Escola Politécnica da Universidade de São Paulo
Engenharia Ambiental – 1º semestre - 2019

PQI 3221:
CINÉTICA QUÍMICA E PROCESSOS AMBIENTAIS

Aula 21



# CINETICA ENZIMATICA

## Cinética Enzimática: Conceito

Entende-se por cinética enzimática:

a) O estudo da velocidade de uma reação química que ocorre na presença de um enzima, e

b) A análise quantitativa do efeito dos fatores que influenciam a atividade enzimática, avaliada por meio de aumento (ou redução) da velocidade da reação catalisada

A atividade da enzima – e portanto, a cinética enzimática – é influenciada por fatores tais como:

a) Concentração e estrutura da enzima

b) Concentração de cofatores, em particular, de aminoácidos

c) Concentração e tipo de inibidores (quando presentes)

d) Fatores externos: principalmente índice de acidez (pH) e Temperatura

e) Força iônica

No entanto, as cinéticas enzimáticas são difíceis de serem definidas quantitativamente. Portanto, e nesses casos, é necessário determinar constantes da reação catalisada



## Cinética Enzimática: Objetivos e Características

OBJETIVOS

- Medir a velocidade das transformações;
- Estudar a influência das condições de trabalho;
- Correlacionar: velocidades → fatores;
- Otimização do processo;
- Definir critérios para o controle das reações;
- Projetar o reator mais adequado.

CARACTERÍSTICAS

A cinética enzimática permite elucidar aspectos associados a:

- Pormenores do mecanismo catalítico das enzimas;
- O papel das enzimas no metabolismo;
- Controle da atividade microbiológica;
- Mecanismos de inibição.

## Cinética Enzimática: Velocidade vs. Concentração

A concentração de substrato $[S]$ influencia a velocidade de uma reação $(V)$

Para saber a magnitude dessa influência estuda-se a relação entre essa concentração e a velocidade

Método de abordagem do problema:

No inicio da reação, quando existem apenas $S$ e $E$, admite-se que $[S]{\sim}cte.$ Essa hipótese pode ser formulada pelo fato de: $[S] >>> [E]$

Nessas condições, determina-se a velocidade inicial de reação ($V_o$) para uma determinada $[S]$

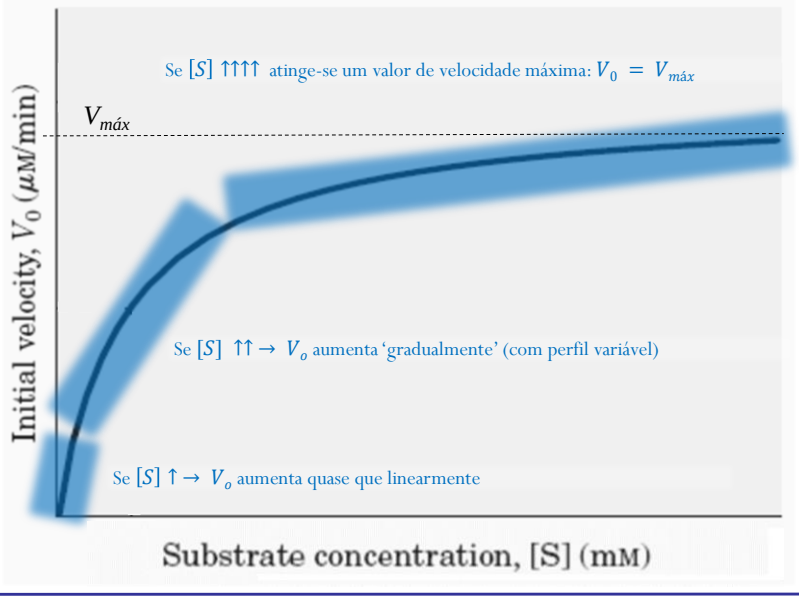
Esse procedimento é, então, repetido diversas vezes. Para quaisquer dessas situações admiti-se também, e como outra hipótese, que:

$$[E] = constante = \frac{d[E]}{dt} = 0$$

Com esses dados será possível traçar em um gráfico do tipo: $\boldsymbol{V_o = f([S])}$



## Cinética Enzimática: Velocidade vs. Concentração



## Sistema Reacional Simples: Equação de Michaelis-Menten

A reação enzimática simples envolve um único substrato $(S)$ que se transforma em um único produto $(P)$. Essa transformação se dá na forma de um mecanismo que envolve duas etapas elementares

De início, enzima e substrato reagem reversivelmente formando um composto intermediário denominado complexo enzima-substrato $(ES)$

$$\mathrm{E} + \mathrm{S} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \mathrm{ES}$$

Ainda que ocorra segundo um equilíbrio, esta etapa do mecanismo de reação é rápida



## Sistema Reacional Simples: Equação de Michaelis-Menten

Em seguida, o complexo $ES$ se decompõe (ou mesmo, reage com outra substância), regenerando a enzima e formando o produto $(P)$ da reação

$$\mathrm{ES} \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} \mathrm{E} + \mathrm{P}$$

A velocidade da reação que compreende a segunda etapa do mecanismo é mais lenta do que a da primeira etapa e portanto, irá condicionar a velocidade global da reação. Nesse contexto:

- $V_0 \, \alpha \, [ES]$ (o qual, como se pode perceber, é um intermediário de processo!)
- A enzima alterna sua existência entre as formas livre $(E)$ e do complexo $(ES)$
- $V_{máx}$ da reação ocorre quando **todas** as enzimas estão associadas a moléculas de substrato

## Sistema Reacional Simples: Equação de Michaelis-Menten

A curva que representa a relação entre $V_o$ e $[S]$ tem forma (hiperbólica) idêntica para a maior parte dos enzimas. Essa curva pode ser descrita em termos algébricos pela equação de Michaelis-Menten.

A equação de Michaelis-Menten é expressa por

$$V_0 = \frac{V_{\max}[\mathrm{S}]}{K_\mathrm{m} + [\mathrm{S}]}$$

Hipótese: a etapa limitante (ou lenta), e que portanto condiciona a velocidade global das reações enzimáticas que compreendem esse mecanismo é a desassociação do complexo $ES$



## Dedução da Equação de Michaelis-Menten

Hipótese 1: não há transformação de produto em substrato (ou seja, $\boldsymbol{k_{-2} = 0}$)

Hipótese 2: ocorrem apenas reações de formação e desassociação do complexo $ES$

Hipótese 3: Etapa Elementar 2 do mecanismo é lenta (ou seja, $\boldsymbol{V_{EE1} >>> VEE_2}$)

Assim, o mecanismo de reação pode ser sintetizado por:

$$\mathrm{E + S} \underset{\mathrm{k_{-1}}}{\overset{\mathrm{k_1}}{\rightleftharpoons}} \mathrm{ES} \xrightarrow{\mathrm{k_2}} \mathrm{E + P}$$

$V_o = V_{global} \rightarrow VEE_2$: velocidade em que ocorre a desassociação de $ES$ para formação de $P$

$$V_0 = k_2[\mathrm{ES}]$$

## Dedução da Equação de Michaelis-Menten

Dada sua transitoriedade, não é fácil determinar $[ES]$. Por outro lado, sempre é possível saber o valor da concentração total da enzima: $[ET]$

Assim, para determinado instante $(t)$, a concentração de enzimas livres $(E)$ presentes no meio reacional poderá sempre ser determinada pela diferença: $[\boldsymbol{E}] = [\boldsymbol{ET}] - [\boldsymbol{ES}]$

Paralelamente a isso

Velocidade de formação de $ES = k_1([E_T] - [ES])[S]$

e

Velocidade de degradação de $ES = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$



## Dedução da Equação de Michaelis-Menten

Hipótese 4: como ES é um intermediário, podemos admitir, por fim que seu acumulo no sistema será nulo; ou seja: d[ES]/dt = 0

Portanto, o balanço componente para ES será dado por: $\cancel{A}^{\mathbf{0}} = \cancel{E}^{\mathbf{0}} - \cancel{S}^{\mathbf{0}} + G - C$

$$k_1([E_T] - [ES])[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

Assim sendo,

$$k_1[E_T][S] - k_1[ES][S] = (k_{-1} + k_2)[ES]$$

$$\Leftrightarrow k_1[E_T][S] = (k_1[S] + k_{-1} + k_2)[ES]$$

$$\Leftrightarrow [ES] = \frac{k_1[E_T][S]}{k_1[S] + k_{-1} + k_2} = \frac{[E_T][S]}{[S] + (k_{-1} + k_2)/k_1}$$

## Dedução da Equação de Michaelis-Menten

Definindo $\frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} = K_m$ então $[ES] = \frac{[E_T][S]}{K_m + [S]}$

Como: $V_0 = k_2 [ES]$, então $V_0 = \frac{k_2[E_T][S]}{K_m + [S]}$

$V_{máx}$ será alcançada quando não houver enzimas livres no meio reacional; ou seja, quando todas as enzimas disponíveis estiverem agindo sobre o substrato, compondo assim o complexo.

Isso ocorre quando: $[ES] = [E_T]$

Nesse caso: $V_{máx} = k_2[E_T]$

E, portanto,

$$V_0 = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]}$$ (Equação de Michaelis-Menten)

13

## Análise da Equação de Michaelis-Menten

Olhando com mais cuidado sua estrutura percebe-se que, em verdade, a equação de Michaelis-Menten dá informações sobre a relação quantitativa entre a velocidade inicial $(V_0)$, a velocidade máxima $(V_{máx})$, e a quantidade inicial de substrato $([S])$.

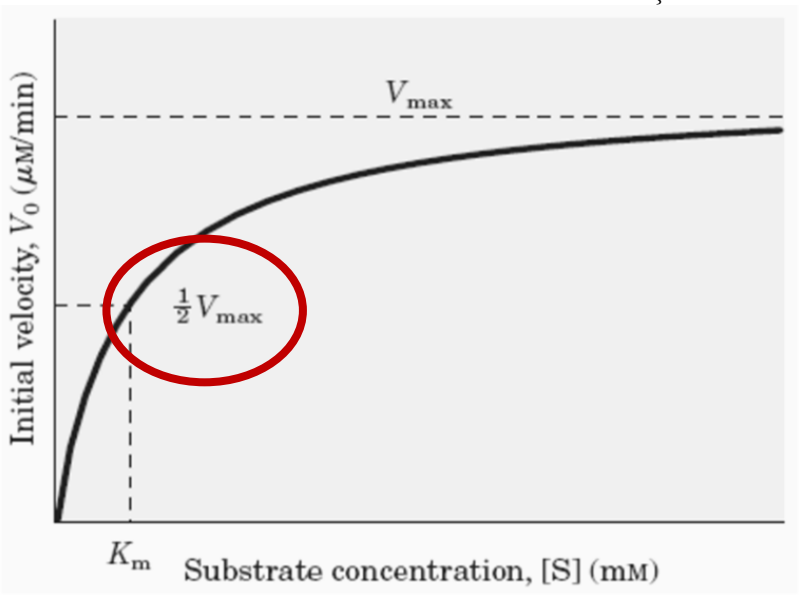
Todos esses parâmetros estão relacionadas pela Constante de Michaelis $(K_m)$, a qual está expressa em unidades de concentração. Isso pode ser comprovado para uma situação bem definida; ou seja, para o caso específico em que $V_0 = ½ V_{máx}$:

$$\frac{V_{máx}}{2} = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \rightarrow K_m = [S]$$

Portanto, sob outra perspectiva que não a da correlação entre $k_1, k_{-1}$ e $k_2$, pode-se dizer que $K_m$ corresponderá a concentração de substrato para a qual $V_0$ é metade de $V_{máx}$

14

## Cinética Enzimática: Velocidade vs. Concentração






## Análise da Equação de Michaelis-Menten

A equação de Michaelis-Menten é muito útil para determinar os valores de $K_m$ e $V_{máx}$ de reações enzimáticas

Às enzimas que exibem uma dependência hiperbólica de $V_0 = f([S])$ diz-se que estas seguem a cinética de Michaelis-Menten

Das enzimas cujos mecanismos obedeçam as reações descritas anteriormente pode-se dizer que o valor de $K_m$ estará relacionado com sua afinidade pelo substrato. Esta afinidade difere de substrato para substrato e de enzima para enzima

$V_{máx}$ é a velocidade máxima que a reação pode alcançar, na situação virtual em que todas as enzimas se encontram ligados ao substrato