae | Sacarosa | 9,1 |
| | Neuspora crassa | Sacarosa | 6,1 |
| Penicilinasas | Bacillus licheniformis | Bencilpenicilina | 0,049 |

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

Dependencia de la velocidad de reacción con la temperatura

$$k(T) = A_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right)$$

$$\ln k = -\frac{E_a}{R} \frac{1}{T} + \ln A_0$$



CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

EJEMPLO (I)

Para producir una crema de protección solar se utiliza una reacción enzimática llevada a cabo en un reactor discontinuo, en el que se mide la concentración de sustrato como función del tiempo en un ensayo en el que $C_{S_0} = 40 \text{ mmol l}^{-1}$. Determinar la ecuación cinética.



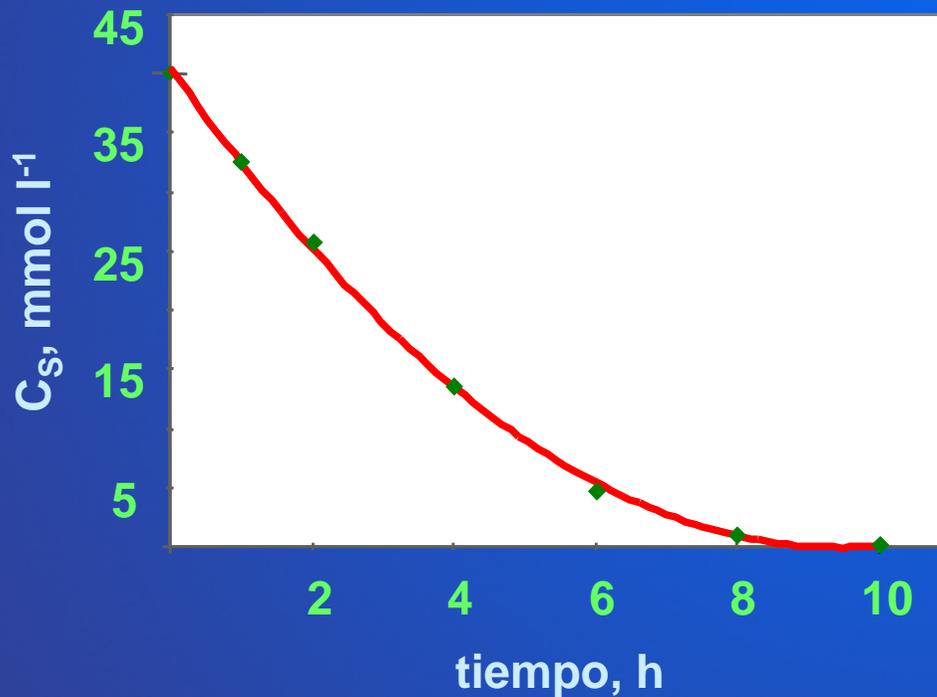
| t, h | C_S , mmol l ⁻¹ |
|------|------------------------------|
| 0 | 40 |
| 1 | 32,7 |
| 2 | 25,9 |
| 4 | 13,6 |
| 6 | 4,8 |
| 8 | 0,98 |
| 10 | 0,15 |

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

EJEMPLO (I)

Supongamos que $n = 0$

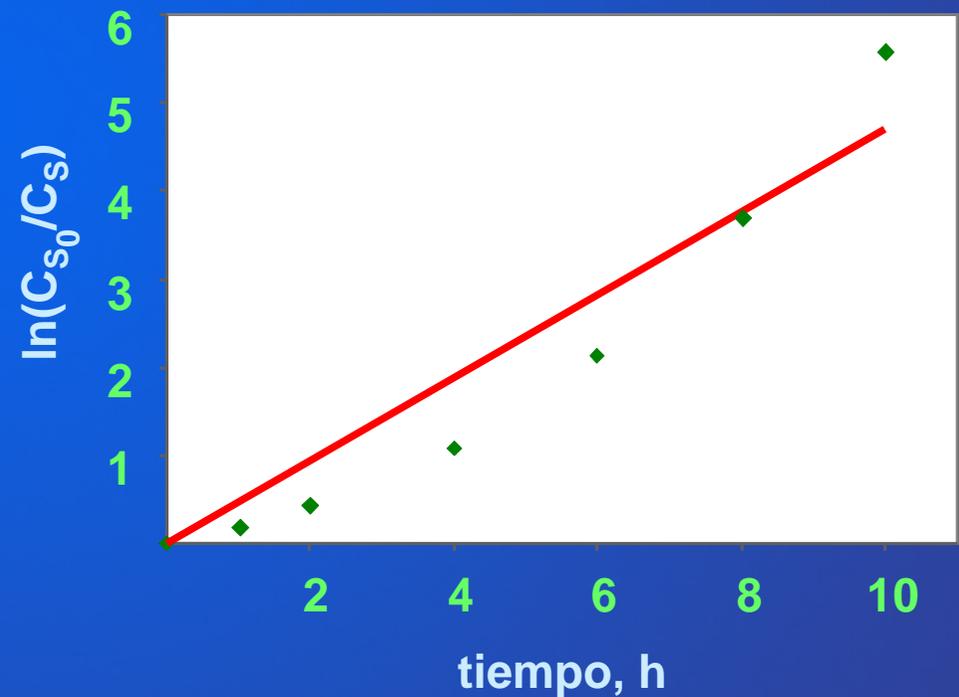
$$-\frac{dC_s}{dt} = kC_s^0 = k$$
$$C_s = C_{s_0} - kt$$



No orden 0

Supongamos que $n = 1$

$$-\frac{dC_s}{dt} = kC_s$$
$$\ln(C_{s_0}/C_s) = kt$$



No orden 1

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

EJEMPLO (I)

Supongamos cinética de Michaelis-Menten

$$r = \frac{r_{\text{máx}} C_S}{K_M + C_S}$$

$$\frac{C_S}{r} = \frac{K_M}{r_{\text{máx}}} + \frac{C_S}{r_{\text{máx}}}$$

| $C_S, \text{ mmol l}^{-1}$ | $(-r_S), \text{ mmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ |
|----------------------------|--|
| 40 | 7,49 |
| 32,7 | 7,13 |
| 25,9 | 6,66 |
| 13,6 | 5,19 |
| 4,8 | 2,80 |
| 0,98 | 0,74 |
| 0,15 | 0,12 |

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

EJEMPLO (I)

SOLUCIÓN

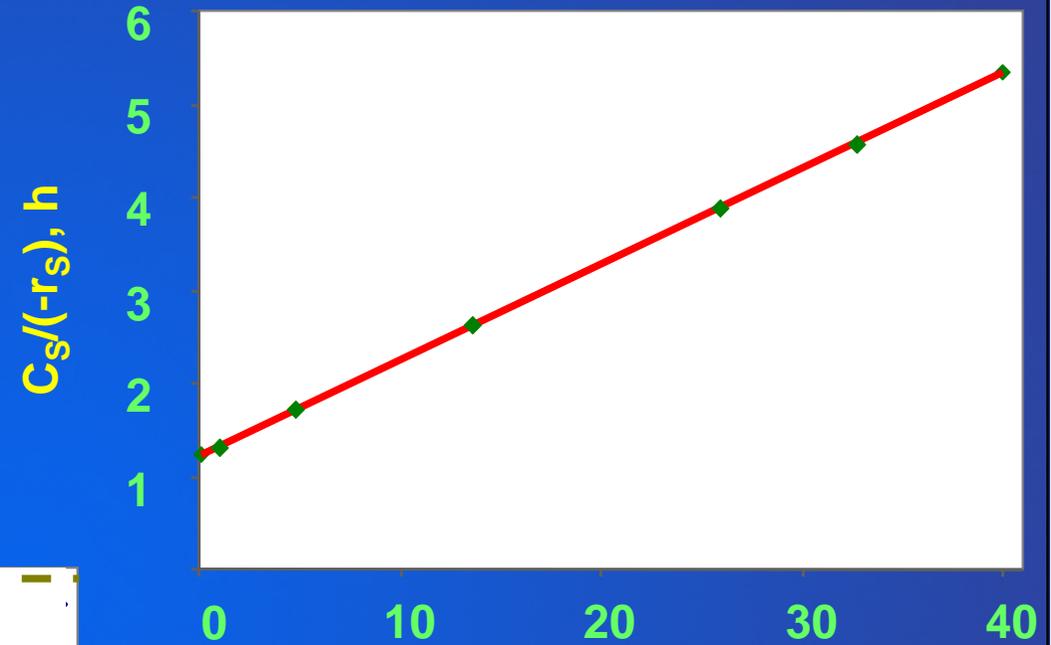
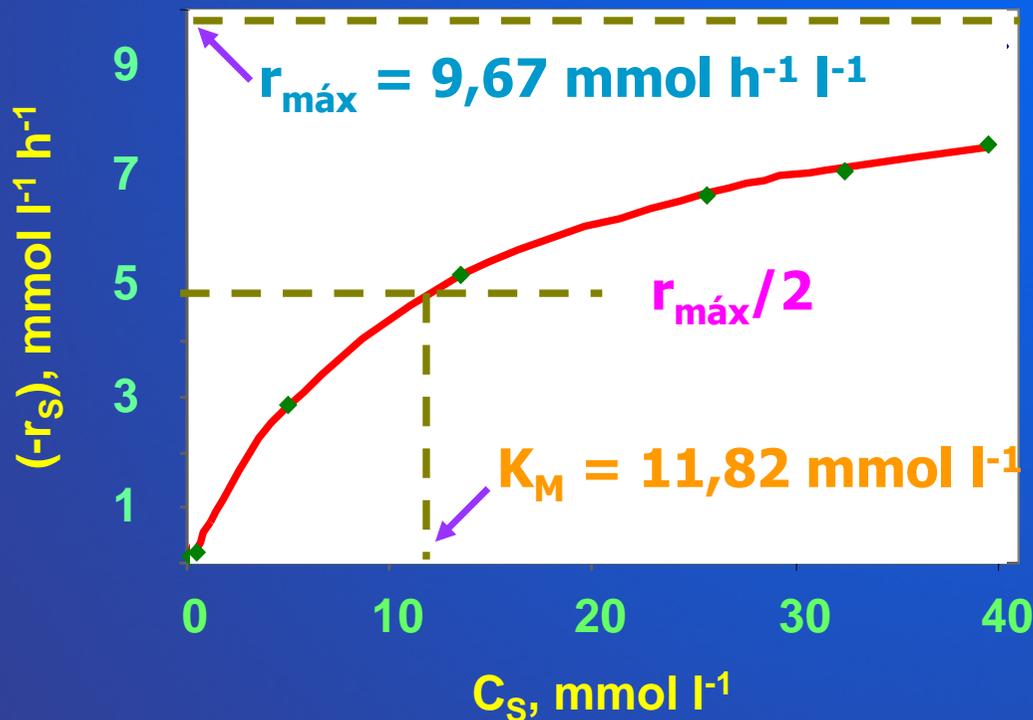
$$\text{pdte.} = 1/(r_{\text{máx}}) =$$

$$= 0,103 \text{ h}^{-1} \text{ l mmol}^{-1}$$

$$r_{\text{máx}} = 9,67 \text{ mmol h}^{-1} \text{ l}^{-1}$$

$$\text{o.o.} = 1,222 \text{ h} = K_M/(r_{\text{máx}})$$

$$K_M = 11,82 \text{ mmol l}^{-1}$$



$$\frac{C_s}{r} = \frac{K_M}{r_{\text{máx}}} + \frac{C_s}{r_{\text{máx}}}$$

$$r = \frac{r_{\text{máx}} C_s}{K_M + C_s}$$

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

DESACTIVACIÓN (INHIBICIÓN) ENZIMÁTICA

Ciertas moléculas pueden inhibir la acción catalítica de un enzima, se denominan **inhibidores**

Existen dos **tipos de inhibición**

Irreversible

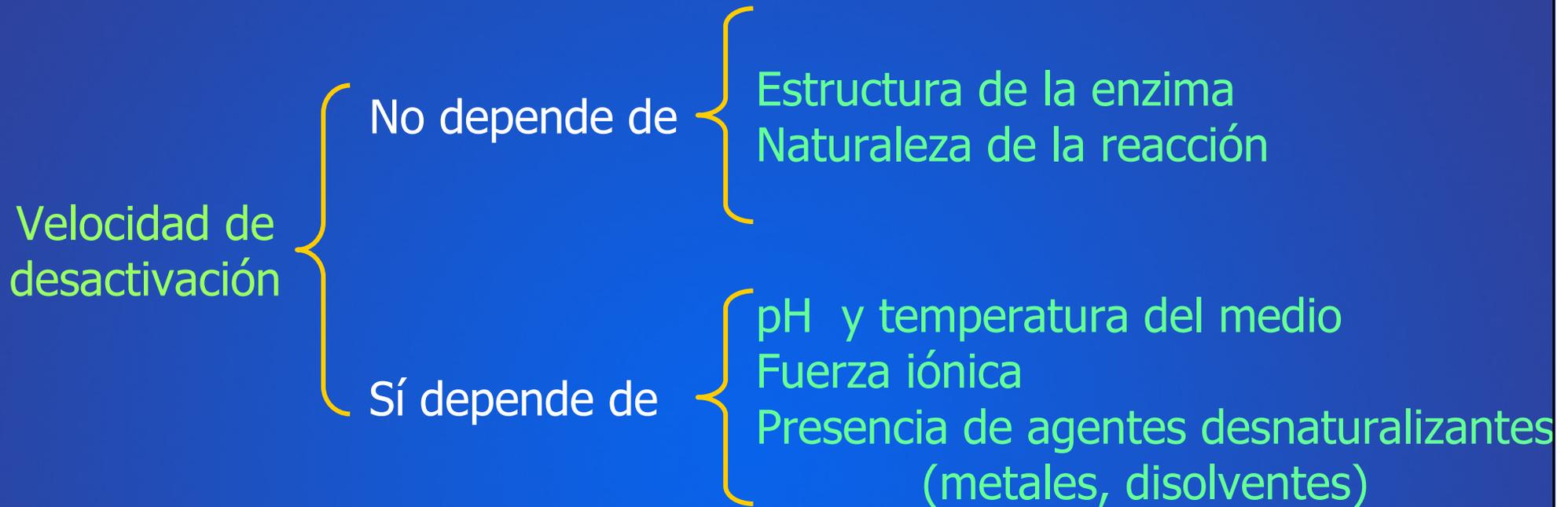
Cuando el veneno metabólico se une covalentemente a la enzima alterando su estructura e inutilizándola de forma **permanente**

Reversible

Es una **inhibición temporal**. Una vez retirado el inhibidor la enzima recupera su actividad. El inhibidor se une por enlaces no covalentes y puede ocupar el centro activo por semejanza estructural con el sustrato original (**inhibidor competitivo**) o bien alterar la conformación espacial del enzima, impidiendo su unión al sustrato (**inhibidor no competitivo**)

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

CINÉTICA DE DESACTIVACIÓN (INHIBICIÓN) ENZIMÁTICA



Modelo de desactivación



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

$$C_{Z_a} = C_{Z_{a_0}} \exp(-k_d t)$$

$$r_{\text{máx}} = k_2 C_{Z_a} = k_2 C_{Z_{a_0}} \exp(-k_d t) = r_{\text{máx}_0} \exp(-k_d t)$$

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

EJEMPLO (II)

En determinadas condiciones, la enzima del ejemplo anterior se desactiva, siendo su vida media de 4,9 horas. Determinar el tiempo necesario para lograr una conversión del 85% y comparar este resultado con el correspondiente en ausencia de desactivación.

$$\left. \begin{aligned} C_{Za} &= C_{Za_0} \exp(-k_d t) \\ t = T_{1/2} &\rightarrow C_{Za} = C_{Za_0} / 2 \end{aligned} \right\} k_d = \ln 2 / T_{1/2} = 0,141 \text{ h}^{-1}$$

$$\left. \begin{aligned} -r_s &= -\frac{dC_s}{dt} = \frac{r_{\text{máx}} C_s}{K_m + C_s} \\ r_{\text{máx}} &= r_{\text{máx}_0} \exp(-k_d t) \end{aligned} \right\} -\frac{dC_s}{dt} = \frac{r_{\text{máx}_0} \exp(-k_d t) C_s}{K_m + C_s}$$

$$t = -\frac{1}{k_d} \ln \left[1 - k_d \left(\frac{K_m}{r_{\text{máx}_0}} \ln \frac{C_{s_0}}{C_s} + \frac{C_{s_0} - C_s}{r_{\text{máx}_0}} \right) \right]$$

CINÉTICA ENZIMÁTICA HOMOGÉNEA

EJEMPLO (II)



$$X_S = 0,85$$

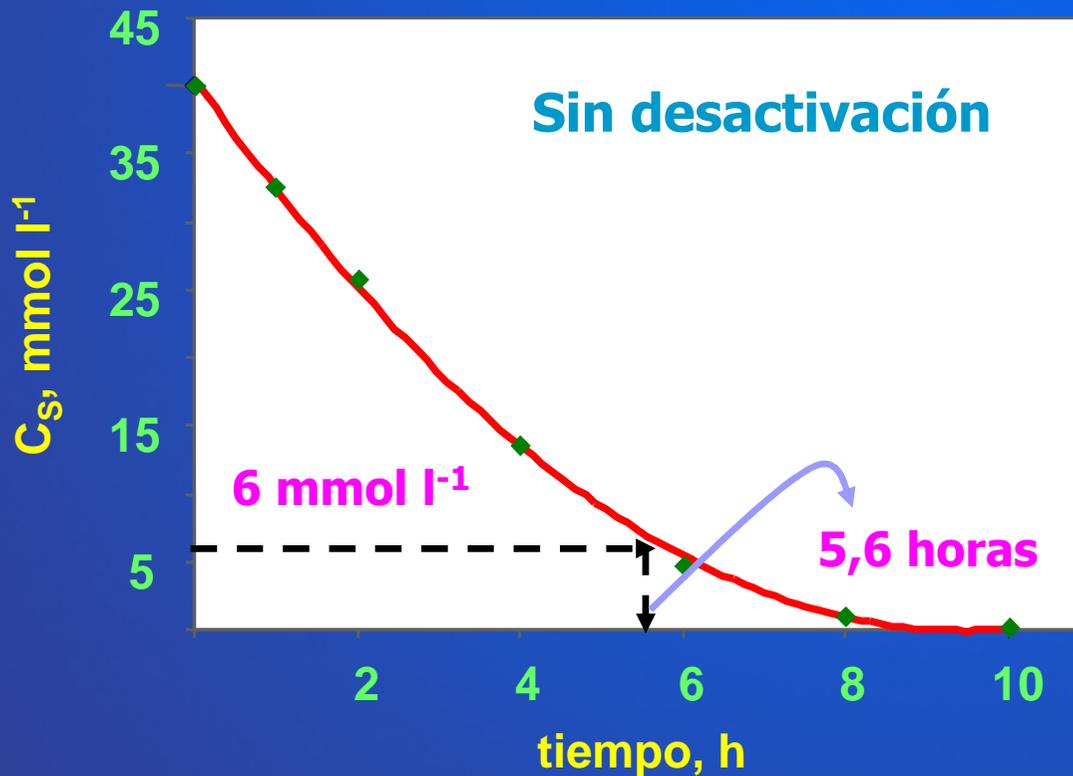
$$C_S = C_{S_0} (1 - X_S)$$

$$C_S = 40 \text{ mmol l}^{-1} (1 - 0,85) = 6 \text{ mmol l}^{-1}$$

$$t = -\frac{1}{k_d} \ln \left[1 - k_d \left(\frac{K_M}{r_{\text{máx}_0}} \ln \frac{C_{S_0}}{C_S} + \frac{C_{S_0} - C_S}{r_{\text{máx}_0}} \right) \right]$$

$$r_{\text{máx}} = 9,67 \text{ mmol h}^{-1} \text{ l}^{-1}$$

$$K_M = 11,82 \text{ mmol l}^{-1}$$

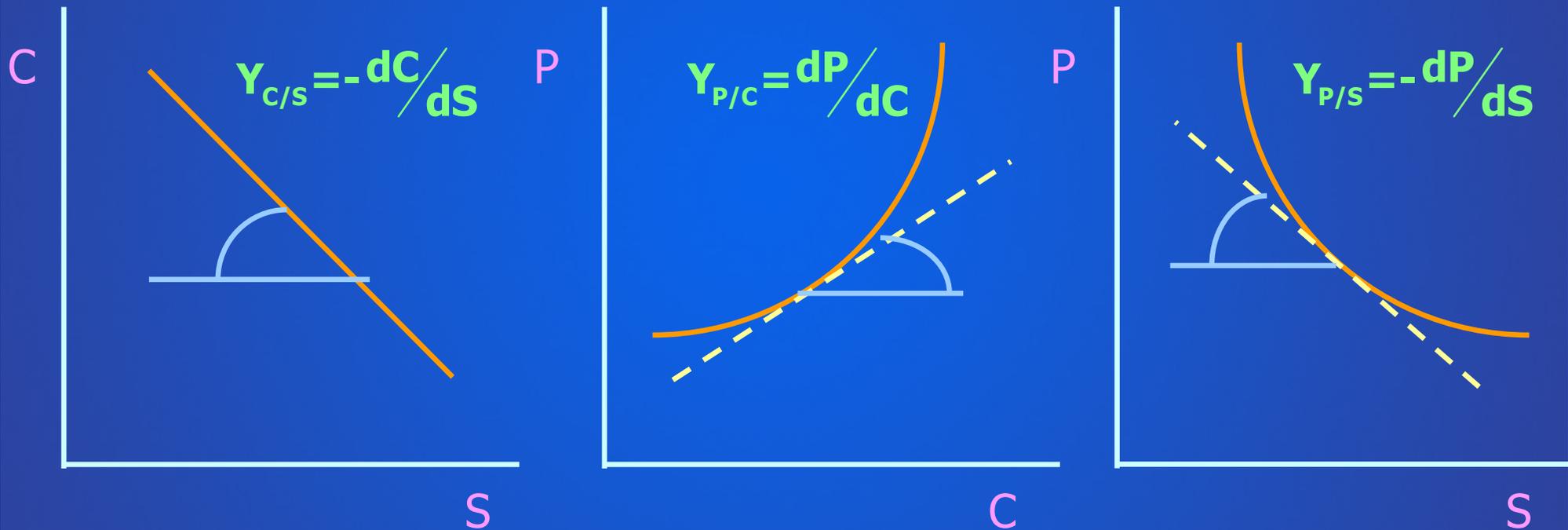


$$t = 12,7 \text{ horas}$$

CINÉTICA EN CULTIVOS DE CÉLULAS BIOLÓGICAS

COEFICIENTES o FACTORES DE PRODUCCIÓN

EVALUACIÓN DE LOS COEFICIENTES DE PRODUCCIÓN



$$Y_{P/C} = \frac{\text{masa de producto formado}}{\text{masa de nuevas células formada}}$$

CINÉTICA EN CULTIVOS DE CÉLULAS BIOLÓGICAS

CINÉTICA DEL CRECIMIENTO CELULAR



CINÉTICA EN CULTIVOS DE CÉLULAS BIOLÓGICAS

CINÉTICA DEL CRECIMIENTO CELULAR

El metabolismo de las células depende de la acción conjunta de una multitud de enzimas

La ecuación del crecimiento de las células similar a la de procesos enzimáticos

Fase I: Iniciación o Latencia

Adaptación de las células al medio
Síntesis de enzimas
Comienza la reproducción

Velocidad de crecimiento nulo

Fase II: Crecimiento Exponencial

División de las células con rapidez máxima
Aprovechamiento óptimo de los nutrientes

Velocidad de crecimiento es proporcional a la concentración de las células

CINÉTICA EN CULTIVOS DE CÉLULAS BIOLÓGICAS

CINÉTICA DEL CRECIMIENTO CELULAR

Fase III: Estacionaria o de
estancamiento

Limitación del crecimiento celular
por escasez de nutrientes

Acumulación de inhibidores

Velocidad de crecimiento nulo

Fase IV: Fase de Muerte

Formación de subproductos tóxicos
Agotamiento de nutrientes

Disminución en la concentración de
células vivas

CINÉTICA EN CULTIVOS DE CÉLULAS BIOLÓGICAS

CINÉTICA DEL CRECIMIENTO CELULAR (Fase II)

Células + Sustrato \longrightarrow Más Células + Productos

$$r_{\text{biomasa}} = \frac{dC_{\text{biomasa}}}{dt} = kC_{\text{biomasa}}$$

$$C_{\text{biomasa}} = C_{\text{biomasa}_0} \exp(kt)$$

k : constante de velocidad de crecimiento

$$k = k_{\text{máx}} \frac{C_s}{K_s + C_s}$$

$k_{\text{máx}}$: constante de velocidad de crecimiento en exceso de nutrientes

C_s : concentración de sustrato (limitante)

K_s : constante de Monod

$$r_{\text{biomasa}} = k_{\text{máx}} \frac{C_s}{K_s + C_s} C_{\text{biomasa}} = \frac{r_{\text{máx}} C_s}{K_s + C_s}$$

ECUACIÓN DE MONOD

CINÉTICA EN CULTIVOS DE CÉLULAS BIOLÓGICAS

CINÉTICA DEL CRECIMIENTO CELULAR (Fase II)

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE MONOD

$$K_S = C_S \quad (r = r_{\text{máx}}/2)$$

En muchas ocasiones $K_S \downarrow\downarrow$ ($K_S \ll C_S$)

$$k = k_{\text{máx}}$$

$$\begin{aligned} r_{\text{biomasa}} &= - \frac{dC_{\text{biomasa}}}{dt} = \\ &= k_{\text{máx}} C_{\text{biomasa}} \end{aligned}$$

$$C_{\text{biomasa}} = C_{\text{biomasa}_0} \exp(k_{\text{máx}} t)$$

CINÉTICA EN CULTIVOS DE CÉLULAS BIOLÓGICAS

CINÉTICA DEL CRECIMIENTO CELULAR (Fase II)

Constantes de Monod para algunos microorganismos

| Microorganismo | Sustrato limitante | K_S , mg l ⁻¹ |
|----------------|--------------------|----------------------------|
| Saccharomyces | Glucosa | 25 |
| Escherichia | Glucosa | 4,0 |
| | Fosfato | 1,6 |
| Aspergillus | Glucosa | 5,0 |
| Candida | Glicerol | 4,5 |
| | Oxígeno | 0,042-0,045 |
| Klebsiella | Dióxido de carbono | 0,4 |
| | Potásio | 0,39 |
| Cryptococcus | Tiamina | $1,4 \cdot 10^{-7}$ |

CINÉTICA EN CULTIVOS DE CÉLULAS BIOLÓGICAS

CINÉTICA DE LA MUERTE DE CÉLULAS (Fase IV)

Importancia de la determinación de la cinética de muerte de células

Procesos de esterilización
Procesos biotecnológicos en medios letales



Procesos de muerte natural
Procesos de muerte debido a un sustancia tóxica

$$r_d = -\frac{dC_c}{dt} = (k_d + k_t C_t) C_c$$

cinética de primer orden

C_c : concentración de células (biomasa)

k_d : constante de velocidad de muerte natural

k_t : constante de velocidad de muerte provocada

C_t : concentración de sustancia tóxica

En muchas ocasiones $k_d \ll k_t C_t$

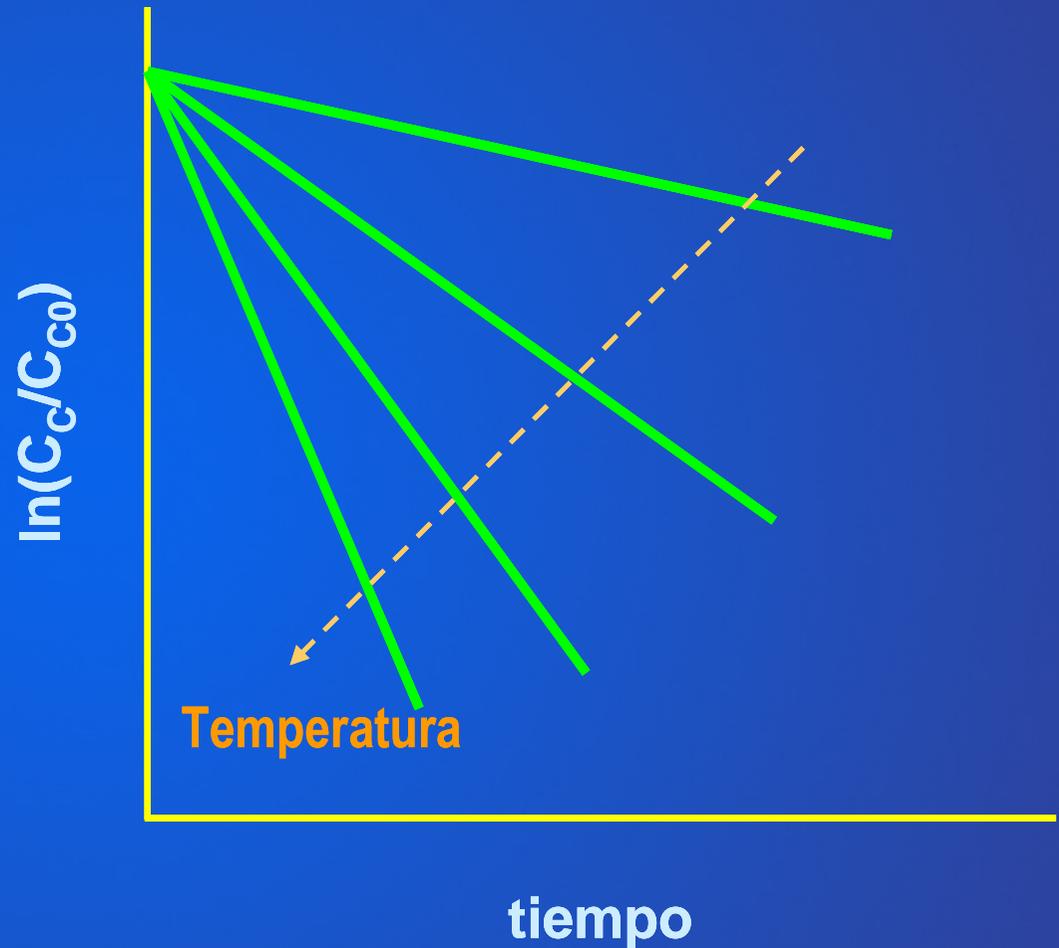
$$r_d = -\frac{dC_c}{dt} = k_t C_t C_c$$

$$C_c = C_{c_0} \exp(-k_t C_t t)$$

CINÉTICA EN CULTIVOS DE CÉLULAS BIOLÓGICAS

CINÉTICA DE LA MUERTE DE CÉLULAS (Fase IV)

$$\ln\left(\frac{C_c}{C_{c_0}}\right) = -k_t C_t t$$



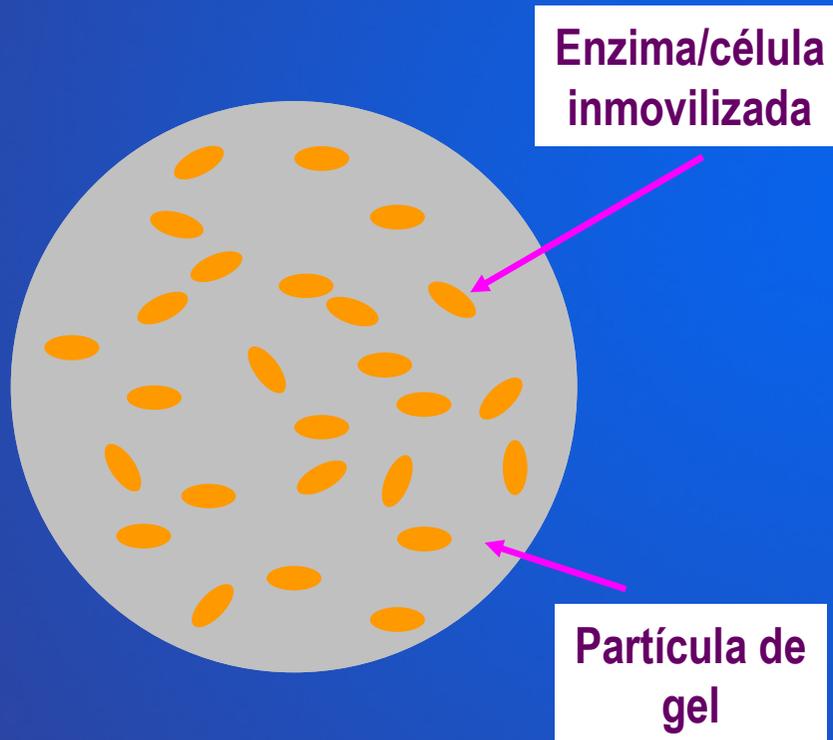
Energía de activación 250-290 kJ mol⁻¹

Elevada dependencia de k_t con la temperatura

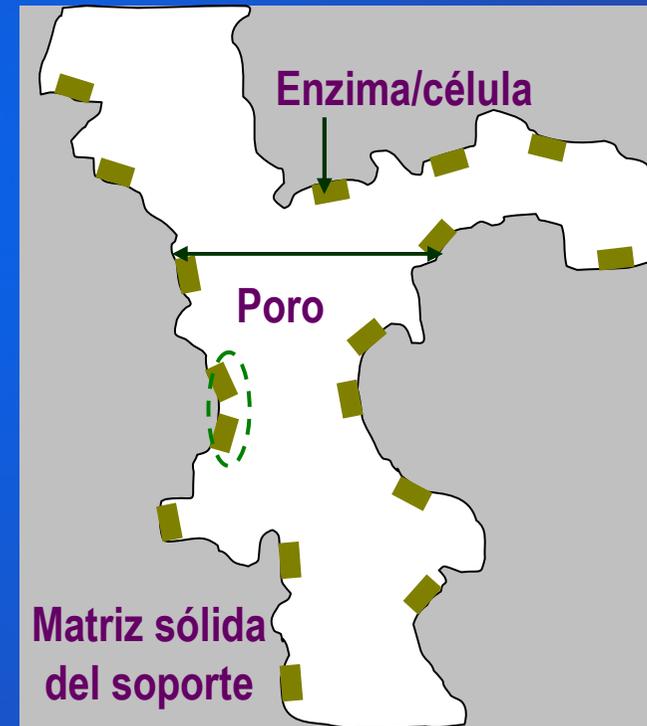
CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

PREPARACIÓN DE CATALIZADORES HETEROGÉNEOS ENZIMÁTICOS (BIOCATALIZADORES INMOVILIZADOS)

Consiste en atrapar las células o enzimas dentro de un sólido poroso (gel, cerámica, vidrio, resina)



CÉLULAS/ENZIMAS ATRAPADAS EN UN GEL POROSO



CÉLULAS/ENZIMAS SOPORTADAS SOBRE UN SÓLIDO POROSO

CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

CARÁCTERÍSTICAS DE LOS CATALIZADORES HETEROGÉNEOS ENZIMÁTICOS

- Su actividad está relacionada con la **cantidad de células o enzimas por unidad de volumen de catalizador**
- Importancia de los **procesos de transferencia de materia** en el exterior e interior de las partículas
- Permite **operar en continuo**
- Mejora de la **estabilidad de las enzimas**
- Facilita la **separación** de los productos
- **Similitud** de su estudio con respecto a los **catalizadores sólidos heterogéneos**

CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

ETAPAS EN EL MECANISMO

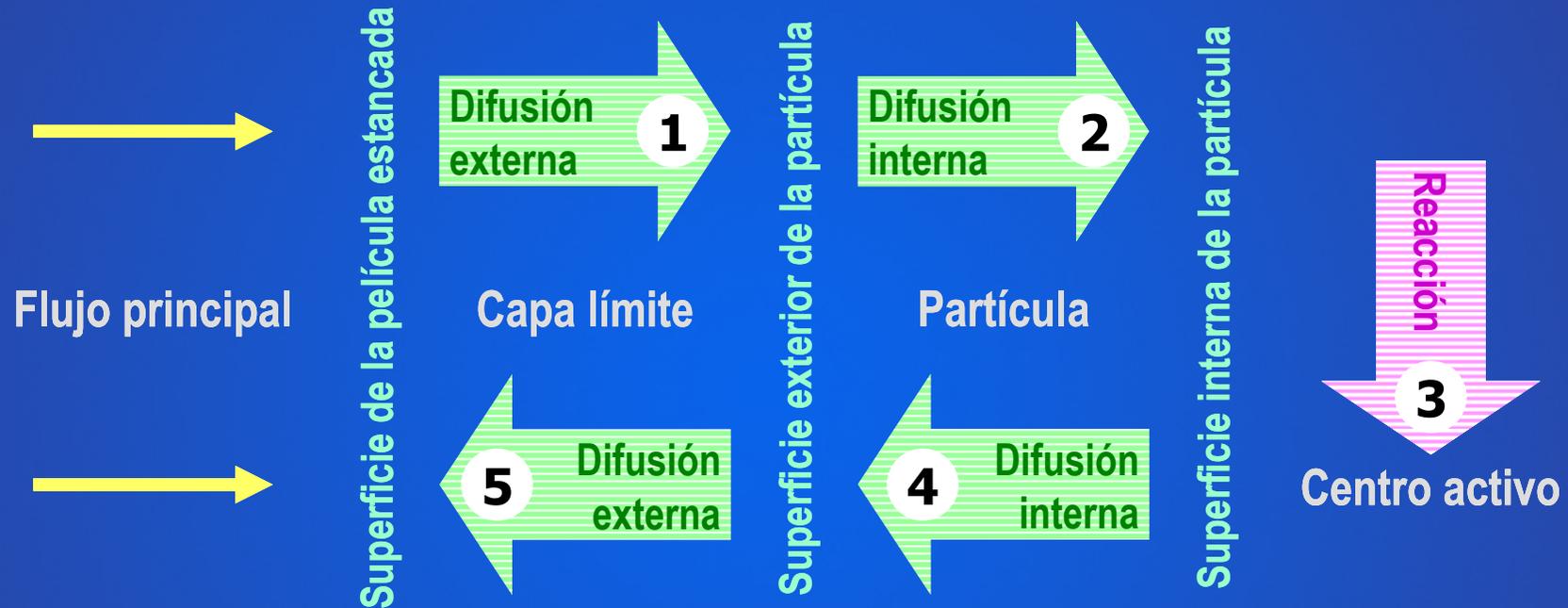
Son etapas en serie (consecutivas)

1. Los reactivos pasan desde la fase fluida hasta la superficie externa del sólido, por difusión
2. Los reactivos pasan desde la superficie de la partícula hasta el interior de los poros, por difusión
3. Etapas de reacción bioquímicas
4. Los productos salen por difusión desde el interior de los poros hasta la superficie exterior de la partícula
5. Los productos se difunden desde la superficie externa de la partícula hasta la fase fluida

Nótese que las etapas de este tipo de reacciones son muy similares que las etapas de las reacciones heterogéneas con un catalizador soportado inorgánico, analizadas en el Tema 7. Además de las peculiaridades intrínsecas de los catalizadores biológicos descritas anteriormente, las reacciones enzimáticas heterogéneas son reacciones fluido-sólido (enzimas soportadas) en las que el fluido (reactivos) generalmente es un líquido.

CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

ETAPAS EN EL MECANISMO



ETAPAS 1 / 2 / 4 / 5

etapas físicas (transferencia de materia)

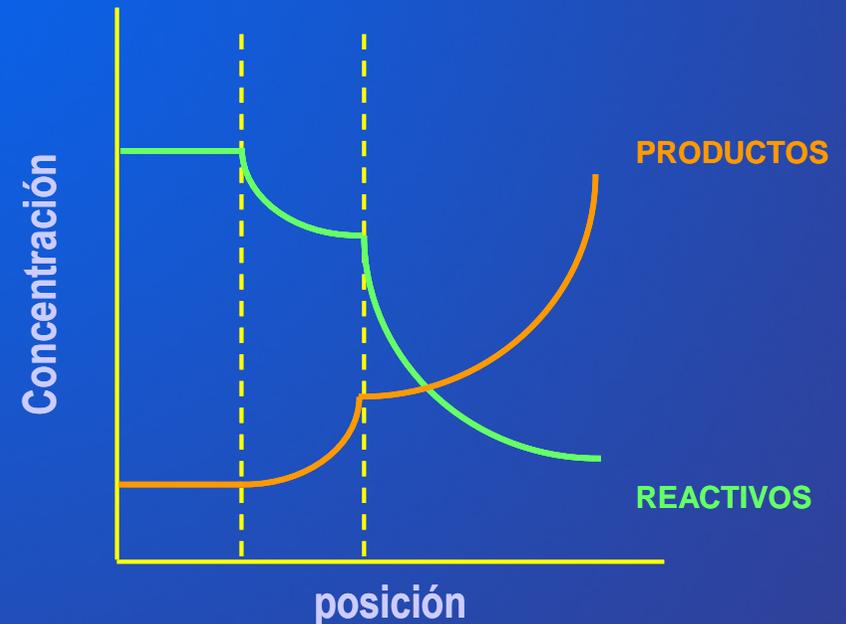
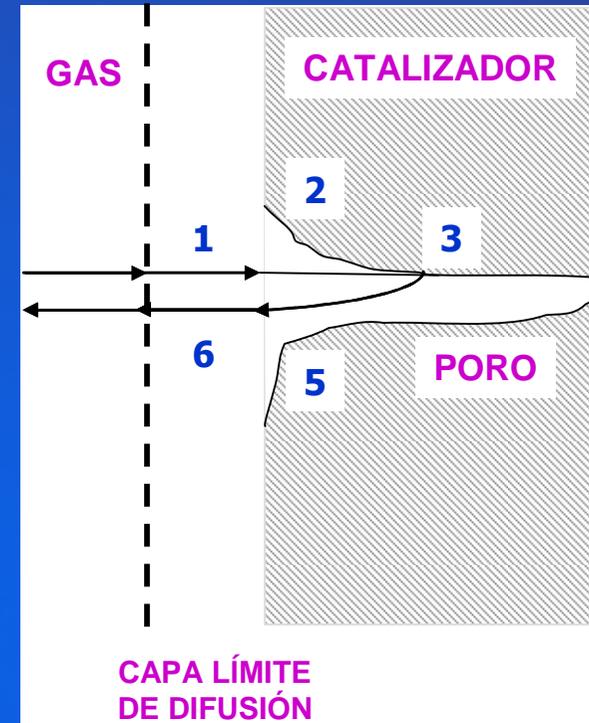
difusión externa e interna de reactivos y productos

ETAPA 3

etapas (bio)químicas

CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

ETAPAS EN EL MECANISMO DE LA REACCIÓN ENZIMÁTICA HETEROGÉNEA



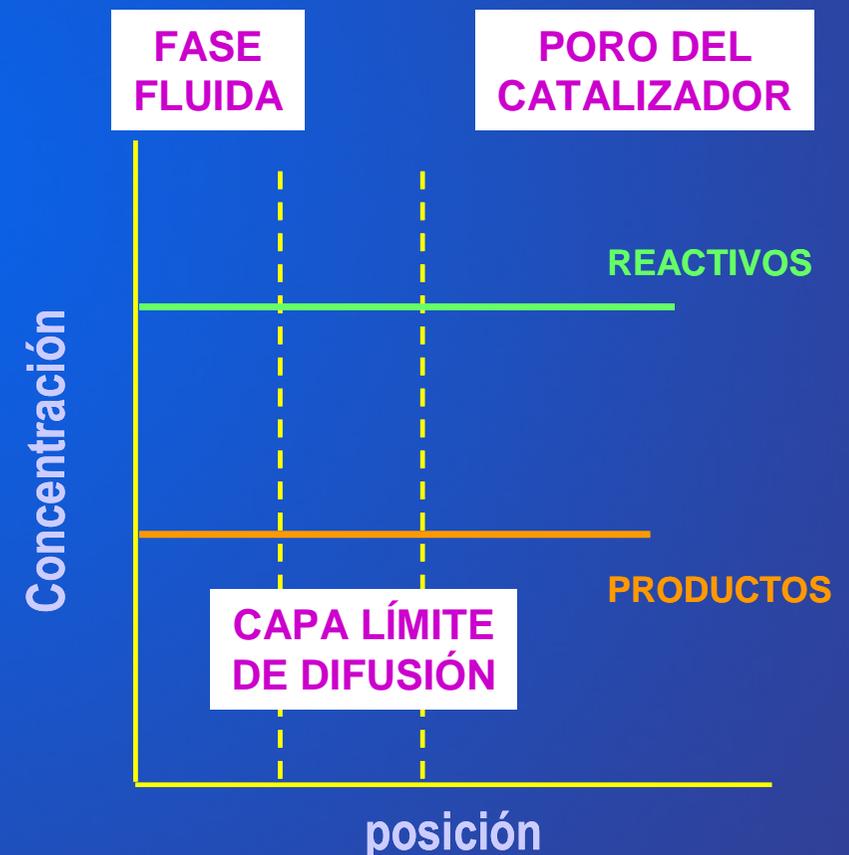
CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

De acuerdo con las etapas que conforman el mecanismo de una reacción enzimática heterogénea, la ecuación cinética de la reacción será la ecuación cinética de la etapa más lenta (etapa controlante), de forma análoga a las reacciones catalíticas heterogéneas

A la hora de deducir la ecuación cinética se asume que:

Las etapas físicas (de difusión) son suficientemente rápidas, es decir, mucho más rápidas que cualquier etapa química

Esto permite considerar que la concentración de reactivos (y productos) en las proximidades de un centro catalítico son aproximadamente iguales a las concentraciones de reactivos (y productos) en el seno de la fase fluida



CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

Por tanto, si las etapas físicas son mucho más rápidas que las etapas químicas se puede suponer que:

$$\begin{aligned} C_{\text{reactivo}}(\text{fase fluída}) &\cong C_{\text{reactivo}}(\text{en la capa límite}) \\ &\cong C_{\text{reactivo}}(\text{en el interior de los poros}) \\ C_{\text{producto}}(\text{en el interior de los poros}) &\cong \\ C_{\text{producto}}(\text{en la capa límite}) &\cong C_{\text{producto}}(\text{fase fluída}) \end{aligned}$$

Nótese que únicamente las concentraciones de las especies químicas en la fase fluida pueden ser medidas experimentalmente, a diferencia de las concentraciones en la capa límite o en el interior del poro

A continuación se analizará el estudio y modelado de las etapas de difusión tanto externa como interna (Fenómenos de Transporte), para poder establecer el modo de realización de los experimentos de tal forma que se pueda considerar que la ecuación cinética de una reacción enzimática heterogénea es la ecuación cinética de una etapa (bio)química ó biológica –análogamente a lo descrito en el Tema 7

CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

GRADIENTES DE CONCENTRACIÓN

DIFUSIÓN EXTERNA

Suposiciones } la difusión interna y la transferencia de energía son rápidas
no existen gradientes de concentración en el interior de los poros y que la partícula es isoterma

$$N'_S = k_L S_P (C_S - C_{S_s})$$

N'_S , mol s⁻¹

Flujo de S desde el exterior hasta la superficie de la partícula

k_L , cm s⁻¹

Coefficiente de transferencia de materia por convección

C_S , mol cm⁻³

Concentración de sustrato en la fase líquida

C_{S_s} , mol cm⁻³

Concentración de sustrato en la superficie externa

CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

GRADIENTES DE CONCENTRACIÓN

DIFUSIÓN EXTERNA

Balance de materia (estado estacionario) en el exterior de la partícula

$$\left(\begin{array}{l} \text{La cantidad de S que llega} \\ \text{a la superficie de la partícula} \end{array} \right) = \left(\begin{array}{l} \text{La cantidad de S que} \\ \text{desaparece por reacción} \end{array} \right)$$

$$k_L S_P (C_S - C_{S_s}) = (r_P)_S V_P$$

k_L , cm s^{-1}

Coeficiente de transferencia de materia por convección
(fenómenos de transporte)

$(r_P)_S$, $\text{mol cm}^{-3} \text{s}^{-1}$

Velocidad de reacción evaluado para la concentración
en la superficie del catalizador

La resolución del balance de materia permite determinar la concentración en la superficie del catalizador

CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

GRADIENTES DE CONCENTRACIÓN

DIFUSIÓN EXTERNA

Si $k_L \uparrow \Rightarrow$ menor resistencia a la difusión L-S

$$\left(\frac{k_L d_p}{D_e} \right)^2 = 4,0 + 1,21 Pe^{2/3}$$

Pe: número de Peclet

| | | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|---|--------------------------|
| $\rho_F, \text{ g cm}^{-3}$ | Densidad del fluido | $\mu_F, \text{ g cm}^{-1} \text{ s}^{-1}$ | Viscosidad cinemática |
| $d_p, \text{ cm}$ | Diámetro de partícula | $v_L, \text{ cm s}^{-1}$ | Velocidad del fluido |
| $D_e, \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ | Difusividad del sustrato en la mezcla | $\rho_C, \text{ g cm}^{-3}$ | Densidad del catalizador |



$$Pe = \frac{v_L d_p}{D_e}$$

$$v_L = \frac{g d_p^2 (\rho_C - \rho_F)}{18 \mu_F}$$

$$\left(\frac{k_L d_p}{D_e} \right)^2 = 16 + 4,84 \left(\frac{g d_p^3 (\rho_C - \rho_F)}{18 \mu_F D_e} \right)^{2/3}$$

Correlación de Brian y Hales (corregida)

CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

GRADIENTES DE CONCENTRACIÓN

DIFUSIÓN EXTERNA

El cálculo teórico de los gradientes es laborioso

Estimación de numerosas propiedades de transporte

Errores asociados en la estimación

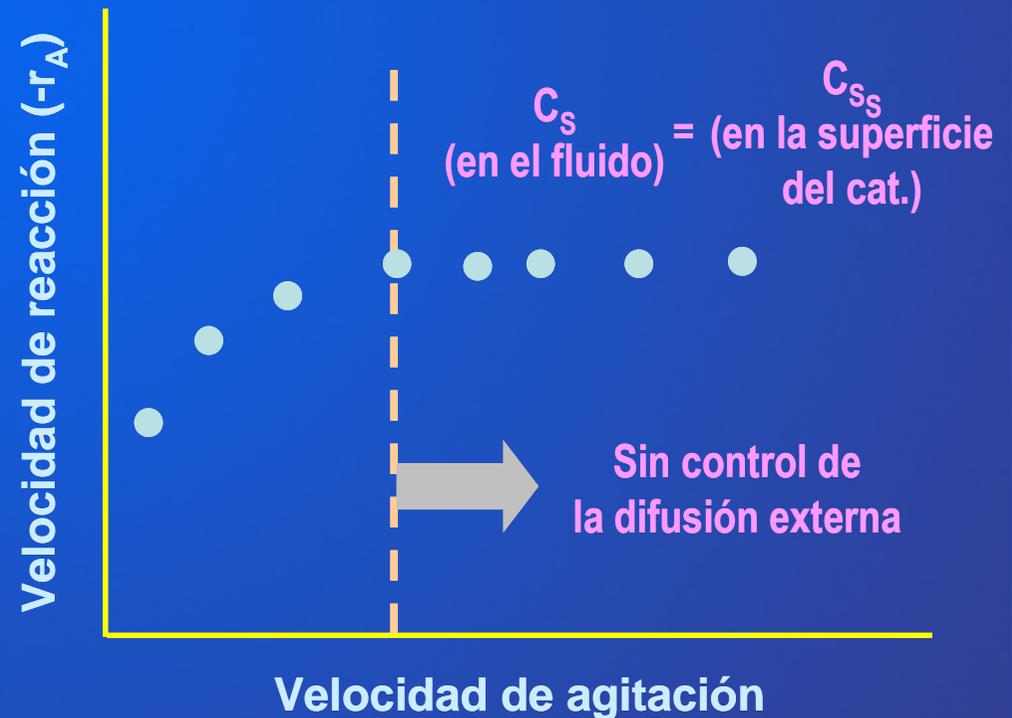


Es necesaria una **comprobación experimental** de la ausencia de controles de difusión externa

Se realizan una serie de ensayos variando la velocidad de agitación de la mezcla sól.-líq. (relacionada con la V_L) manteniendo constantes el resto de las variables de operación

Velocidad de reacción limitada por difusión externa

Velocidad de reacción limitada por la reacción biológica



CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

GRADIENTES DE CONCENTRACIÓN

DIFUSIÓN INTERNA

Balance de materia (estado estacionario) en un elemento de volumen del interior de la partícula

$$\left(\begin{array}{l} \text{La cantidad de S} \\ \text{que entra por la} \\ \text{superficie exterior} \\ \text{(r+\Delta r)} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{l} \text{La cantidad de S} \\ \text{que sale por la} \\ \text{superficie interior} \\ \text{(r)} \end{array} \right) = \left(\begin{array}{l} \text{La cantidad de S} \\ \text{que desaparece} \\ \text{por reacción} \\ \text{dentro de } \Delta r \end{array} \right)$$

$$\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 D_e \frac{dC_s}{dr} \right) = r_p(C_s, T)$$

$$\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 D_e \frac{dC_s}{dr} \right) = \frac{r_{\text{máx}} C_s}{K_M + C_s}$$

CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

GRADIENTES DE CONCENTRACIÓN

DIFUSIÓN INTERNA

La **velocidad de reacción puntual** es un parámetro de **difícil cálculo**
Se utiliza la **velocidad media en la partícula de catalizador**

FACTOR DE EFICACIA (η)

$$\eta = \frac{\text{velocidad de reacción real media en la partícula}}{\text{velocidad de reacción en condiciones de superficie}} = \frac{(\bar{r}_p)}{(r_p)_s}$$

$$\eta = \frac{\frac{1}{V} \int_0^V [r_p(C_s, T)] dV}{r_p(C_{s_s}, T)} \quad \eta = \frac{3 \int_0^{R_p} [r_p(C_s, T)] r^2 dr}{R_p^3 r_p(C_{s_s}, T)}$$

Partícula esférica

$\eta = 1$ No control difusional (gradientes internos despreciables)

$\eta \rightarrow 0$ Fuerte descenso de la concentración con la posición
Control difusional (interno) importante

CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

GRADIENTES DE CONCENTRACIÓN

DIFUSIÓN INTERNA

ORDEN 0

$$\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 D_e \frac{dC_s}{dr} \right) = k$$

Φ_s = módulo de Thiele

$$= \frac{R_p}{3} \sqrt{\frac{k}{2C_s D_e}}$$

$$\eta = 1 - \left[\frac{1}{2} + \text{sen} \left[\frac{1}{3} \arctg \left(\frac{3\Phi_s^2 - 2}{2\sqrt{3\Phi_s^2 - 1}} \right) \right] \right]^3$$

El factor de eficacia será más bajo

ORDEN 1

$$\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 D_e \frac{dC_s}{dr} \right) = k' C_s$$

Φ_s = módulo de Thiele

$$= \frac{R_p}{3} \sqrt{\frac{k}{D_e}}$$

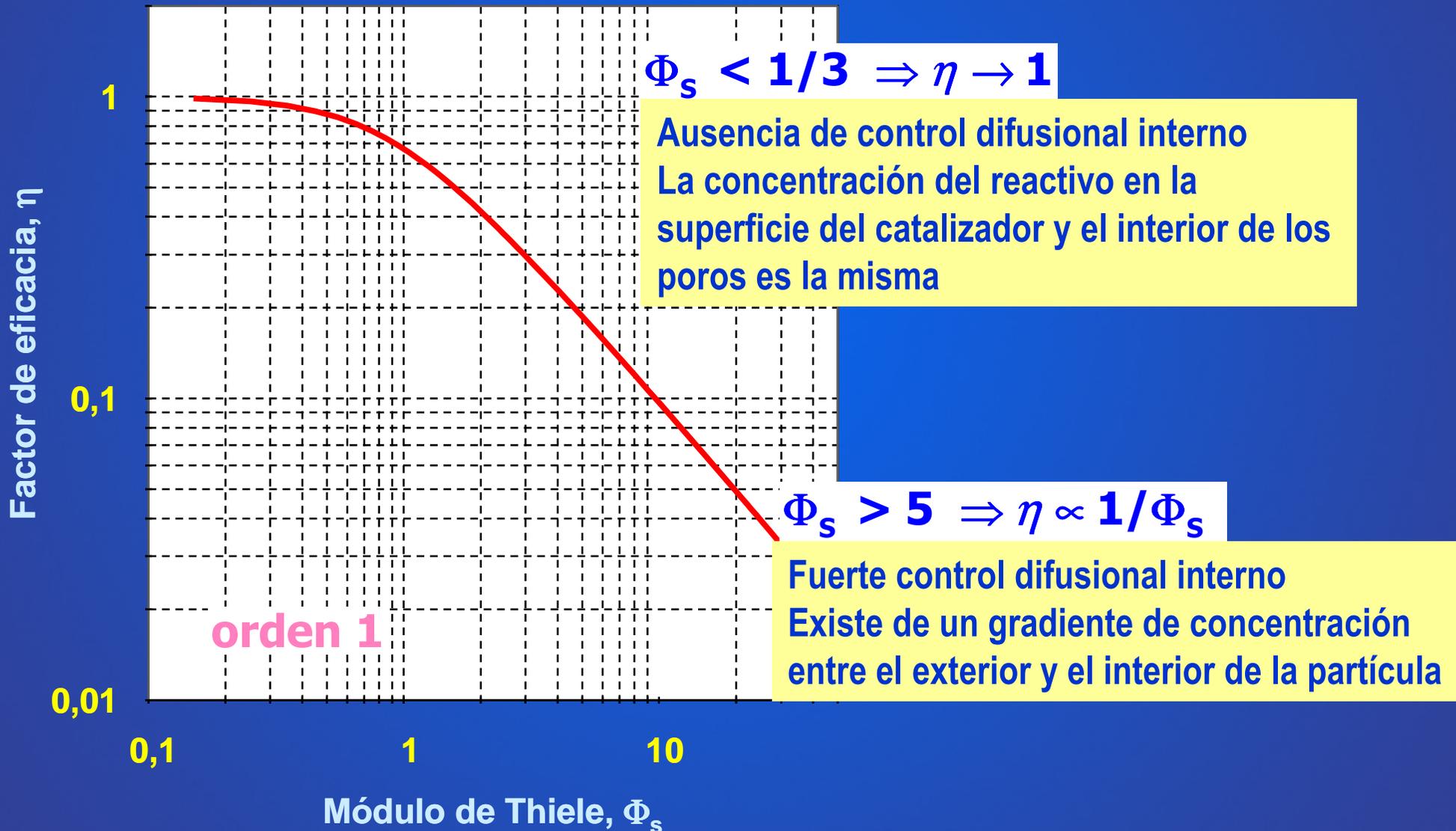
$$\eta = \frac{1}{\Phi_s} \left(\frac{1}{\tanh(3\Phi_s)} - \frac{1}{(3\Phi_s)} \right)$$

Cuanto mayor sea el tamaño de partícula
Cuanto más rápida sea la reacción
Cuanto menor sea la difusividad efectiva

CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

GRADIENTES DE CONCENTRACIÓN

DIFUSIÓN INTERNA



CINÉTICA DE REACCIONES ENZIMÁTICAS HETEROGÉNEAS

GRADIENTES DE CONCENTRACIÓN

DIFUSIÓN INTERNA

El estudio teórico indica que **disminuyendo el tamaño de partícula aumenta el valor de eficacia**

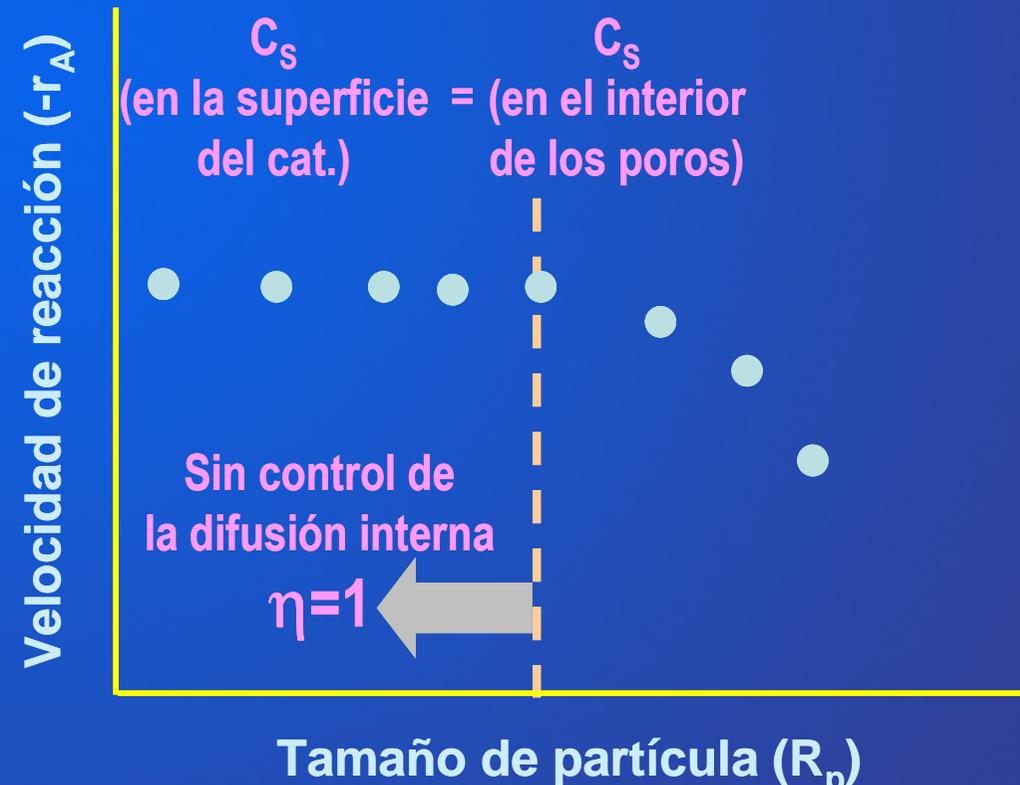


La **velocidad media en el interior de la partícula es igual a la velocidad de reacción en la superficie**

Se realizan una serie de experimentos **variando el tamaño de partícula manteniendo el resto de las variables de operación constantes**

Velocidad de reacción limitada por la reacción biológica

Velocidad de reacción limitada por difusión interna



TEMA 10. REACCIONES ENZIMÁTICAS