



PQI 3221:  
CINÉTICA QUÍMICA E PROCESSOS AMBIENTAIS

AULA 23

---

CINETICA ENZIMATICA

---

## Número de Renovação

Outra constante catalítica importante além de  $K_m$  e  $V_{max}$ , é o Número de Renovação (também chamado de Turnover Number) ou  $k_{cat}$

Conceitualmente, o Número de Renovação representa o número máximo de mols de substrato que podem ser convertidos em produto por mol de enzima em uma unidade de tempo.

O valor de  $k_{cat}$  costuma ser expresso pelo recíproco do tempo em segundos ( $s^{-1}$ ). Em termos matemáticos esse parâmetro é definido pela relação

$$k_{cat} = \frac{([S]_{m\acute{a}x})}{[E_t]} = \frac{V_{m\acute{a}x}}{[E_t]} \rightarrow V_{m\acute{a}x} = k_{cat} \cdot [E_t] \therefore k_{cat} = k_2$$

Onde:

$[E_t]$  = concentração total de enzima

Os valores do Número de Renovação concentram-se, em geral entre  $1 < k_{cat} (s^{-1}) < 10^8$ .

A catalase, por exemplo, possui um número de renovação de  $4,0 \times 10^7 s^{-1}$  sendo, por isso, uma das enzimas mais eficientes conhecidas. O potencial catalítico de um alto valor de  $k_{cat}$  só pode ser atingido em altas concentrações de substrato (concentrações saturantes), condição raramente atingida no nível celular.

---

3

---

## Constante de Especificidade

Uma constante alternativa, chamada de Constante de Especificidade ( $k_{esp}$ ) é uma medida de quão eficientemente uma enzima converte substrato em produto em baixas concentrações de substrato.

Expresso em  $M^{-1}s^{-1}$ , o valor de  $k_{esp}$  pode ser calculado pela relação entre  $K_m$  e  $k_{cat}$

$$k_{esp} = \frac{K_m}{k_{cat}} = \frac{(k_{-1} + k_2)}{(k_1 \cdot k_2)}$$

Para que certo substrato seja convertido em produto, suas moléculas, como as de enzima, precisam colidir por difusão randômica e se combinarem segundo uma orientação correta.

Difusão e colisão possuem constantes de velocidades teóricas limitantes em torno de  $10^9 M^{-1}s^{-1}$

Várias enzimas (acetilcolina esterase, anidrase carbônica, catalase, entre outras) possuem  $k_{esp}$  próximos deste valor indicando elevada eficiência catalítica

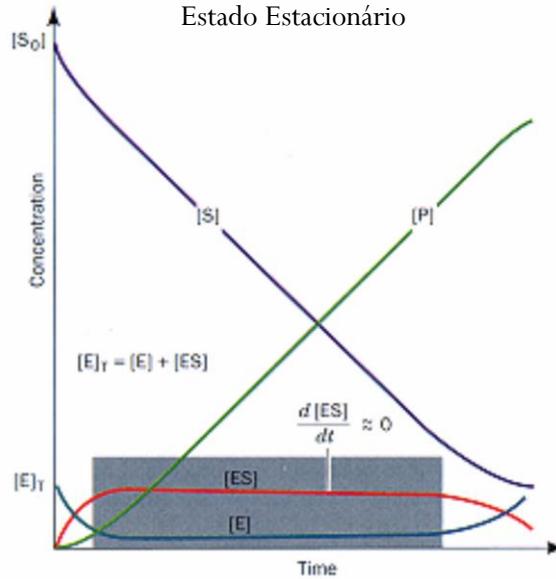
Como a Constante de Especificidade é uma razão entre duas outras constantes, enzimas com  $k_{esp}$  similares podem ter valores diferentes de  $K_m$

A catalase tem  $k_{esp} = 4,0 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$  e  $K_m = 1,1 M$  (↑). Já a fumerase apresenta  $k_{esp} = 3,6 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$ , semelhante ao de sua homóloga, mas tem  $K_m = 2,5 \times 10^{-5} M$  (↓)

---

4

Curvas cinéticas para componentes da reação enzimática  
Estado Estacionário



6

Estado Estacionário e cinética de Briggs & Haldane

Comparemos agora as constantes  $K_S$  (que corresponde ao equilíbrio de EE1 do mecanismo) com  $K_m$ . Ambos tem significados físicos diferentes:

$$K_S = \frac{[E] \cdot [S]}{[ES]} = \frac{k_{-1}}{k_1} \qquad K_m = \frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1}$$

A Constante de Michaelis,  $K_m$ , é uma constante dinâmica ou de pseudo-equilíbrio, que expressa a relação entre concentrações reais no estado estacionário. Ou seja, ela não se restringe a verificar concentrações no equilíbrio

Por outro lado, se acaso  $k_2 \lll k_{-1}$ , ou seja, para situações (ou circunstâncias) em que a EE2 é, de fato, muito lenta em comparação à EE1 (por exemplo em virtude de falta de afinidade entre enzima e substrato, ou da presença de um inibidor), então  $K_m \rightarrow K_S$  situação que define a chamada aproximação cinética de Briggs-Haldane

Observação: em geral, e até, de maneira esperada e desejável,  $k_2 > k_{-1}$

7

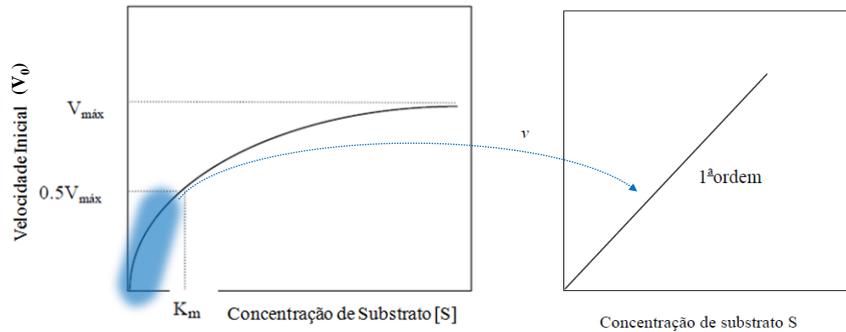
---

## Ordem de Reação

A curva de  $V_0 = f([S])$  apresenta três regiões distintas para as quais  $V_0$  tem respostas características à medida que  $[S]$  aumenta

Região 1: concentrações muito baixas de substrato:  $[S] < 0.01K_M$

Curva é praticamente linear: Cinética de 1ª. Ordem



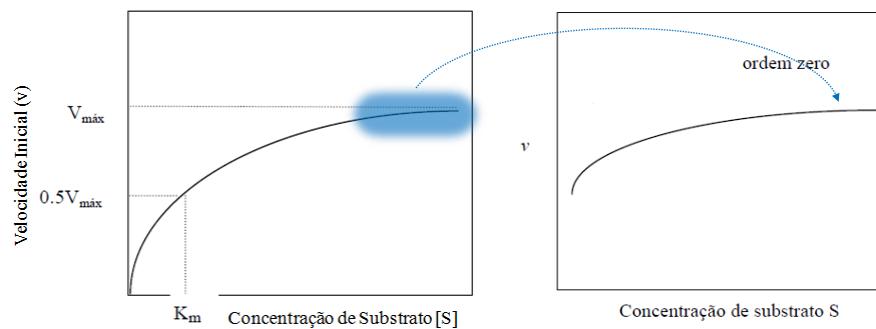
8

---

## Ordem de Reação

Região 2: concentrações elevadas de substrato:  $[S] > 100 \cdot K_M$

Velocidade é praticamente independente  $[S]$ : Cinética de Ordem Zero



Para as concentrações intermediárias de substrato (= Região 3), a relação  $V_0 = f([S])$  não segue cinéticas nem de 1ª. Ordem, e nem de Ordem Zero. Em tal situação a ordem será determinada em termos experimentais.

9

## Cinética de 1ª. Ordem

A relação linear entre  $V_0 = f([S])$ , quando  $[S] \ll K_m$  pode também ser deduzida a partir da equação de Michaelis-Menten:

$$V_0 = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]} \quad \text{Quando } [S] \ll K_m \rightarrow V_0 = \frac{V_{\max}}{K_m} \cdot [S] \quad \text{ou} \quad V_0 = k \cdot [S]$$

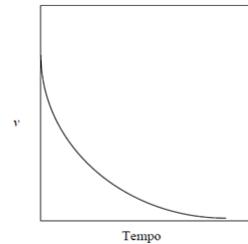
$k$  = constante de velocidade de primeira ordem para a equação total.

$$k = V_{\max}/K_m = \text{moles x litro}^{-1} \text{ x min}^{-1} / \text{moles x litro}^{-1} = \text{min}^{-1} \text{ (Típico de 1ª. Ordem)}$$

A equação indica que se  $[S] \downarrow \downarrow \downarrow$  a velocidade absoluta diminui. Porém, em certo momento, uma fração constante de substrato presente se transforma em produto:

$$\frac{-d[S]}{dt} = v = k[S] \Rightarrow k = \frac{-d[S]/[S]}{dt}$$

$-d[S]/dt = v$  = quantidade de  $[S]$  consumida por pequeno período  
 $k$  = fração constante de substrato presente em qualquer momento



10

## Cinética de 1ª. Ordem

Algebricamente,

$$v = \frac{-d[S]}{dt} = k[S] \quad \text{ou} \quad \frac{-d[S]}{[S]} = k dt$$

$$\int_{[S]_0}^{[S]} \frac{-d[S]}{[S]} = k \int_{t_0}^t dt \Rightarrow \ln \frac{[S]}{[S]_0} = k(t - t_0) \quad \text{ou} \quad 2.3 \log \frac{[S]}{[S]_0} = k(t - t_0)$$

A equação pode ser transformada em:  $\log[S] = \frac{-k}{2.3} t + \log[S]_0$

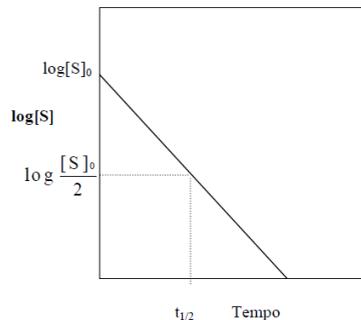
Então, um gráfico de  $\log[S] = f(t)$  é linear, com

Coefficiente Angular:  $-k/2.3$  e Coeficiente Linear  $\log[S]_0$

Quando:  $[S] = \frac{1}{2} [S]_0 \rightarrow t = t_{1/2}$

O  $t_{1/2}$  é constante para reações de 1ª. Ordem e está relacionado a  $k$  por:

$$\frac{0.693}{k} = t_{1/2}$$



12

---

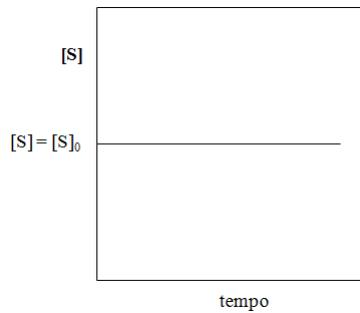
## Cinética de Ordem Zero

Para as situações em que  $[S] \gg K_m$ , o valor  $K_m$  que consta do denominador da equação MM pode ser ignorado. Isso leva a uma simplificação do tipo

$$v = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]} \xrightarrow{[S] \gg K_m} \frac{V_{\max}[S]}{[S]}$$

E assim,

$$v = V_{\max}$$



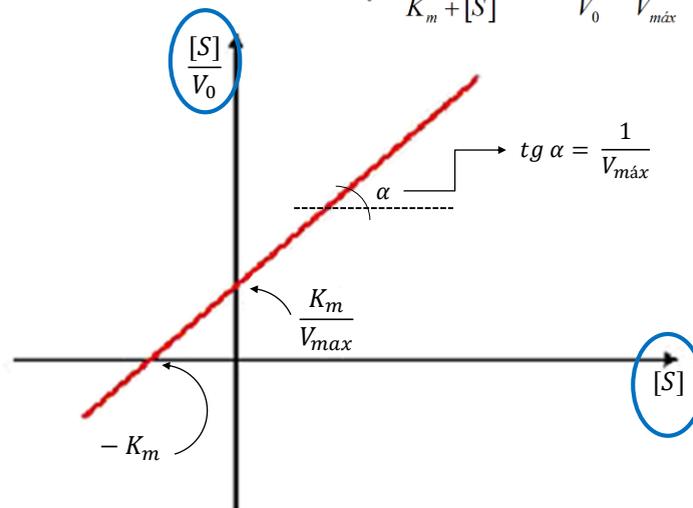
---

13

---

## Método de Hanes

$$V_0 = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_m + [S]} \rightarrow \frac{[S]}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max}} + \frac{1}{V_{\max}}[S]$$

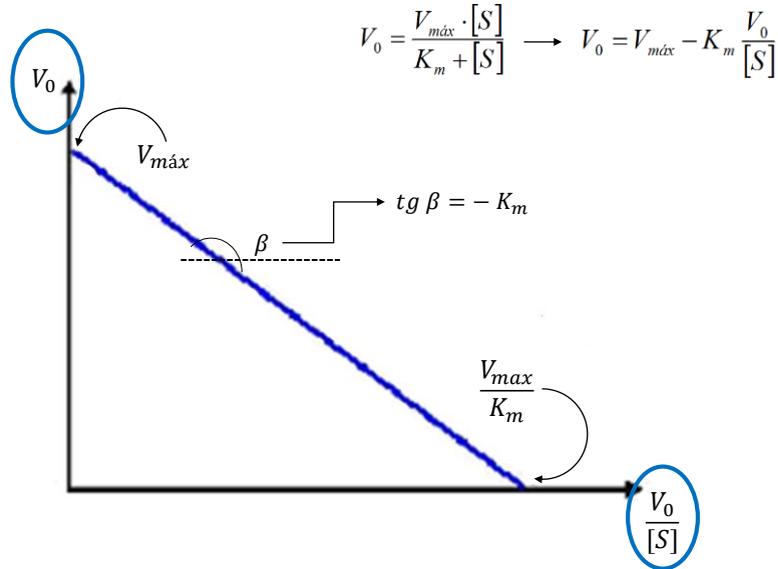


---

14

---

### Método de Eadie-Scatchard



15

---

### Cinéticas do tipo Michaelis-Menten

Problema:

A enzima Z tem perfil Michaeliano e apresenta, por parâmetros cinéticos, os seguintes valores:

$$k_1 = 2,5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$k_{-1} = 1,0 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$$

$$k_2 = 2,0 \times 10^2 \text{ s}^{-1}$$

Para tal situação pede-se:

- Determinar o valor de  $K_m$ ;
- Determinar o valor de  $K_s$  para a referida cinética enzimática;
- Em sua opinião é possível admitir que existe manutenção um estado de pré-equilíbrio entre Z, S, e o complexo ZS? Justifique sua resposta.

---

16

---

## Parâmetros Cinético

Problema:

A relação de variação entre velocidade de reação ( $V_0$ ) e concentração de substrato [S] de um processo enzimático aparece indicada por meio dos dados da Tabela 1.

| [S] (g/L) | $V_0$ (g/L.h) |
|-----------|---------------|
| 0,25      | 0,78          |
| 0,51      | 1,25          |
| 1,03      | 1,66          |
| 2,52      | 2,19          |
| 4,33      | 2,35          |
| 7,25      | 2,57          |

Para tais condições, determine os valores de ( $K_M$ ) e ( $V_{max}$ ) a partir dos métodos de linearização propostos por:

- Lineweaver-Burk
- Hanes

Discuta os resultados obtidos a partir de ambas abordagens

---