

**SCIENZA**  
**DEI MATERIALI**

Chimica Fisica



**Analisi Cinetica  
Empirica**

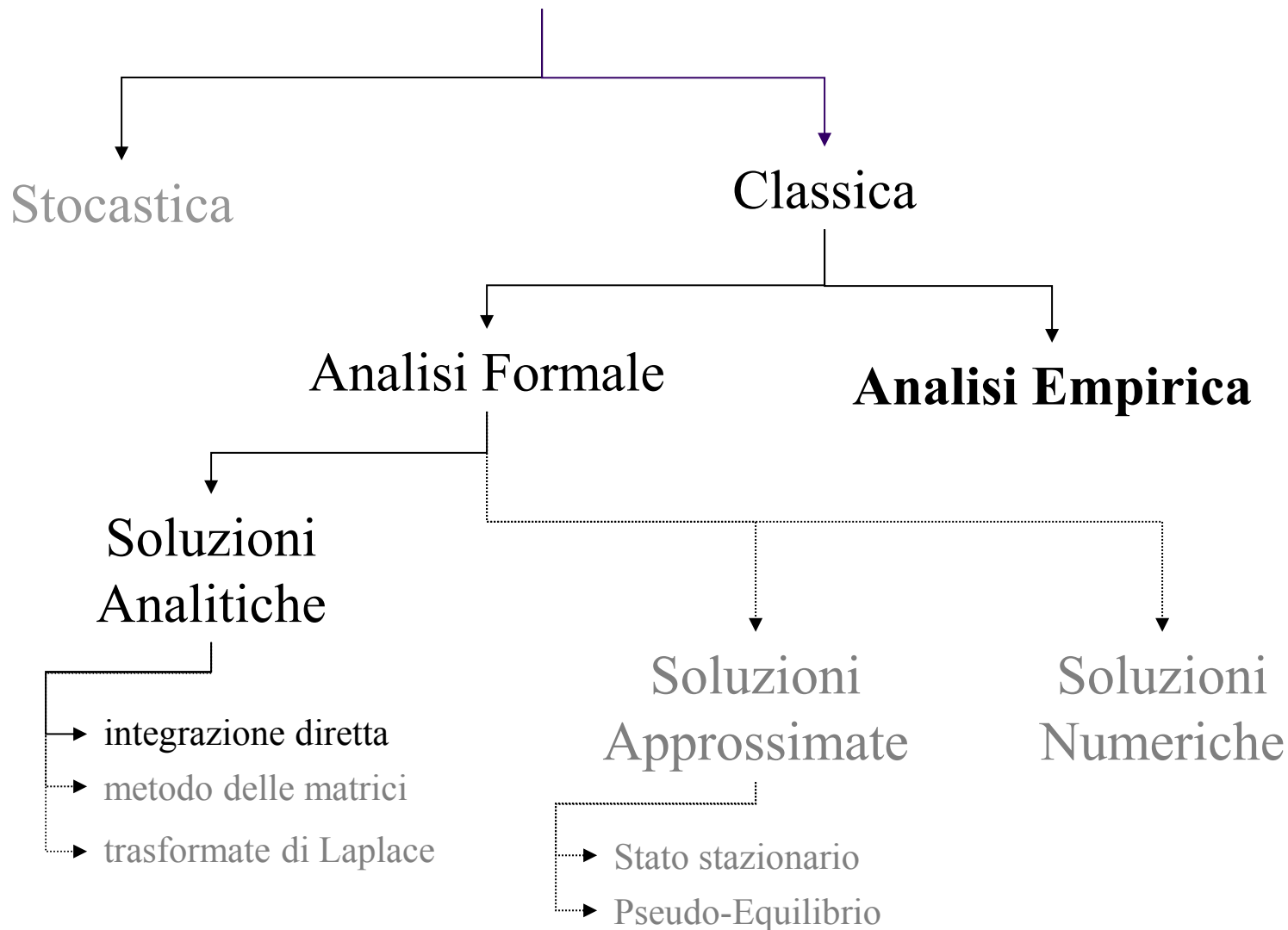
**Dr. Fabio Mavelli**

Dipartimento di Chimica  
Università degli Studi di Bari





# Cinetica Fenomenologica



# Analisi Cinetica Empirica



Attraverso l'analisi delle osservabili sperimentali dipendenti dal tempo si ricava:

- L'**equazione cinetica** ossia l'espressione empirica della velocità di reazione
- I valori delle **costanti cinetiche fenomenologiche**



Si determina un **meccanismo di reazione** compatibile con l'equazione cinetica e l'equazione chimica



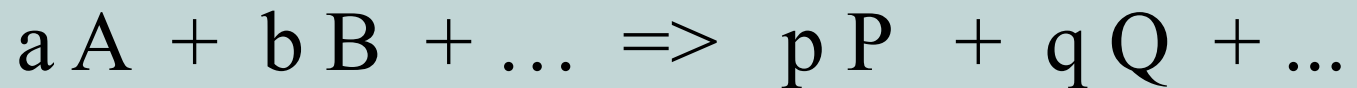
Pre-requisiti indispensabili per una corretta analisi empirica sono:

- esatta conoscenza della stechiometria di reazione
- esistenza di proprietà macroscopiche del sistema in studio facilmente misurabili che varino con il procedere della reazione: osservabili.
- riproducibilità degli esperimenti

# Velocità di Reazione



Data una corretta equazione stechiometrica:



è importante verificare se sia valida la relazione di uguaglianza per la velocità di reazione definita come formazione dei prodotti o scomparsa dei reagenti:

$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{d[B]}{dt} = \dots = +\frac{1}{p} \frac{d[P]}{dt} = +\frac{1}{q} \frac{d[Q]}{dt} = \dots$$



se l'uguaglianza precedente resta verificata, allora si può concludere che:

**Si**

o la reazione è elementare (monostadio)

o tutti gli intermedi che si formano durante la reazione sono specie molto instabili che reagiscono rapidamente e la cui concentrazione resta comunque molto bassa.

se l'uguaglianza precedente non è verificata, allora si può concludere che:

**No**

la reazione non è elementare ed avviene in più stadi e le eventuali specie intermedie hanno concentrazioni paragonabili a quelle delle altre specie.

in quest'ultimo caso può essere possibile semplificare il processo globale in processi più semplici per i quali restino verificate le uguaglianze delle velocità.



L'analisi empirica consiste quindi nell'acquisizione di più serie di dati (osservabili/tempo) ottenute variando opportunamente le condizioni iniziali del sistema in studio, per ricavare l'espressione esplicita della velocità di reazione come funzione delle specie presenti nel sistema e delle costanti cinetiche fenomenologiche.

$$r = f([Reagenti], [Prodotti], [Intermedi], [Catalizzatori])$$

il numero di serie di dati da raccogliere dipenderà dal numero di specie chimiche da cui si presume possa dipendere l'espressione della velocità cercata.

# Espressione della Velocità



La funzione  $f$  può avere un'espressione molto complessa, ma in molti casi, in analogia con le reazioni elementari, ha la forma di una produttoria di potenze delle concentrazioni delle specie chimiche:

$$r = k \prod_i [X_i]^{n_i}$$

in questo caso ciò che deve essere stimato è il valore del coefficiente  $n_i$  a cui è elevata la concentrazione della specie  $X_i$ .

$n_i$  può assumere valori positivi o negativi, interi ed anche frazionari.



# Ordine di reazione



I metodi che permettono di determinare gli ordini di reazione  $n_i$  a partire da misure della velocità di reazione nell'ipotesi che questa abbia un'espressione tipo produttoria di potenze sono:

$$r = k \prod_i [X_i]^{n_i}$$

Metodo Integrazione diretta  
Metodo differenziale  
Metodo Tempi di frazionamento

**Dipendenza da un'unica specie**

$$r = k [X_i]^{n_i}$$

Condizioni iniziali stechiometriche  
Isolamento  
Velocità Iniziali

**Dipendenza da più specie**

$$r = k \prod_i [X_i]^{n_i}$$



# Metodo Integrazione Diretta

# Metodo Integrazione diretta



Sia data una generica reazione non elementare per la quale la velocità di reazione possa essere definita come velocità di scomparsa della specie A e sia espressa come il prodotto della concentrazione di A elevata ad  $\alpha$  per la costante cinetica:

$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = k[A]^\alpha$$

l'integrazione dell'equazione differenziale precedente permette di ricavare l'andamento della specie A in funzione del tempo per una reazione di ordine  $\alpha$  qualsiasi:

$$\frac{d[A]}{[A]^\alpha} = -a \cdot k \cdot dt \quad \Rightarrow \quad \frac{1}{\alpha - 1} \left( \frac{1}{[A]^{\alpha-1}} - \frac{1}{[A]_0^{\alpha-1}} \right) = a \cdot k \cdot t$$

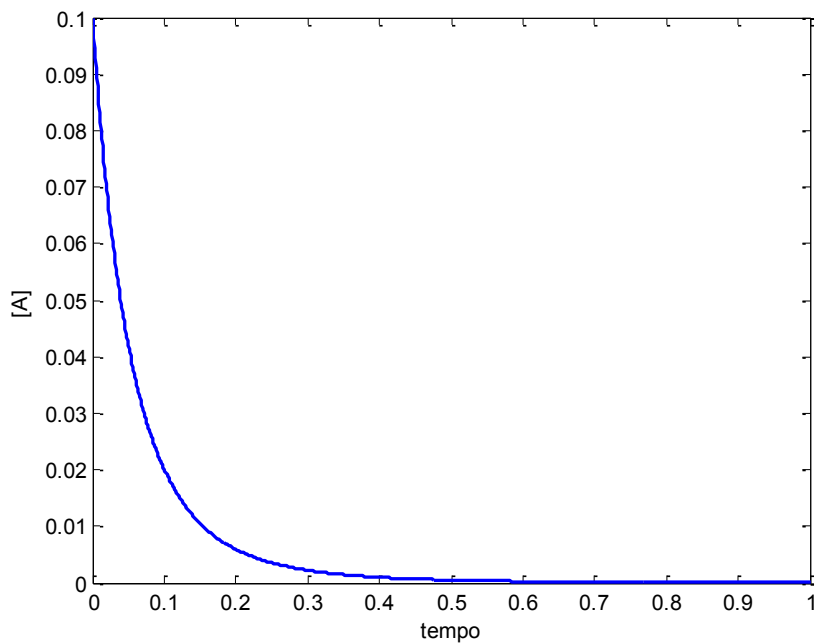
# Metodo Integrazione diretta



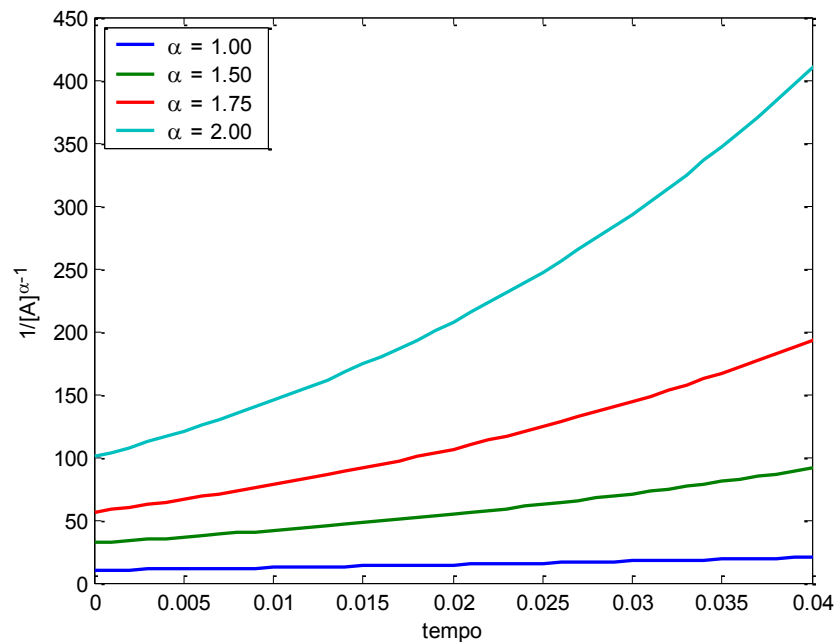
L'equazione precedente può essere riscritta:

$$\left( \frac{1}{[A]^{\alpha-1}} \right) = (\alpha - 1)a \cdot k \cdot t + \frac{1}{[A]_0^{\alpha-1}}$$

Il metodo dell'integrazione diretta consiste quindi nel riportare in grafico contro il tempo l'inverso della concentrazione della specie A, determinata sperimentalmente, elevata ad un coefficiente  $\alpha$  tale che il grafico sia lineare.



il coefficiente  $\alpha$   
cercato ha un  
valore compreso  
fra 1 e 1.5





---

# Metodo Differenziale

# Metodo Differenziale



Per una reazione che abbia la seguente equazione cinetica:

$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = k[A]^\alpha$$

il Metodo differenziale consiste nel riportare in grafico il logaritmo del valore della velocità di reazione contro il logaritmo concentrazione della specie A:

$$\log(r) = \log(k) + \alpha \cdot \log([A])$$

si ottengono così il valore di  $k$  dal valore dell'intercetta e quello di  $\alpha$  dal valore della tangente.

# Metodo Differenziale

---



Le coppie di valori: velocità  $r$ , concentrazione  $[A]$ , possono essere ricavati dai dati sperimentali in due modi diversi:

approssimando il valore della derivata a quello del rapporto incrementale

interpolando i dati sperimentali con una funzione opportuna e ricavando i valori della derivata per ogni punto.

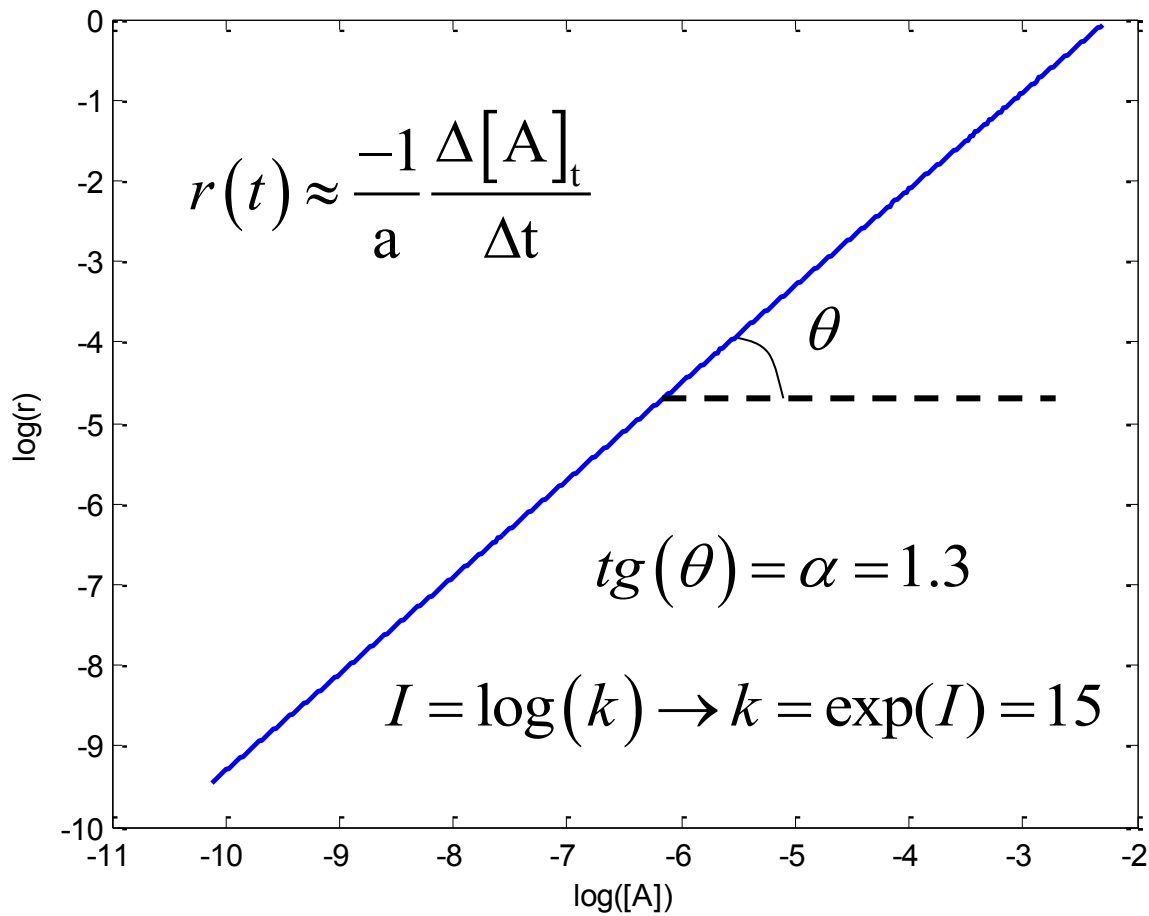


# Metodo Differenziale



Approssimazione della derivata a quello del rapporto incrementale:

Tempo	[A]	r	[A]
$t_0$	$[A]_0$	$\frac{-1}{a} \left( \frac{[A]_1 - [A]_0}{t_1 - t_0} \right)$	$\left( \frac{[A]_1 - [A]_0}{2} \right) + [A]_0$
$t_1$	$[A]_1$	$\frac{-1}{a} \left( \frac{[A]_2 - [A]_1}{t_2 - t_1} \right)$	$\left( \frac{[A]_2 - [A]_1}{2} \right) + [A]_1$
$t_2$	$[A]_2$	$\frac{-1}{a} \left( \frac{[A]_3 - [A]_2}{t_3 - t_2} \right)$	$\left( \frac{[A]_3 - [A]_2}{2} \right) + [A]_2$
:	:		
$t_n$	$[A]_n$	$\frac{-1}{a} \left( \frac{[A]_{n+1} - [A]_n}{t_{n+1} - t_n} \right)$	$\left( \frac{[A]_{n+1} - [A]_n}{2} \right) + [A]_n$





# Metodo Tempi di Dimezzamento

# Tempo di Dimezzamento



Si definisce tempo di dimezzamento  $t_{1/2}$  della specie A l'intervallo di tempo dopo il quale la concentrazione della specie A risulti ridotta a metà di quella iniziale:

$$t_{1/2} \rightarrow [A] = \frac{[A]_0}{2}$$

Nel caso di una generica reazione di ordine  $n=\alpha$  rispetto ad un'unica specie si può ricavare facilmente l'espressione del tempo di dimezzamento sostituendo  $[A]=[A]_0/2$  nell'espressione ottenuta per integrazione diretta

$$\left( \frac{1}{[A]^{\alpha-1}} \right) = (\alpha-1)akt + \frac{1}{[A]_0^{\alpha-1}} \quad \Rightarrow \quad t_{1/2} = \frac{1}{(\alpha-1)ak} \left[ \left( \frac{2}{[A]_0} \right)^{\alpha-1} - \frac{1}{[A]_0^{\alpha-1}} \right]$$

# Tempo di Dimezzamento



da cui si ottiene:

$$t_{1/2} = \frac{2^{\alpha-1} - 1}{(\alpha - 1) \cdot a \cdot k \cdot [A]_0^{\alpha-1}}$$

Va detto che per reazioni del prim'ordine il tempo di dimezzamento non può essere ricavato dalla formula precedente, ma deve essere ottenuto dalla funzione che dà l'andamento della concentrazione in dipendenza dal tempo per quel caso specifico:

$$[A] = [A]_0 \exp(-a \cdot k \cdot t) \quad \Rightarrow \quad t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{a \cdot k}$$

# Tempo di Dimezzamento



Si noti come per una reazione del prim'ordine il tempo di dimezzamento sia indipendente dai valori di concentrazione mentre per una reazione di ordine due risulti inversamente proporzionale alla concentrazione:

$$\alpha = 1 \quad t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{a \cdot k}$$

$$\alpha = 2 \quad t_{1/2} = \frac{1}{a \cdot k \cdot [A]}$$

in generale, per  $\alpha > 0$ , risulta:  $t_{1/2} \propto [A]^{1-\alpha}$

# Tempo di Dimezzamento



Per semplici reazioni in cui la velocità dipenda dai valori di concentrazione di un'unica specie:

$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = k[A]^\alpha$$

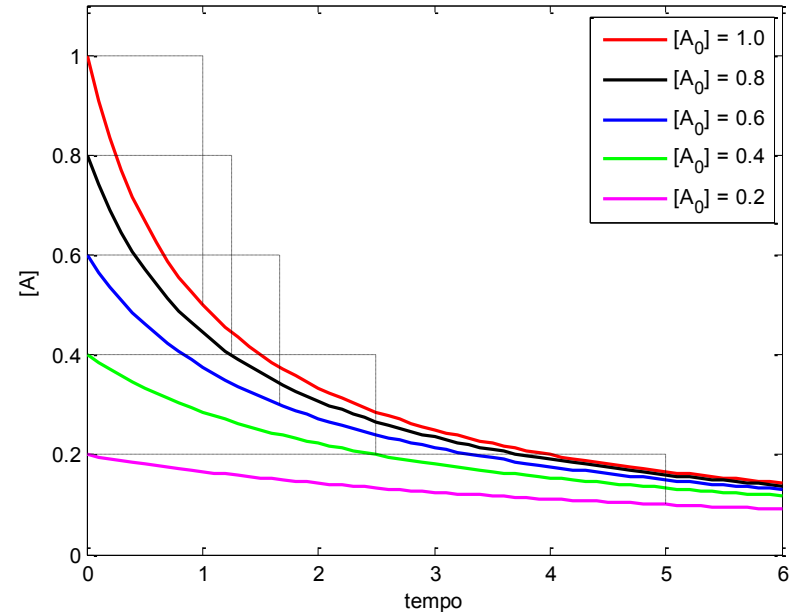
è quindi possibile ricavare l'ordine di reazione relativo alla specie A effettuando misure dei tempi di dimezzamento e riportando in grafico i valori del logaritmo della concentrazione e del tempo:

$$\log\left(t_{1/2}\right) = (1 - \alpha)\log([A]) + \text{Costante}$$

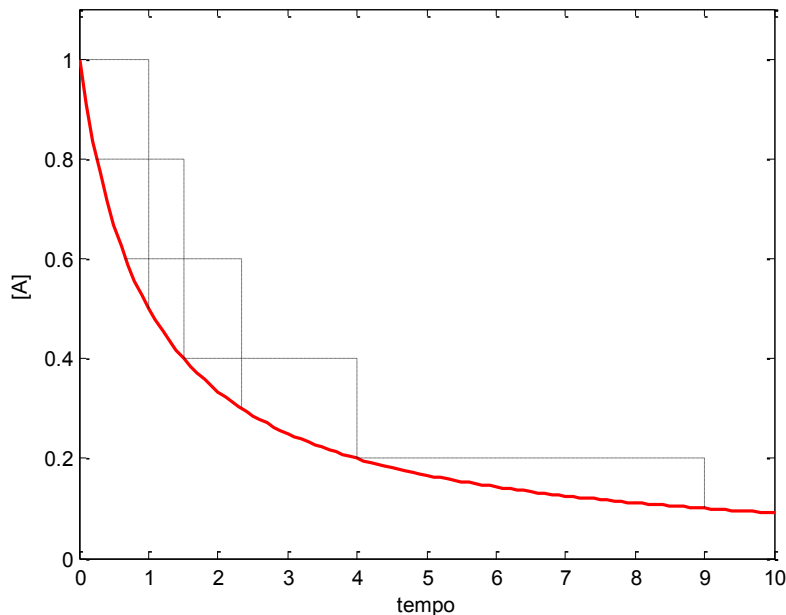
# Tempo di Dimezzamento



I valori dei tempi di dimezzamento possono essere ricavati o effettuando esperimenti in cui si parta da valori di concentrazione iniziali diversi e registrando gli intervalli di tempo dopo i quali si sia dimezzata la concentrazione della specie,



o realizzando un unico esperimento e determinando per valori di concentrazione a tempi diversi dopo quanto tempo si dimezzano







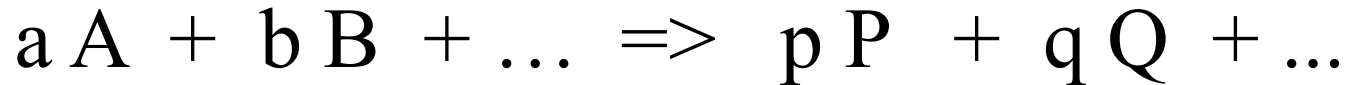
---

# Condizioni iniziali stechiometriche

# Condizioni iniziali stechiometriche



Data un'equazione stechiometrica:



se è verificata l'equazione delle velocità di reazione:

$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{d[B]}{dt} = \dots = +\frac{1}{p} \frac{d[P]}{dt} = +\frac{1}{q} \frac{d[Q]}{dt} = \dots = k[A]^\alpha [B]^\beta \dots$$

allora integrando tutti i membri si ottiene:

$$-\frac{\Delta[A]}{a} = -\frac{\Delta[B]}{b} = \dots = \frac{\Delta[P]}{p} = \frac{\Delta[Q]}{q} = \dots$$



ma se le concentrazioni iniziali sono negli opportuni rapporti stechiometrici:

$$\frac{[A]_0}{a} = \frac{[B]_0}{b} = \dots$$

allora durante tutto il corso della reazione resterà verificata l'equazione:

$$\frac{[A]}{a} = \frac{[B]}{b} = \frac{[C]}{c} = \dots \quad \Rightarrow \quad [B] = \frac{b}{a}[A], \quad [C] = \frac{c}{a}[A], \dots$$

per cui l'espressione cinetica potrà essere espressa:

$$r = k[A]^\alpha [B]^\beta [C]^\gamma \dots = k[A]^\alpha \left( \frac{b[A]}{a} \right)^\beta \left( \frac{c[A]}{a} \right)^\gamma = k \left( \frac{b^\beta \cdot c^\gamma \cdot \dots}{a^{\beta+\gamma+\dots}} \right) [A]^{\alpha+\beta+\gamma+\dots}$$

# Determinazione ordine di reazione n



Introducendo l'ordine di reazione complessivo:  $n = \alpha + \beta + \gamma + \dots$

l'espressione precedente diventa:

$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = k \left( \frac{b^\beta \cdot c^\gamma \cdot \dots}{a^{\beta+\gamma+\dots}} \right) [A]^n$$

che permette di ottenere il valore di n con il metodo del tempo di dimezzamento:

$$\log\left(t_{1/2}\right) = (1 - n) \log([A]) + \text{Costante}$$

o con il metodo differenziale:

$$\log(r) = n \log([A]) + \text{Costante}$$



# Metodo dell'Isolamento

# Metodo dell'Isolamento



Viene utilizzato quando la velocità di reazione non dipende da un'unica specie:

$$r = k[A]^\alpha [B]^\beta [C]^\gamma \dots$$

Consiste nel far avvenire la reazione utilizzando concentrazioni iniziali di tutte le specie in largo eccesso tranne una, ad esempio la specie A:

$$[B]_E, [C]_E, \dots \gg [A]_0$$

in modo che le concentrazioni delle specie in eccesso rimangano praticamente costanti rispetto ad  $[A]$  durante il decorso della reazione, per cui l'espressione della velocità può essere riscritta come:

$$r \approx k \cdot ([B]_E^\beta \cdot [C]_E^\gamma \dots) \cdot [A]^\alpha \approx k' [A]^\alpha$$

# Metodo Isolamento



La Reazione può quindi essere trattata come una reazione la cui velocità dipende da un'unica specie e si può impiegare uno dei metodi visti in precedenza per ricavare l'ordine di reazione  $\alpha$  rispetto alla specie A ed il valore della pseudo costante cinetica  $k'$ .

Ripetendo lo stesso procedimento, variando di volta in volta le specie in eccesso si possono ricavare anche  $\beta$  e  $\gamma$ , oltre alle altre pseudo costanti cinetiche:

$$k' = k \cdot [B]_E^\beta \cdot [C]_E^\gamma \quad k'' = k \cdot [A]_E^\alpha \cdot [C]_E^\gamma \quad k''' = k \cdot [A]_E^\alpha \cdot [B]_E^\beta$$

la costante cinetica  $k$  potrà quindi essere ricavata come valore medio dalle equazioni precedenti conoscendo i valori di  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  e  $[A]_E$ ,  $[B]_E$  e  $[C]_E$ .



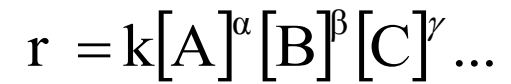
# Metodo Velocità Iniziali



# Metodo Velocità Iniziali



Anche questo metodo può essere impiegato quando la velocità di reazione non dipende da un'unica specie:



Consiste nel determinare i valori delle velocità iniziali del processo per valori diversi delle concentrazioni iniziali dei reagenti e di riportare i valori di  $r$  così ottenuti come funzione delle concentrazioni iniziali in forma logaritmica:

$$\log(r_0) = \log(k) + \alpha \cdot \log[A]_0 + \beta \cdot \log[B]_0 + \gamma \cdot \log[C]_0 \dots$$

l'analisi multivariata permette di ottenere direttamente i valori di  $\alpha$ ,  $\beta$ , e  $\gamma$ , ed il valore di  $k$ .

# Metodo Velocità Iniziali



Oppure si può procedere variando la concentrazione iniziale di una singola specie per volta. Si ottiene così il valore dell'ordine rispetto a quella specie come la tangente al grafico e il valore del logaritmo della pseudo costante cinetica come intercetta

$$\log(r_0) = \log(k') + \alpha \cdot \log[A]_0$$

$$k' = k[\tilde{B}]_0^\beta [\tilde{C}]_0^\gamma$$

$$\log(r_0) = \log(k'') + \beta \cdot \log[B]_0$$

$$k'' = k[\tilde{A}]_0^\alpha [\tilde{C}]_0^\gamma$$

$$\log(r_0) = \log(k''') + \gamma \cdot \log[C]_0$$

$$k''' = k[\tilde{A}]_0^\alpha [\tilde{B}]_0^\beta$$

una volta determinati  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , si ottiene il valore di  $k$  come valore medio dai valori delle pseudo costanti cinetiche.



# CATALISI



Molte reazioni chimiche, di interesse industriale, sebbene siano reazioni termodinamicamente favorite spesso non avvengono perché da un punto di vista cinetico sono molto lente.

Si consideri come esempio la reazione di produzione dell'anidride solforica ( $\text{SO}_3$ ) a partire dall'anidride solforosa ( $\text{SO}_2$ ) in fase gassosa:



tale reazione è di rilevante importanza industriale perché rappresenta uno stadio della produzione di Acido Solforico.

# Catalisi



Se si calcola il  $\Delta G^\ominus$  della reazione a partire dalle energie di libere di formazione standard di reagenti e prodotti si trova che:

	$\Delta_f G^\ominus$ (kJ/mole)
$\text{SO}_2$	-297
$\text{O}_2$	0
$\text{SO}_3$	-396

$$\Delta G^\ominus = 2 \cdot (-396) - (0) - 2 \cdot (-297) = -198 \text{ kJ/mole}$$

ossia se la reazione avvenisse in condizioni standard sarebbe spontanea e tutta spostata verso i prodotti.

In realtà quello che si osserva è che l'ossigeno e l'anidride solforosa sono stabili a temperatura ambiente.



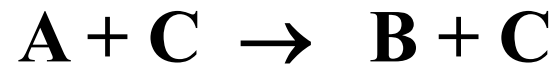
Da un punto di vista industriale tale reazione è fatta avvenire in presenza di specie chimiche (monossido di azoto  $\text{NO}$  o pentossido di vanadio  $\text{V}_2\text{O}_5$ ) che rendono possibile il processo in tempi ragionevoli ed a temperature non troppo elevate.

In generale, le sostanze che hanno l'effetto di accelerare un processo chimico prendono il nome di catalizzatori

# Catalizzatore



Si definisce catalizzatore una specie chimica in grado di accelerare il decorso di una reazione senza essere consumata nella reazione stessa:



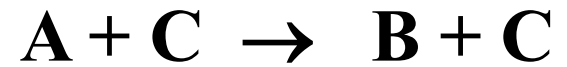
$$r_C = k_C [A] \cdot [C]$$

l'equazione stechiometrica precedente descrive un'ipotetica reazione elementare di trasformazione della specie A nella specie B catalizzata dalla specie C. Si noti come la specie C compaia contemporaneamente fra i prodotti ed i reagenti della reazione e la sua concentrazione appaia nell'espressione della velocità.

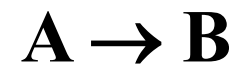


Nonostante il fatto che, durante la trasformazione di A in B, non vari in maniera netta la concentrazione di C, quest'ultima ha però un effetto positivo sulla velocità del processo, infatti aumentando il valore di [C] aumenta la velocità  $r_C$ .

Va sottolineato come il concetto di catalisi sia un concetto relativo, ossia C catalizza la reazione di trasformazione di A in B se accelera tale processo rispetto a quello in assenza del catalizzatore stesso, ossia se risulta:



$$r_C = k_C [A] \cdot [C]$$



$$r = k [A]$$

$$r_C \gg r$$

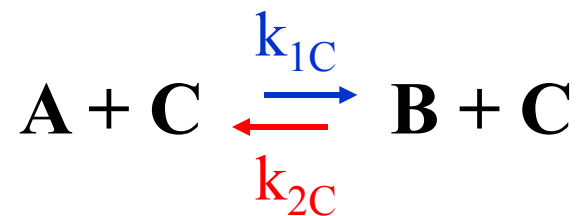


# Catalisi ed Equilibrio



La presenza del Catalizzatore non influenza la concentrazione all'equilibrio fra le specie coinvolte nella reazione, ma solo la velocità con cui questo si instaura.

Consideriamo una generica reazione di trasformazione della specie A nella specie B che sia catalizzata dalla specie C e reversibile:



si avrà:  $\left\{ \begin{array}{ll} r_{1C} = k_{1C} \cdot [\text{A}] \cdot [\text{C}] & \text{velocità reazione diretta} \\ r_{2C} = k_{2C} \cdot [\text{B}] \cdot [\text{C}] & \text{velocità reazione inversa} \end{array} \right.$

# Catalisi ed Equilibrio



Si noti come il Catalizzatore influenzi la velocità sia della reazione diretta che di quella inversa.

All'equilibrio, quindi, perché le concentrazioni si mantengano costanti le velocità nelle reazioni diretta ed inversa devono uguagliarsi sia per la reazione catalizzata:

$$r_{1C} = r_{2C} \quad \rightarrow \quad k_{1C} \cdot [A]_{eq} \cdot [C] = k_{2C} \cdot [B]_{eq} \cdot [C]$$

che per quella non catalizzata:

$$r_1 = r_2 \quad \rightarrow \quad k_1 \cdot [A]_{eq} = k_2 \cdot [B]_{eq}$$

Ora, poiché le concentrazioni di equilibrio sono le stesse risulta che:

# Catalisi ed Equilibrio

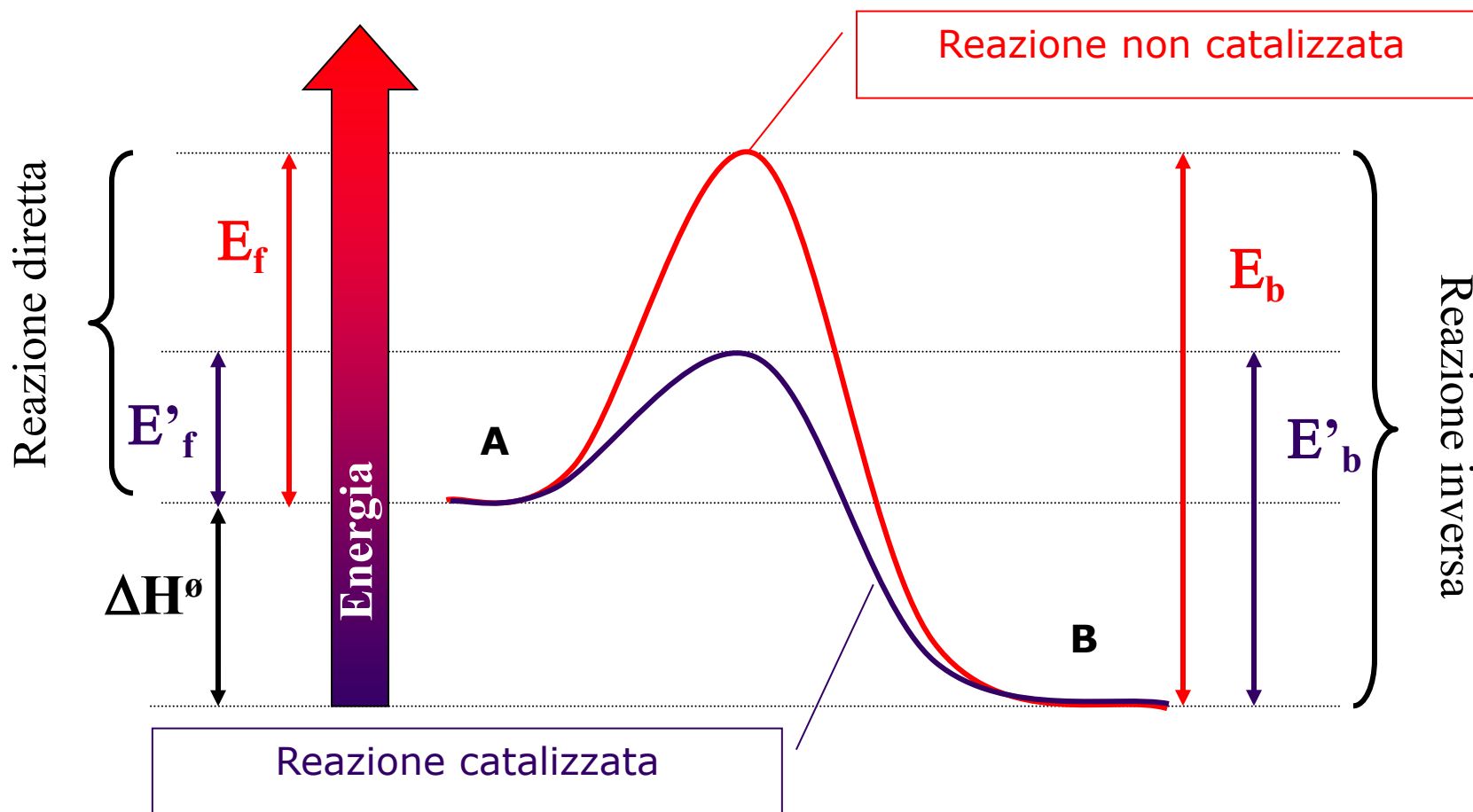


$$K_{\text{eq}} = \frac{k_1}{k_2} = \frac{k_{1c}}{k_{2c}} = \frac{[B]_{\text{eq}}}{[A]_{\text{eq}}}$$

ossia le costanti cinetiche in presenza del catalizzatore devono aumentare mantenendo però costante il loro rapporto, per cui la costante di equilibrio resta invariata.

Quanto detto viene ben spiegato dal diagramma energetico che riporta l'energia in gioco durante il processo contro la coordinata di reazione.

La reazione in presenza del catalizzatore C avviene quindi secondo un meccanismo che è energeticamente più favorito rispetto alla trasformazione spontanea  $A \rightarrow B$ .



# Catalisi ed Equilibrio



Un catalizzatore influenza solo l'energia di attivazione del processo e non ha alcun effetto sul contenuto energetico di reagenti e prodotti

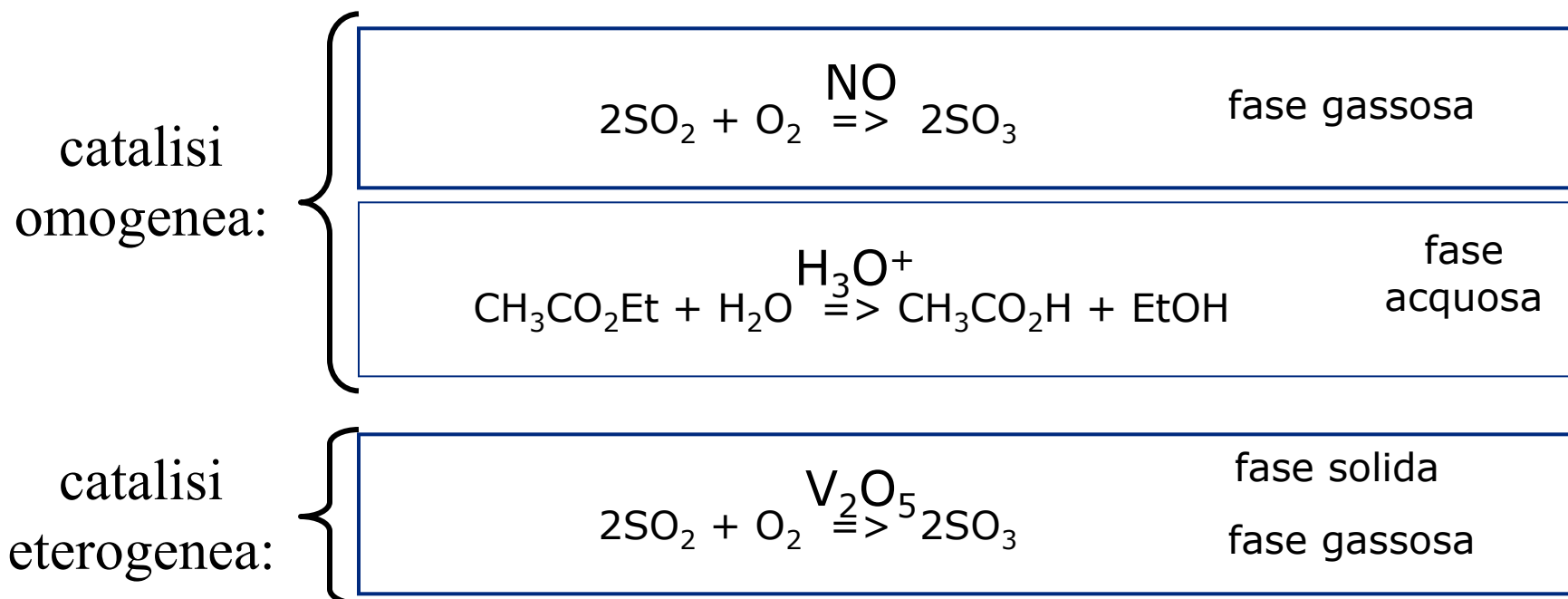
Infatti il catalizzatore riduce l'energia di attivazione della reazione diretta esattamente come l'energia di attivazione di quella inversa, lasciando così invariata la loro differenza che rappresenta l'entalpia netta della reazione.

$$\Delta H^{\circ} = E_f - E_b = E'_f - E'_b$$

# Catalisi omogenea ed eterogenea



A seconda che il catalizzatore si trovi nella stessa fase dei prodotti e dei reagenti la catalisi viene classificata come omogenea o eterogenea.



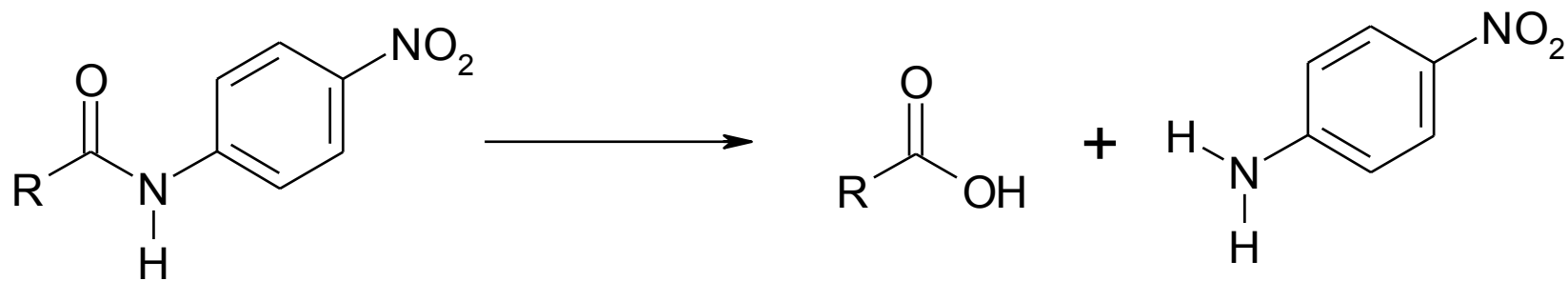
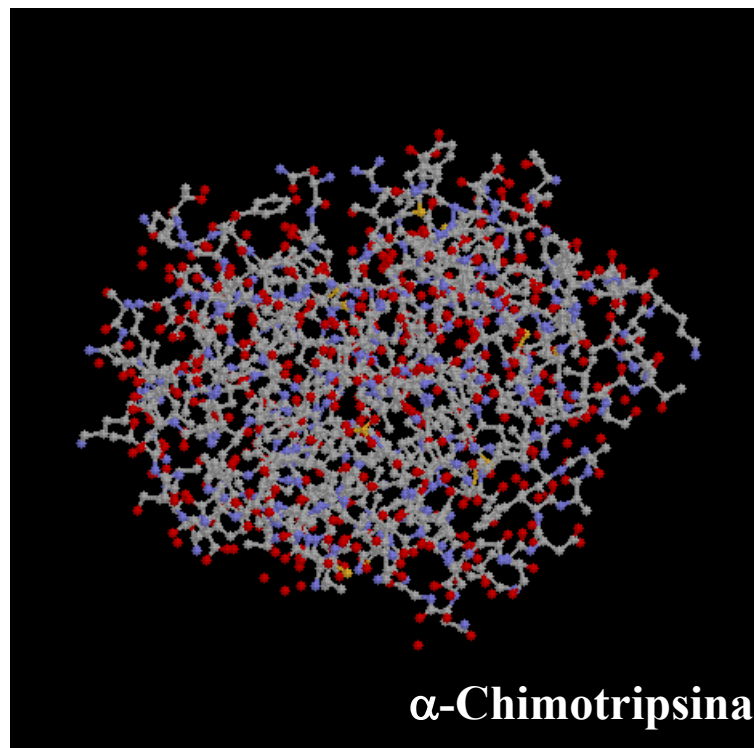
# Catalisi Enzimatica

---



Gli Enzimi sono molecole proteiche che attraverso processi di evoluzione chimica sono diventate altamente specializzate ed efficienti nel catalizzare processi biochimici in organismi viventi.

La biochimica di questa classe di composti è molto complessa e approfondita ed è ovviamente al di fuori degli scopi di questa trattazione, che invece tocca soli gli aspetti riguardanti la cinetica di questi sistemi

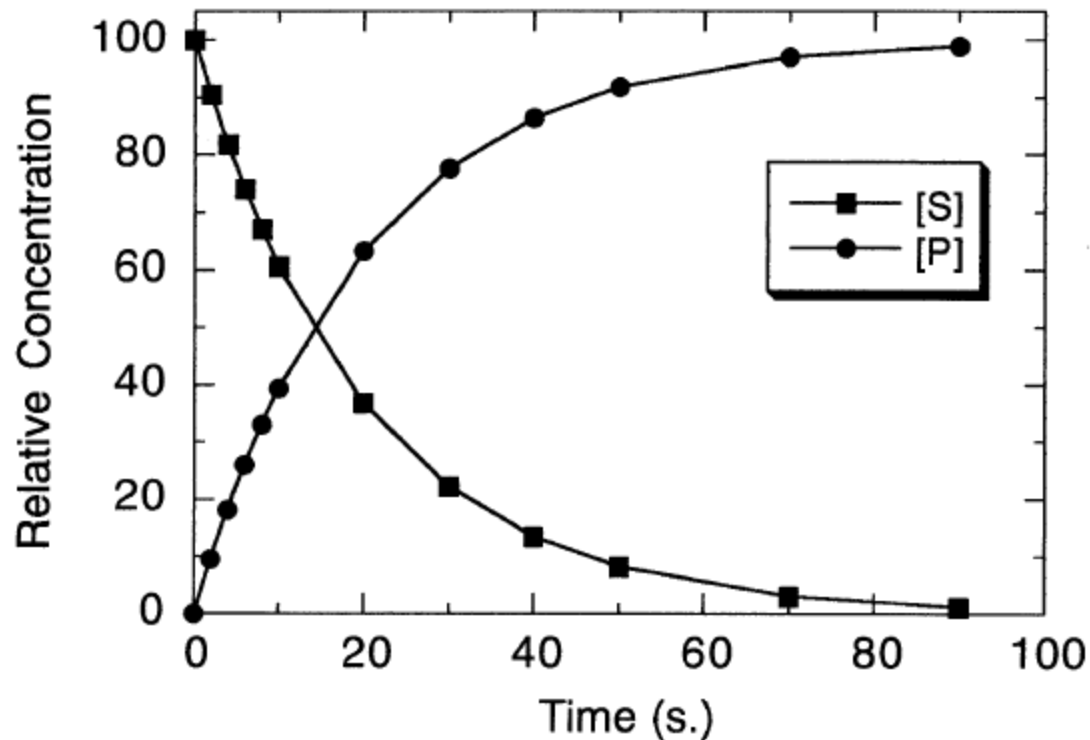
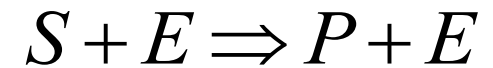




# Curve concentrazione tempo



Generico andamento della concentrazione del substrato S e del prodotto P per uno step enzimatico singolo



l'andamento temporale esponenziale mostrato suggerirebbe una cinetica del prim'ordine  $v = k[S]$

$$v = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

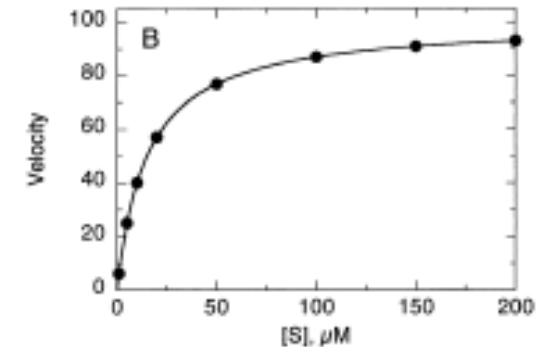
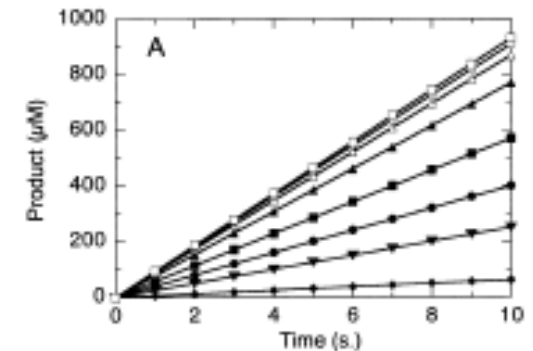
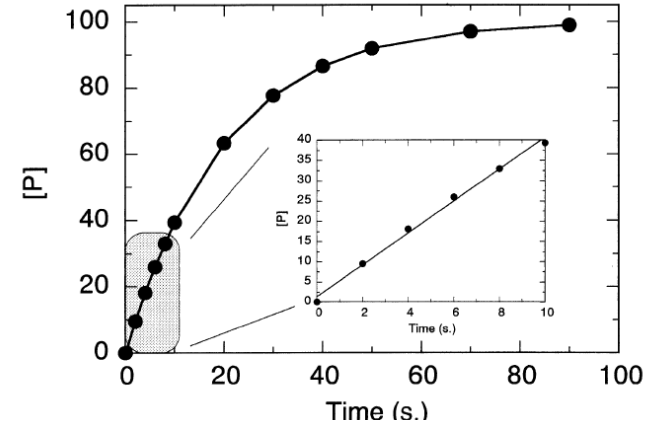
# $v_0$ contro $[S_0]$



Determinando il valore della velocità iniziale  $v_0$  in funzione di  $[S]$  come rapporto incrementale della  $[P]$ :

$$v_0 = -\frac{\Delta[S]}{\Delta t} = \frac{\Delta[P]}{\Delta t}$$

nei primi istanti del processo dove l'andamento è lineare (grafico A), e riportando in grafico contro  $[S]$  si può osservare che solo per bassi valori della concentrazione del substrato vi è linearità fra  $[S]$  e  $v$ , mentre per alti valori di  $[S]$  il valore di  $v$  tende al limite ( $V_{\text{Max}}$ ): effetto di saturazione.



# Meccanismo Cinetico



Il meccanismo cinetico proposto da Brown (1902) per la descrizione della cinetica enzimatica è un meccanismo a due stadi:

un primo stadio reversibile in cui il substrato S si lega all'enzima E per formare l'intermedio ES



un secondo stadio irreversibile in cui l'intermedio ES si dissocia per dare il prodotto di reazione e l'enzima





Il sistema di equazioni differenziali da risolvere diventa:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d[S]}{dt} = -k_1 [S][E] + k_{-1} [ES] \\ \frac{d[E]}{dt} = -k_1 [S][E] + (k_{-1} + k_2) [ES] \\ \frac{d[ES]}{dt} = +k_1 [S][E] - (k_{-1} + k_2) [ES] \\ \frac{d[P]}{dt} = +k_2 [ES] \end{array} \right.$$

con le due equazioni di conservazione della massa: la prima per il substrato e la seconda per l'enzima

$$\left\{ \begin{array}{l} [S]_0 + [P]_0 = [S] + [P] + [ES] \\ [E]_0 = [E] + [ES] \end{array} \right.$$

# Soluzioni sistema ODE

---



Nonostante il sistema di equazioni differenziali non sia particolarmente complesso non è possibile ottenere un'espressione analitica delle concentrazioni delle diverse specie in funzione del tempo.

Potremo quindi ottenere delle espressioni analitiche solo per un sistema ODE approssimato, utilizzando l'ipotesi dello Stato stazionario.

# Una prima considerazione



Analizzando l'equazione di conservazione della massa scritta per il substrato:

$$[S]_0 + [P]_0 = [S] + [P] + [ES]$$

appare chiaro che affinché sia verificata l'eguaglianza:

$$-\frac{d[S]}{dt} \approx \frac{d[P]}{dt} = v$$

la concentrazione del complesso  $[ES]$  deve essere trascurabile rispetto a quelle di  $[S]$  e  $[P]$  ossia:

$$[S] \gg [E]_0$$

la concentrazione del substrato deve essere sempre molto maggiore di quella dell'enzima totale, condizione quasi sempre verificata nei sistemi biologici

# Ipotesi Stato Stazionario (BH)



Briggs e Haldane (1925) cercarono di generalizzare la trattazione avanzando l'ipotesi che il complesso ES avesse valori di concentrazione comunque trascurabili e che si potesse perciò applicare su di esso l'ipotesi di stazionarietà:

$$\frac{d[ES]}{dt} = +k_1 [S][E] - (k_{-1} + k_2)[ES] \approx 0$$

Questa ipotesi si potrà correttamente applicare se:

$$k_{-1} \vee k_2 \gg k_1 [E]_0 \quad (*)$$

le reazioni che coinvolgono ES come reagente hanno costanti cinetiche di gran lunga più elevate di quelle che lo producono.

---

(\*) Si noti come nel caso di un intermedio implicato in stadi elementari di ordine diverso la condizione di stazionarietà non può riguardare le sole costanti cinetiche che hanno dimensioni differenti.

# Ipotesi Stato Stazionario



Se l'ipotesi dello stato stazionario può essere applicata allora:

$$\frac{d[ES]}{dt} = +k_1 [S][E] - (k_{-1} + k_2)[ES] \approx 0$$

ed  $[ES]_{SS}$  può essere ottenuto in funzione della concentrazione di enzima totale  $[E]_0$  ricordando l'equazione di conservazione della massa scritta per l'enzima:

$$[E]_0 = [E] + [ES] \quad \longrightarrow \quad [E] = [E]_0 - [ES]$$

che sostituita nell'equazione precedente da:

$$+k_1 [S]([E]_0 - [ES]) - (k_{-1} + k_2)[ES] \approx 0$$



# Ipotesi Stato Stazionario (BH)



$$-k_1 [S][ES] - (k_{-1} + k_2)[ES] = -k_1 [S][E]_0$$

da cui si può ottenere la concentrazione di ES in condizioni di stazionarietà  $[ES]_{ss}$  in funzione della concentrazione dell'enzima totale  $[E]_0$  e del solo substrato  $[S]$ :

$$[ES]_{ss} = \frac{k_1 [S][E]_0}{k_{-1} + k_2 + k_1 [S]} = \frac{[S][E]_0}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]}$$

Introducendo  $K_M$  costante di Michaelis-Menten l'equazione diventa:

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



$$[ES]_{ss} = \frac{[S][E]_0}{K_M + [S]}$$

# Ipotesi Stato Stazionario



Se sono verificate le condizioni di validità dell'ipotesi dello stato stazionario  $[ES]_{SS} \approx 0$ , derivando la legge di conservazione della massa del substrato allora si ottiene:

$$[S]_0 + [P]_0 \approx [S] + [P] \quad \rightarrow \quad -\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt} = v = k_2 [ES]_{SS}$$

e sostituendo l'espressione di  $[ES]_{SS}$  ottenuta in precedenza:

$$[ES]_{SS} = \frac{[E]_0 [S]}{K_M + [S]}$$

si ottiene un'equazione differenziale nella sola variabile  $[S]$ :

$$v = \frac{V_{Max}}{1 + \frac{K_M}{[S]}}$$

# Equazione di Michaelis-Menten



$$v = \frac{V_{Max}}{1 + \frac{K_M}{[S]}}$$

$V_{Max} = k_2 [E]_0$       velocità massima

$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$       Costante di Michaelis-Menten

$V_{Max}$  rappresenta la velocità massima che si avrebbe se tutto l'enzima fosse presente nel sistema sotto forma del Complesso ES.

# Ipotesi Stato Stazionario



Dimostriamo che l'ipotesi dello stato stazionario può essere applicata anche se risulta:

$$[S]_0 \gg [E]_0$$

infatti anche in questo caso  $[ES]$  potrà essere trascurata nell'equazione di conservazione della massa

$$[S]_0 + [P]_0 \approx [S] + [P]$$

che derivata implica:

$$-\frac{d[S]}{dt} \approx \frac{d[P]}{dt} \rightarrow -k_1 [S][E] + k_{-1} [ES] \approx k_2 [ES]$$

e da cui si ottiene l'equazione della stazionarietà di  $[ES]$ :

# Soluzione Sistema ODE



L'equazione differenziale nella sola  $[S]$  può essere risolta facilmente:

$$\frac{d[S]}{dt} = \frac{-V_{\max}}{K_M + [S]} [S]$$

$$t = \left( \frac{1}{V_{\max}} \right) \cdot \left\{ [S]_0 - [S] + K_M \log \left( \frac{[S]_0}{[S]} \right) \right\}$$

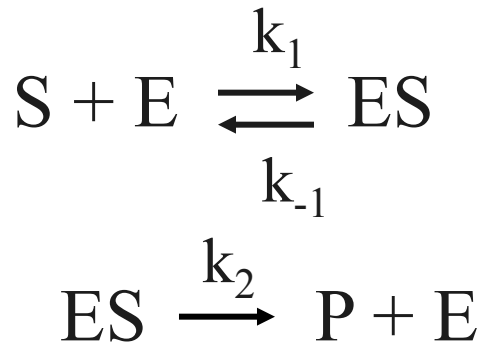
ma non può essere invertita per dare la concentrazione  $[S]$  come funzione esplicita di  $t$ .

$[P]$  si ottiene trascurando  $[ES]_{ss}$  nella conservazione della massa del substrato:  $[P] \approx [S]_0 + [P]_0 - [S]$

mentre  $[E]$  si ricava dalla legge di conservazione della massa dell'enzima:

$$[E] = [E]_0 - [ES]_{ss}$$

# In conclusione



Condizioni stazionarietà

$$k_2 \vee k_{-1} \gg k_1 [E]_0$$

$$[S]_0 \gg [E]_0$$

$$v = \frac{V_{Max} [S]}{K_M + [S]} \quad t = \left( \frac{1}{V_{Max}} \right) \cdot \left\{ [S]_0 - [S] + K_M \log \left( \frac{[S]_0}{[S]} \right) \right\}$$

$$[ES]_{SS} = \frac{[E]_0 [S]}{K_M + [S]}$$

$$[P] \approx [S]_0 + [P]_0 - [S]$$

$$[E] = [E]_0 - [ES]_{SS}$$