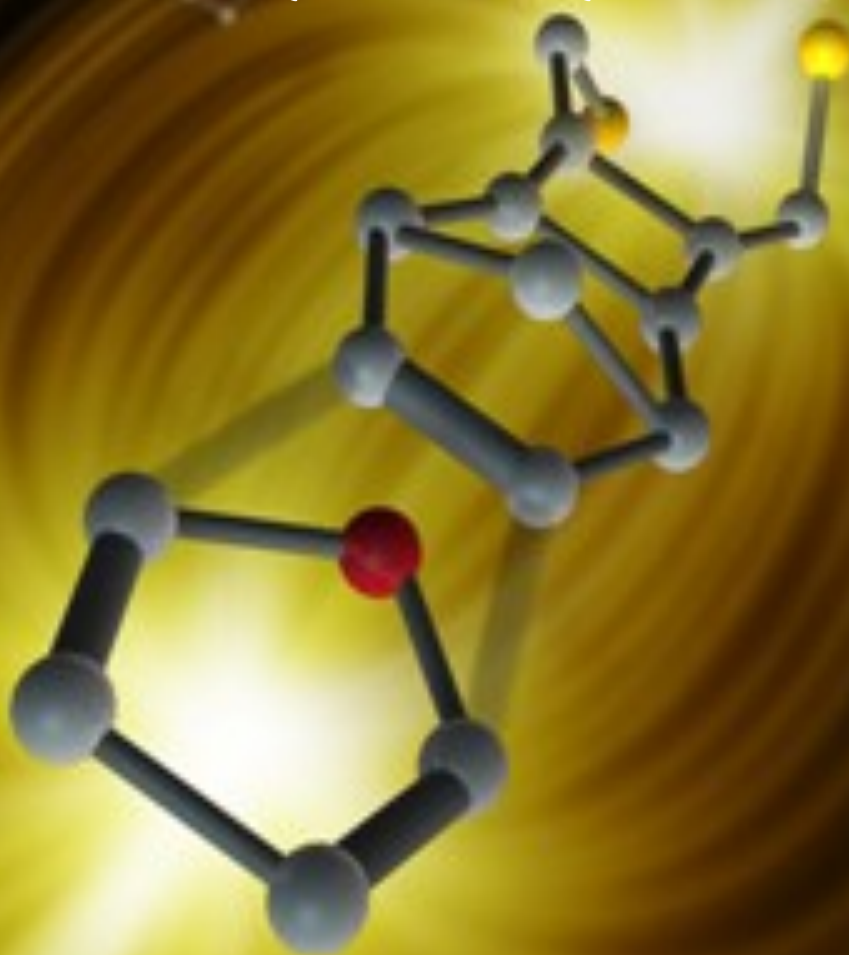


# TENEN PRESSA LES REACCIONS QUÍMIQUES?



## ***Agraïments:***

En primer lloc vull agrair a la meva tutora, al laboratori de l'IRTA de Sant Carles de la Ràpita i a la seva professional la dedicació, l'acompanyament, la motivació i les facilitats que han fet possible la realització d'aquest treball.

*Velocitat de reacció: En depenem més del que ens pensem.*

# ÍNDEX

<b>0. INTRODUCCIÓ</b> .....	<b>4</b>
0.1 OBJECTIUS:.....	4
0.2 JUSTIFICACIÓ: CIRCUMSTÀNCIES ACADÈMIQUES, HISTÒRIQUES I SOCIALS .....	4
0.3 METODOLOGIA.....	6
<b>1. LA CINÈTICA QUÍMICA</b> .....	<b>7</b>
1.1 LA VELOCITAT DE LES REACCIONS .....	7
1.2 MECANISME DE REACCIÓ .....	9
1.3 TEORIES DE LES REACCIONS QUÍMIQUES.....	10
<b>2. FACTORS QUE INTERVENEN EN LA VELOCITAT DE REACCIÓ</b> .....	<b>13</b>
2.1 INFLUÈNCIA DE LA CONCENTRACIÓ EN LA VELOCITAT DE REACCIÓ.....	14
2.2 INFLUÈNCIA DE LA TEMPERATURA EN LA VELOCITAT DE REACCIÓ.....	14
2.3 INFLUÈNCIA DE L'ESTAT FÍSIC DELS REACTIUS EN LA VELOCITAT DE REACCIÓ .....	16
2.4 INFLUÈNCIA DE LA NATURALESA QUÍMICA DELS REACTIUS .....	17
2.5 INFLUÈNCIA DE L'ENERGIA D'ACTIVACIÓ EN LA VELOCITAT DE REACCIÓ.....	17
2.5.1 INFLUÈNCIA DELS CATALITZADORS .....	17
2.5.2 CATALITZADORS QUÍMICS .....	18
2.5.3 INFLUÈNCIA DE LA NATURALESA DELS REACTIUS .....	21
<b>3. BIOCATALITZADORS O ENZIMS</b> .....	<b>22</b>
3.1 L'ACTIVITAT ENZIMÀTICA .....	24
3.2 EL CENTRE ACTIU DE L'ENZIM .....	25
3.3 L'ESPECIFICITAT DELS ENZIMS .....	25
3.4 LA CINÈTICA DE L'ACTIVITAT ENZIMÀTICA .....	26
3.5 ELS FACTORS QUE AFECTEN L'ACTIVITAT ENZIMÀTICA.....	27
3.6 ELS ENZIMS AL·LOSTÈRICS.....	28
3.7 EL COOPERATIVISME .....	28
3.8 LA REGULACIÓ DE LES VIES METABÒLIQUES.....	29

3.9 LA DISPOSICIÓ ESPACIAL DELS ENZIMS .....	30
3.10 ELS COENZIMS .....	30
3.11 LES VITAMINES .....	31
3.12 NOMENCLATURA I CLASSIFICACIÓ DELS ENZIMS .....	32
<b><u>4. PART EXPERIMENTAL 1: INFLUÈNCIA DE LA CONCENTRACIÓ I DE LA TEMPERATURA EN LA VELOCITAT D'UNA REACCIÓ .....</u></b>	<b><u>33</u></b>
4.1 INTRODUCCIÓ.....	33
4.2 OBJECTIUS.....	33
4.3 MATERIAL .....	33
4.4 PROCEDIMENT.....	33
4.5 RESULTATS .....	35
4.5.1 RELACIÓ ENTRE LA CONCENTRACIÓ DE TIOSULFAT DE SODI I LA VELOCITAT DE REACCIÓ EN LES EXPERIÈNCIES 1, 2 I 3.....	36
4.5.2 RELACIÓ ENTRE LA TEMPERATURA I LA VELOCITAT DE REACCIÓ EN LES EXPERIÈNCIES 3, 4 I 5 .....	36
4.6 CONCLUSIONS .....	37
<b><u>5. PART EXPERIMENTAL 2: ASSAIG ENZIMÀTIC PER A LA DETECCIÓ D'ÀCID OCADAIC.....</u></b>	<b><u>38</u></b>
5.1 INTRODUCCIÓ.....	38
5.2 PRINCIPI DE LA PROVA .....	39
5.3 MATERIAL I REACTIUS.....	40
5.4 PROCEDIMENT DE L'ASSAIG .....	42
5.5 CÀLCULS I REPRESENTACIÓ GRÀFICA DE RESULTATS .....	45
5.6 CONCLUSIONS .....	48
<b><u>6. CONCLUSIONS .....</u></b>	<b><u>50</u></b>
<b><u>7. ANNEXOS .....</u></b>	<b><u>53</u></b>
<b><u>8. BIBLIOGRAFIA.....</u></b>	<b><u>61</u></b>

## 0. INTRODUCCIÓ

### 0.1 Objectius:

- Saber què és la cinètica química.
- Conèixer quins factors intervenen en la velocitat de les reaccions químiques i entendre com ho fan.
- Aprofundir en l'estudi dels enzims o biocatalitzadors.
- Comprovar la influència de la temperatura i la concentració a la velocitat d'una reacció química.
- Comprovar el comportament d'un inhibidor (àcid ocadaic) de l'enzim fosfatasa que actua en un substrat específic.

### 0.2 Justificació: Circumstàncies acadèmiques, històriques i socials

En l'actualitat el món del coneixement abasta tots els àmbits de la vida i activitat humanes, ens trobem immersos en un escenari en què la immediatesa és gairebé imprescindible. Abans els meus avis per fer una gestió a Barcelona necessitaven un o dos dies, cosa que avui en dia pot quedar reduïda a uns minuts gràcies a les tecnologies de la informació; és doncs aquesta velocitat dels processos la que em va despertar un interès en saber de quina manera també en l'àmbit de la química, concretament de les reaccions químiques, es pot contribuir a la seva acceleració i respondre a aquella immediatesa que actualment és present en la majoria de processos.

Sabem que la investigació no para i n'és font d'innovació, així doncs, els primers avenços en el camp de la cinètica química és remunten a fa més de 200 anys, quan Wenzel el 1771 va notar que la dissolució de zinc i coure en àcid no era instantània, sinó que prenia una quantitat finita de temps. Posteriorment el 1778, Priestley va trobar que la quantitat de temps requerit per transformar l'òxid de mercuri en mercuri elemental era dependent de la quantitat d'oxigen present. Així es va considerar que les primeres mesures sobre les velocitats de les reaccions químiques mostraven que existia un temps finit perquè es portessin a terme, però encara no s'entenien bé aquests fenòmens.

En una sèrie d'articles publicats entre 1860 i 1879, els científics Hercourt i Essen van mostrar que existia una relació entre la rapidesa de les reaccions químiques i la

**concentració dels reactius.** Aquest període històric és molt important ja que químics com Bernoulli, Joule, Kronig i particularment Maxwell, van permetre a través de la teoria cinètica dels gasos, determinar bases conceptuals per comprendre diferents fenòmens i poder estudiar-los amb noves teories, per exemple la Teoria de les probabilitats. Durant els següents anys, el 1886 Van't Hoff va proposar la idea per mostrar que la rapidesa de les reaccions era una funció de la **concentració dels reactius i de la temperatura.** Arrhenius va quantificar el comportament sobre la temperatura en la rapidesa d'una reacció química i Menschutkin va mostrar que la rapidesa també variava amb **l'estructura de les molècules i la naturalesa dels dissolvents.**

Les primeres teories de la rapidesa d'una reacció van ser proposades entre 1889 i 1930. El 1889 Arrhenius va escriure una famosa publicació **-Estudis de dinàmica química-** on va proposar que les reaccions eren **activades** perquè només les molècules "calentes" en realitat poden reaccionar. Això va conduir a la idea que la rapidesa d'una reacció era determinada per la rapidesa de col·lisió de les molècules "calentes". El 1918, Trautz i Lewis van quantificar la idea mostrant que la rapidesa d'una reacció era igual a la rapidesa de la col·lisió, per la probabilitat que la col·lisió condueixi a la reacció. El model resultant es va anomenar Teoria de col·lisions, el qual segueix vigent.

Actualment, la cinètica de les reaccions químiques es considera una branca de la termodinàmica, la qual investiga els estats intermedis (desequilibris) de les transformacions fisicoquímiques des de la variable temps, la qual és inherentment dependent del camí que segueixen aquests processos.

La diferència entre la cinètica i la termodinàmica, és que la primera estudia els processos físics i químics tenint en compte la perspectiva temporal i la segona estudia les transferències d'energia.

Com he comentat al principi, em vaig interessar per aquesta temàtica, però va ser gràcies a la meva tutora del Treball de Recerca que em va parlar dels enzims o biocatalitzadors, que intervenen de manera vital en el funcionament dels éssers vius i últimament s'estan fent molts avenços en aquest camp, que vaig veure una línia d'investigació molt interessant que em va animar a presentar aquest treball.

### 0.3 Metodologia

Una vegada escollit el què volia fer, va ser moment de plantejar-me el com ho podia realitzar, és a dir, decidir quines estratègies metodològiques seguir, que en essència serien dues:

- La recerca activa d'informació.
- L'experimentació científica per a la comprovació.

Pel que fa a la recerca d'informació, consistirà fonamentalment en: la consulta de fonts documentals i professionals, la selecció de les més significatives per a la meua temàtica i la producció del meu treball de manera organitzada (veure l'índex).

A més, i ja que faré comprovacions experimentals, introduiré passos de la metodologia experimental, que consistirà en: el plantejament d'una pregunta o problema, l'elaboració d'hipòtesis, l'establiment de les variables independents, dependents i controlades, el disseny de l'experiment, els resultats i les conclusions.

## 1. LA CINÈTICA QUÍMICA

La cinètica química és l'estudi de les velocitats de les reaccions químiques i dels factors que hi intervenen. Es tracta de l'àmbit de la ciència química que investiga i genera models teòrics que expliquen quins factors intervenen en la rapidesa amb què es produeixen les reaccions químiques.

### 1.1 La velocitat de les reaccions

Ens cal conèixer la velocitat amb què es produeixen les reaccions ja que una reacció molt favorable termodinàmicament, és a dir amb una diferència d'entalpia negativa i molt gran en valor absolut, pot ser tan lenta que resulti gairebé inviable a la pràctica.

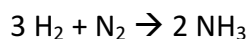
Per tant, **la velocitat d'una reacció es mesura per la quantitat d'una de les substàncies reactants que es transforma per unitat de temps.**

Normalment, la quantitat de substància que es transforma s'expressa en concentració molar i la unitat de temps acostuma a ser el segon. Per tant la velocitat d'una reacció s'expressa en  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$

Si els components són gasosos, la concentració s'expressa en fracció molar o en pressions parcials.

La velocitat d'una reacció no és constant, i varia amb el temps, ja que en el decurs de la reacció la concentració dels reactants va minvant i la dels productes va augmentant.

Per exemple, en la reacció de formació de l'amoniac:

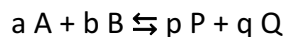


Si volem obtenir la velocitat en un instant determinat, hem de calcular la velocitat mitjana per a un interval de temps molt petit.

Per expressar la velocitat de reacció per a un altre component, cal tenir en compte l'estequiometria de l'equació química. En aquest cas, per a cada mol de  $\text{N}_2$  que reacciona es consumeixen 3 mol de  $\text{H}_2$  i es formen 2 mol de  $\text{NH}_3$ . Per tant, la velocitat de consum de  $\text{N}_2$  és un terç de la velocitat de consum de  $\text{H}_2$  i la meitat de la velocitat de formació de  $\text{NH}_3$ .

Com que la concentració dels reactants disminueix i la concentració dels productes augmenta. Els reactius tenen una velocitat negativa i els productes la tenen positiva.

Per a qualsevol reacció:



La velocitat de la reacció és la derivada de la concentració de qualsevol reactiu o producte respecte del temps dividida pel coeficient estequiomètric respectiu:

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

En tota reacció química que tingui lloc en un sistema tancat s'arriba a un equilibri en què els reactants van reaccionant per produir productes, i viceversa, els productes van reaccionant entre ells per donar reactius. És tracta d'un equilibri dinàmic, que pot estar molt desplaçat o poc cap a l'esquerra o cap a la dreta de la reacció. Per tant, hi ha un procés directe que té una velocitat de reacció directa,  $v_d$ , i un procés invers que té una velocitat de reacció inversa,  $v_i$ .

La relació experimental de com canvien les velocitats de reacció en variar les concentracions de A, B, P i Q s'expressa matemàticament de la manera següent:

Equació de la velocitat de la reacció directa,  $v_d$ :

$$v_d = k_d[A]^\alpha \cdot [B]^\beta$$

Equació de la velocitat de la reacció inversa,  $v_i$ :

$$v_i = k_i[P]^\pi \cdot [Q]^\theta$$

Nosaltres només estudiarem les velocitats de reacció directa.

Els exponents  $\alpha$  i  $\beta$  s'anomenen ordres parcials de la reacció respecte dels reactius A i B respectivament. Sempre es troben experimentalment i no han de coincidir necessàriament amb els coeficients estequiomètrics a i b de la reacció.

Els ordres de la reacció generalment són valors enters o fraccionaris positius i per a certes reaccions valen zero.

La gran varietat de valors que poden adoptar  $\alpha$  i  $\beta$  depenen del mecanisme de les diferents reaccions conegudes.

La suma  $\alpha + \beta$  s'anomena **ordre total de la reacció**.

En cinètica química la constant de velocitat **k** quantifica la velocitat d'una reacció química.

La constant de velocitat, **k**, només depèn de la temperatura. No depèn de les concentracions ni d'altres variables i la seva dependència de la pressió és negligible.

Generalment, si la temperatura augmenta, també ho fa la velocitat de reacció.

Les unitats de la constant de velocitat, **k**, depenen de l'ordre de la reacció, que és un nombre real definit formalment com la suma dels exponents dels termes de concentració que intervenen en l'expressió de la velocitat d'una reacció i que té el sentit del nombre mínim d'espècies que semblen reaccionar simultàniament d'acord amb l'equació cinètica que regeix el procés.

Els ordres més comuns són els de valor comprès entre zero i tres, però es coneixen alguns processos d'ordre superior.

Per exemple, si la velocitat d'una reacció s'expressa així:

I si s'expressa així:  $v_1 = k_1$ , és una reacció d'ordre zero.

Si s'expressa així  $v_2 = k_2[A]$ , és una reacció de primer ordre respecte a A i de primer ordre total.

Si s'expressa així  $v_3 = k_3[A]^2 \cdot [B]$ , és una reacció de segon ordre respecte a A, de primer ordre respecte a B i de tercer ordre total.

La determinació de l'ordre de reacció és duta a terme per mètodes numèrics a partir de dades cinètiques obtingudes experimentalment.

## 1.2 Mecanisme de reacció

Tota reacció té lloc a través d'una seqüència de reaccions senzilles (elementals), la suma de les quals ens dona la reacció global. Aquesta seqüència rep el nom de **mecanisme de reacció**.

Cada una de les reaccions elementals tindrà la seva pròpia velocitat, i la velocitat de la reacció global està condicionada per la del pas elemental més lent, ja que la reacció global no pot ocórrer més ràpidament que la més lenta de la sèrie.

Cal tenir en compte que en els processos elementals els exponents de l'equació de velocitat sí que coincideixen amb els coeficients estequiomètrics de la reacció. Llavors es defineix la **molecularitat** d'una reacció elemental com el nombre de partícules que realment xoquen, és a dir, el nombre d'àtoms o molècules que intervenen en l'etapa lenta del mecanisme de reacció.

L'ordre de reacció és una dada experimental que cal distingir de la molecularitat de la mateixa reacció, malgrat que poden tenir el mateix valor.

### 1.3 Teories de les reaccions químiques

En el transcurs de tota reacció química, els reactius es consumeixen i els productes es formen. Perquè això es produeixi, cal que les molècules dels reactius estiguin en contacte, és a dir, que topin. Ara bé, les partícules dels productes també poden topar entre elles i formar altra vegada els reactius. Així s'arriba a un equilibri dinàmic que pot estar més o menys desplaçat envers els productes o envers els reactius.

Per explicar com es produeixen les reaccions químiques s'han elaborat diverses teories. Les més conegudes són la teoria de les col·lisions i la teoria de l'estat de transició, que es complementen entre elles.

## A. LA TEORIA DE LES COL·LISIONS

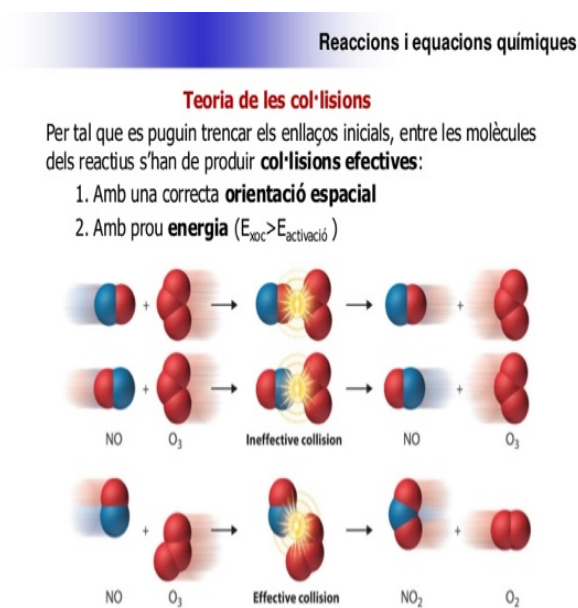


Fig 1.1 Teoria de les col·lisions.

Fig 1.1: Suposa que totes les partícules tenen gran energia cinètica ja que es mouen a gran velocitat i xoquen entre elles contínuament. Aquestes col·lisions poden ser no eficaces, és a dir, no produir cap producte nou. **L'eficàcia** d'una reacció depèn de dos factors:

- De l'energia cinètica de les partícules:

A una temperatura determinada, les partícules dels reactius no tenen la mateixa energia cinètica, les unes són més ràpides que les altres, perquè a cada temperatura hi ha una distribució estadística del nombre de partícules que tenen una certa energia.

De totes les partícules que hi ha a una temperatura mitjana, només les més energètiques (les més ràpides) aconseguen, en topant amb altres partícules, trencar-se els enllaços mútuament i generar productes.

L'energia mínima per obtenir els productes s'anomena energia d'activació,  $E_a$ .

L'energia d'activació es pot comparar amb una barrera que cal superar. Si l'energia és alta, indica que la velocitat de reacció és lenta.

- De l'orientació de les partícules en els xocs:

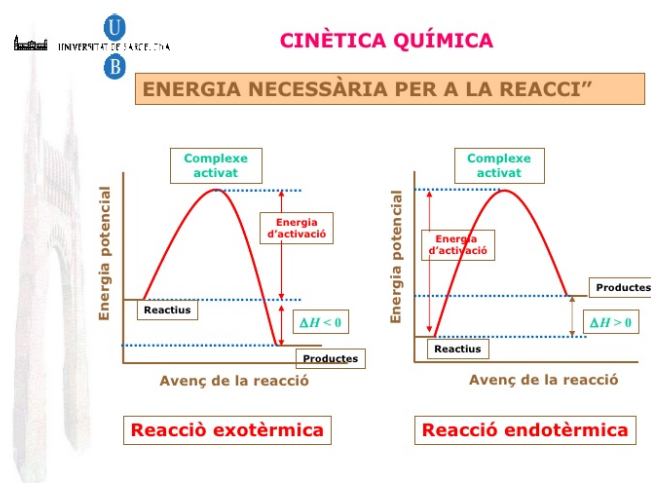
Perquè les partícules puguin reaccionar, han de topant en una direcció concreta.

## B. LA TEORIA DE L'ESTAT DE TRANSICIÓ

La teoria de l'estat de transició és una teoria que explica les velocitats de les reaccions químiques elementals. La teoria assumeix l'existència d'un tipus especial d'equilibri químic (quasi-equilibri) entre els reactius i el complex activat o estat de transició, una estructura intermèdia inestable per la seva alta energia.

El seu contingut energètic és alt, ja que té l'energia de les partícules dels reactius. Té una vida molt curta, perquè és inestable.

Els reactius, per arribar a productes, han de superar una muralla entàlpica que depèn de la força dels enllaços dels reactius, que s'han de relaxar per poder formar el complex activat.



Fisicoquímica II: Il·lustració 5.

Fig 1.2 Teoria de l'estat de transició.

Fig 1.2: La figura ens permet observar que l'energia d'activació que inicialment s'ha d'aprofitar es retorna íntegrament després. No obstant, en reaccions exotèrmiques s'allibera més energia que la  $E_a$  i el compost global té una variació d'entalpia negativa ( $\Delta H < 0$ ). En conseqüència, l'energia d'activació no modifica el balanç global energètic de la reacció, només n'afecta la velocitat. L'energia d'activació es dona en  $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

A més, s'observa que el complex activat té una energia superior als reactius i als productes. Els valors alliberats o absorbits d'entalpia,  $\Delta H$ , en la reacció són independents del valor de l'energia d'activació.

Si l'energia d'activació del procés és gran, la reacció serà lenta però si aquesta és petita la reacció es produirà més ràpidament.

Això es comprèn millor si considerem l'energia de les partícules. Les partícules que tenen molta energia cinètica aconseguen sobrepassar la barrera energètica de l'energia d'activació, si és molt gran, poques partícules poden assolir la barrera d'energia, hi ha pocs xocs eficaços i la reacció s'alenteix. Si l'energia d'activació és petita, succeeix el contrari: moltes partícules passen la barrera i hi ha moltes col·lisions eficaços, que donaran una reacció ràpida.

L'entalpia de reacció equival a la diferència entre les energies d'activació directa i inversa. Aquesta és una manera indirecta de calcular les entalpies.

Arrhenius va trobar una expressió experimental que relaciona la constant de velocitat,  $k$ , d'una reacció amb l'energia d'activació,  $E_a$ :

$$k = A e^{-E_a/(RT)}$$

en què  $k$  és la constant de velocitat a una temperatura absoluta  $T$  determinada,  $R$  és la constant dels gasos perfectes i  $A$  és una constant anomenada factor de col·lisió.

El factor de col·lisió,  $A$ , gairebé només depèn de la temperatura i està relacionat amb el nombre de xocs per segon d'un mol de molècules. Aquesta equació és molt útil per calcular les energies d'activació.

## 2. FACTORS QUE INTERVENEN EN LA VELOCITAT DE REACCIÓ

Un augment de l'eficàcia dels xocs de les partícules repercuteix directament en la velocitat de reacció. L'eficàcia depèn del nombre de col·lisions  $i$ , per tant, de la concentració de reactius i el seu estat físic. L'energia de les partícules està relacionada amb la temperatura del sistema reactant, per tant la temperatura també influeix en la velocitat d'una reacció química conjuntament amb l'orientació dels xocs i l'ús de catalitzadors que també hi tenen un paper important.

## 2.1 Influència de la concentració en la velocitat de reacció

Si augmentem la **concentració dels reactius** (o bé la **pressió dels gasos** reactants) s'incrementa la probabilitat de col·lisions eficaces.

Si en una reacció entre dos reactius A i B s'augmenta la concentració de A, també augmenta la probabilitat de xocs i consegüentment, la velocitat de reacció. Per tant, la velocitat de reacció augmenta si també ho fa la concentració dels reactius, tal com s'expressa matemàticament en l'equació experimental de la velocitat.

Equació experimental de la velocitat per a una reacció del tipus  $aA + bB \rightarrow cC + dD$

$$v = k[A]^\alpha \cdot [B]^\beta$$

Els exponents  $\alpha$  i  $\beta$  són els ordres de reacció, que recordem que depenen del **mecanisme de la reacció**, és a dir, de l'evolució dels reactius en el transcurs de la reacció per formar els productes. No tenen per què coincidir amb els coeficients estequiomètrics de la reacció.

En general, es pot afirmar que en les reaccions homogènies un augment de la concentració dels reactius afavoreix la velocitat de la reacció. Això és degut a que en augmentar el nombre de partícules per unitat de volum es produeix un augment del nombre de col·lisions, que és la primera condició perquè les substàncies reaccionin.

## 2.2 Influència de la temperatura en la velocitat de reacció

La velocitat de les reaccions augmenta molt amb la temperatura. L'increment de temperatura augmenta la velocitat de les partícules, i també el nombre de col·lisions. La velocitat mitjana de les partícules segueix l'equació següent:

$$v_m = k\sqrt{T}$$

A l'augmentar la temperatura també augmenta el nombre de partícules activades amb energia igual o superior a l'energia d'activació i, per tant, augmenta el nombre de col·lisions eficaces.

Un augment de 10°C en la temperatura sovint duplica la velocitat de la reacció tot i que de vegades pot triplicar-la o fins i tot fer-la quatre vegades més gran.

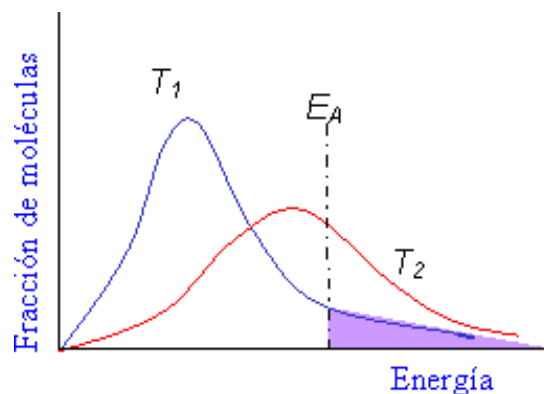


Fig 2.1

Fig 2.1: En aquest gràfic en què  $T_1 < T_2$  podem veure les corbes de distribució de l'energia en funció de la temperatura.

S'observa que quan la reacció ocorre a la temperatura  $T_2$ , el nombre de partícules amb una energia superior a la  $E_a$  és més gran que quan ocorre a la  $T_1$ .

Arrhenius, en la seva equació esmentada anteriorment, mostra la influència de la temperatura en la constant de velocitat. Com que aquesta equació és de tipus exponencial, significa que un petit augment de la temperatura repercuteix en una gran pujada de la constant de velocitat,  $k$ , i per tant de la velocitat de la reacció.

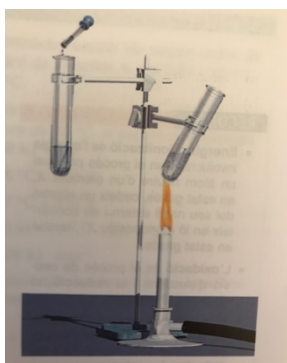


Fig 2.2

Fig 2.2: La reacció d'un clau de ferro amb àcid clorhídric 2 M és lenta, però pot ser ràpida si s'escalfa el recipient amb la flama del bec de gas.

### 2.3 Influència de l'estat físic dels reactius en la velocitat de reacció

Com més gran és la possibilitat de contacte entre partícules, més ràpidament transcorre la reacció.

Per tant:

- La reacció **entre un sòlid i un líquid** és més ràpida quan el sòlid es troba en estat pulverulent, perquè la superfície de contacte és immensament més gran que si el sòlid és compacte.
- Si la reacció és produïda **entre dos líquids immiscibles**, cal agitar energèticament els líquids perquè la reacció sigui ràpida, de manera que la superfície de contacte sigui la més gran possible.
- La reacció heterogènia **entre gasos i sòlids** depèn de la mida de les partícules pulverulentes del sòlid. Com més petites, més gran és la velocitat de reacció.
- La reacció **entre dos sòlids compactes** sempre és lenta.
- Una reacció **entre gasos** és més ràpida ja que la gran mobilitat de les partícules fa que augmenti el nombre de xocs. És més ràpida encara quan la pressió és elevada perquè en aproximar-se més les partícules la freqüència de xocs és més gran.

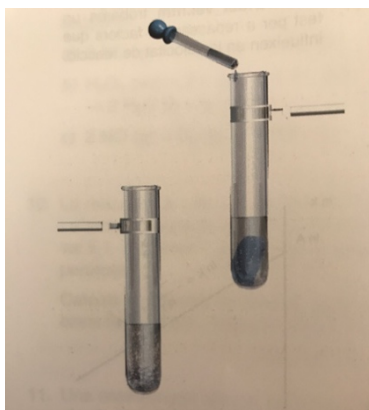
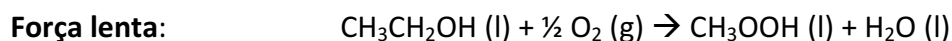
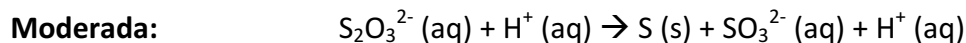
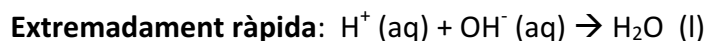


Fig 2.3

Fig 2.3: Un tros de ferro és atacat per l'àcid clorhídric 2 M menys ràpidament que per unes llimadures de ferro.

## 2.4 Influència de la naturalesa química dels reactius

Si observem les tres reaccions següents:



Ens podem preguntar per què tenen velocitats diferents.

Aquestes tres reaccions es diferencien pel tipus i el nombre d'enllaços que s'han de trencar. Els enllaços concrets que hi hagi entre les diferents substàncies afectaran a la velocitat de la reacció: com més enllaços hi hagi i més forts siguin, més gran serà l'energia d'activació de la reacció.

Si les espècies estan en forma iònica, normalment no cal trencar enllaços i les reaccions acostumen a ser ràpides, com succeeix en la reacció **extremadament ràpida**.

Si els enllaços són covalents, sovint la reacció és més lenta, com passa en la reacció **força lenta**.

## 2.5 Influència de l'energia d'activació en la velocitat de reacció

L'energia d'activació indica el nivell mínim d'energia que han de tenir les partícules perquè quan topin amb les altres partícules tinguin la possibilitat de produir xocs eficaços.

L'energia d'activació depèn de la **presència de catalitzadors** i de la **naturalesa dels reactius**.

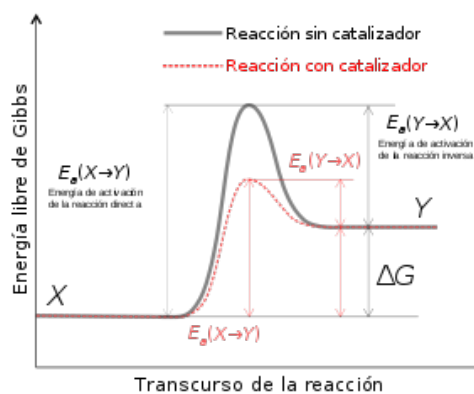
### 2.5.1 Influència dels catalitzadors

Els catalitzadors són substàncies que modifiquen la velocitat d'una reacció química sense que apareguin en els productes finals de la reacció.

Generalment no canvien, però de vegades experimenten modificacions que no formen part dels productes resultants de la reacció.

Solen intervenir en petites quantitats i subministren nous camins pels quals es pot produir una reacció amb una energia d'activació menor o major si son inhibidors.

Sovint, els catalitzadors formen complexos febles amb els reactius. D'aquesta manera, els reactius aconseguixen una estructura diferent que reacciona més fàcilment. El complex es destrueix immediatament després de reaccionar. El catalitzador es recupera sovint i teòricament no es malmet.



Relació entre l' $E_a$  amb i sense presència d'un catalitzador

## 2.5.2 Catalitzadors químics

### a) Catalitzadors de contacte

Els catalitzadors de contacte són sòlids que tenen molta superfície de contacte perquè són molt porosos. Sovint formen part de la seva composició metalls valuosos com el pal·ladi, l'iridi, el platí, el rodi, el níquel, el vanadi i el crom, entre altres, tant en forma metàl·lica com en forma d'òxids dels metalls. S'utilitzen en moltes reaccions entre gasos i entre líquids.

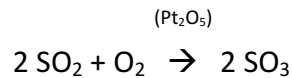
Els gasos reactius són **adsorbits**<sup>1</sup> a la superfície del metall, el qual afavoreix els enllaços de les molècules dels reactius, de manera que la reacció es produeix més fàcilment.

Són exemples de catalitzadors per contacte:

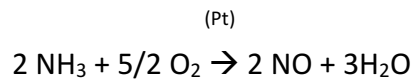
- Els catalitzadors de platí-rodí-òxid de níquel que es col·loquen en el circuit d'escapament dels gasos de combustió dels cotxes permeten eliminar els diversos òxids de nitrogen,  $N_xO_y$ , el monòxid de carboni (CO), i la benzina no cremada. Aquests residus es transformen immediatament en nitrogen i oxigen, i  $CO_2$ , respectivament.

<sup>1</sup> Adsorció: És un fenomen físic o químic que consisteix en la formació d'una capa de gas, de líquid o de sòlid sobre la superfície d'una substància sòlida. És un fenomen habitual en els processos de corrosió.

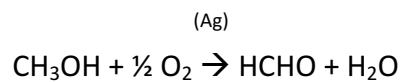
- L'obtenció d'àcid sulfúric  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , és difícil si no es realitza amb un catalitzador sòlid de pentaòxid de vanadi, que catalitza la reacció d'oxidació del  $\text{SO}_2$  al  $\text{SO}_3$ .



- L'amoniac i l'oxigen reaccionen en presència d'una fina xarxa de platí sòlid per formar nitrogen i aigua, que és la reacció bàsica per després obtenir àcid nítric.



- Moltes oxidacions industrials es produeixen amb catalitzadors d'argent, com la transformació del metanol en metanal.



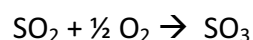
- Un procés industrial molt important és la hidrogenació de greixos, com els olis de peix, després de la qual les propietats de l'oli canvien dràsticament. Per dur a terme aquest procés s'utilitza com a catalitzador el níquel en pols. En aquest cas es tracta d'una catàlisi heterogènia, ja que els greixos es tracten en estat líquid. Alguns catalitzadors hidrogenants són els metalls de plom, cobalt, níquel i coure.
- Altres reaccions industrials important són la hidratació i la deshidratació de molts productes. S'hi utilitzen com a catalitzadors òxids de crom, d'alumini i de silici.

#### b) Catalitzadors transportadors

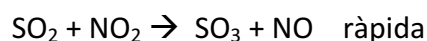
Els catalitzadors transportadors, més coneguts com a catalitzadors en fase homogènia, són substàncies que estan en la mateixa fase que els reactius i modifiquen la velocitat de la reacció en intervenir-hi i formar productes intermedis de menys energia d'activació.

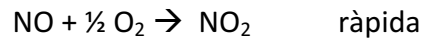
Són exemples de catalitzadors transportadors:

- En l'oxidació del  $\text{SO}_2$  al  $\text{SO}_3$ , la reacció amb oxigen és força lenta:

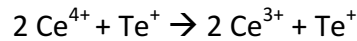


- Si utilitzem una mescla de gasos nítrics, amb el  $\text{NO}_2$  com a catalitzador, la reacció es produeix ràpidament. El  $\text{NO}_2$  aporta oxigen necessari per a l'oxidació:





- Un altre exemple de catalitzador transportador en una catàlisi homogènia, de com evoluciona i de quin és el seu mecanisme, el trobem en els ions  $\text{Mn}^{2+}$  que catalitzen la reacció redox entre els cations  $\text{Ce}^{4+}$  i  $\text{Ti}^+$ :



### c) Inhibidors o catalitzadors negatius

Els inhibidors o catalitzadors negatius són substàncies que disminueixen la velocitat de reacció ja que incrementen el valor de la  $E_a$ .

Alguns exemples de reaccions amb inhibidors o catalitzadors negatius són:

- El peròxid d'hidrogen,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , es descompon amb certa facilitat en aigua i oxigen. Per evitar-ho, s'hi addiciona una quantitat mínima d'acetanilida ( $\text{CH}_3\text{-CO-NH-C}_6\text{H}_5$ ).
- Els olis i greixos tendeixen a oxidarse amb l'oxigen de l'aire, fenomen que popularment coneixem amb el nom d'*enranciment*, s'endureixen i esdevenen molt viscosos. Per evitar-ho, s'empra el fenol  $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ , que actua com a inhibidor de l'oxidació.
- El zinc (en forma de  $\text{ZnSO}_4$ ) inhibeix de manera absoluta i immediata l'acció degradadora de la  $\alpha$ -amilasa sobre els midons.

### d) Autocatalitzadors

Moltes reaccions generen productes que actuen com a catalitzadors de la mateixa reacció.

Per exemple, en la reacció del permanganat de potassi amb l'àcid oxàlic es generen cations  $\text{Mn}^{2+}$ , que acceleren notablement la reacció:



### 2.5.3 Influència de la naturalesa dels reactius

Tots els reactius tenen energies d'activació  $E_a$ , diferents entre ells. Si l'energia d'activació és petita, la reacció transcorre ràpidament.

Si s'observen els complexos activats corresponents a dos compostos paral·lels com el fluorur d'hidrogen i el iodur d'hidrogen (fig 2.5), veurem que en el cas del iodur d'hidrogen, els enllaços provisionals estan molt més forçats a causa de la geometria que no pas en el primer.

Això indica que la formació del fluorur d'hidrogen és més fàcil que no pas la del iodur.

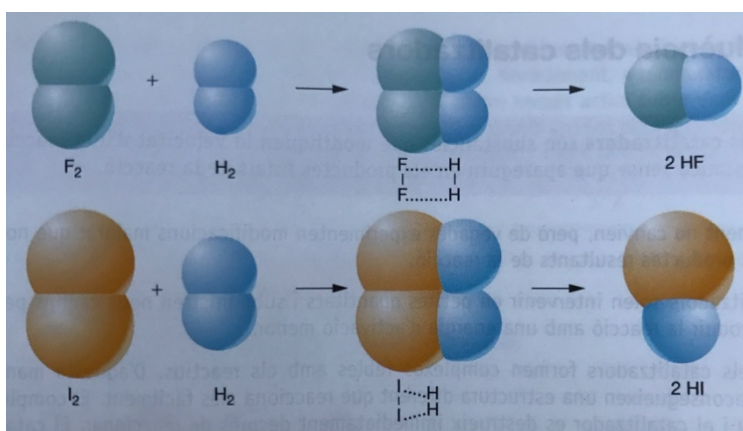


Fig 2.5. Formació del fluorur d'hidrogen i del iodur d'hidrogen a través dels complexos activats corresponents.

L'aigua n'és un altre exemple. Si mesclem hidrogen i oxigen, tot i que la reacció és molt favorable ( $\Delta G^\circ < 0$ ), la reacció de formació d'aigua no es produeix en absolut, ja que l'energia d'activació és gran. (fig 2.6)

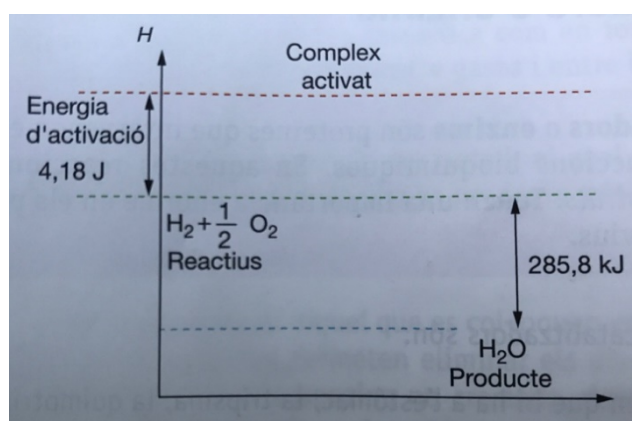


Fig 2.6. Diagrama entàlpic de la reacció entre l'hidrogen i l'oxigen per formar aigua.

En canvi, si encenem una flama o guspira en el medi de reacció, s'aconsegueix l'energia d'activació suficient per iniciar la reacció. Una vegada engegada la reacció, s'allibera

molta energia, una part de la qual correspon a l'energia d'activació que s'ha hagut de subministrar prèviament. Per tant, l'energia d'activació  $E_a$ , es recupera totalment i no té influència en el balanç d'entalpia total de la reacció.

El medi solvent de la reacció sovint té un paper important en la velocitat de reacció. Si la polaritat del complex activat és similar a la del solvent, la reacció és més ràpida que en el cas de polaritats molt divergents. Per exemple, una reacció en el medi aquós (cal recordar que l'aigua és polar) és més ràpida si el complex activat (de vida efímera) és polar.

### 3. BIOCATALITZADORS O ENZIMS

Els **enzims** són els **biocatalitzadors**, és a dir, els catalitzadors de les reaccions biològiques. Actuen variant l'energia d'activació i, per tant, canviant (accelerant) la velocitat de reacció. Aquesta es pot mesurar per la quantitat de producte que es forma per unitat de temps.

Excepte els ribozims, tots els enzims són proteïnes globulars, solubles en aigua, que es difonen bé en medis interns, i que poden actuar d'una manera intracel·lular, és a dir, a l'interior de la cèl·lula on s'han format, o extracel·lular, és a dir, a la zona on se secreten, com passa amb els enzims digestius.

Els **ribozims** són uns RNA capaços de catalitzar uns altres RNA, als quals treuen o afegeixen nucleòtids, sense consumir-se ells mateixos. Són l'excepció a la idea que tots els enzims són proteïnes.

Els enzims compleixen les dues característiques de tots els catalitzadors:

- Són substàncies que acceleren molt la reacció, fins i tot en concentracions molt petites. Això no vol dir que s'obtingui més producte, sinó que gràcies als enzims se n'obté la mateixa quantitat però en menys temps.
- No es consumeixen durant la reacció; per això, quan aquesta acaba n'hi ha la mateixa quantitat que al principi.

A més, a diferència dels catalitzadors no biològics, els enzims presenten les quatre característiques següents:

- Són molt específics, i això els permet actuar en una reacció determinada sense alterar-ne d'altres.
- Solen actuar a la temperatura de l'ésser viu.
- Són molt actius. Alguns aconseguen augments de la velocitat de reacció de més d'un milió de vegades, molt superior als catalitzadors no biològics.
- Tenen un pes molecular molt elevat, molt superior als catalitzadors no biològics.

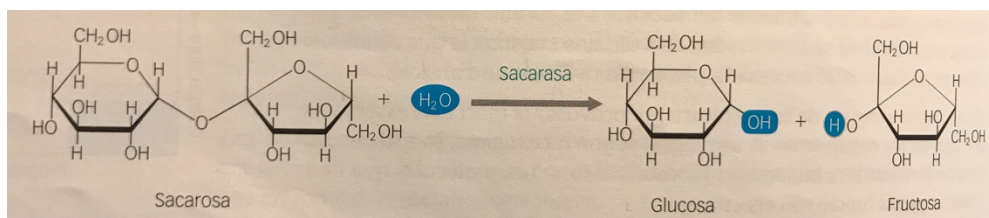
Segons l'estructura que presenten, es poden distingir dos tipus d'enzims: **els enzims estrictament proteics**, que poden estar constituïts per una o més cadenes polipeptídiques, i els **holoenzims**, que són els enzims constituïts per una fracció polipeptídica anomenada **apoenzim** i per una fracció no polipeptídica anomenada **cofactor**.

Els cofactors poden ser inorgànics o orgànics. Són **cofactors inorgànics** els ions metàl·lics que es solen trobar en petites quantitats (menys del 0'1%); és a dir, que són oligoelements. Per exemple el  $Mg^{2+}$ .

Els **cofactors orgànics** s'anomenen **coenzims**. Els coenzims més importants són l'ATP, el  $NAD^+$ , el  $NADP^+$ , el coenzim A i les vitamines.

Quan els cofactors, en lloc de trobar-se units dèbilment a la fracció proteica (apoenzim), s'anomenen **grups prostètics**. La necessitat d'oligoelements i vitamines en la dieta és deguda al fet que són cofactors de diversos enzims.

Alguns enzims no són actius fins que no actuen sobre ells altres enzims o ions, aquests enzims s'anomenen **zimògens** o **proenzims**. Alguns enzims es presenten en formes moleculars diferents, són els anomenats **isoenzims**.



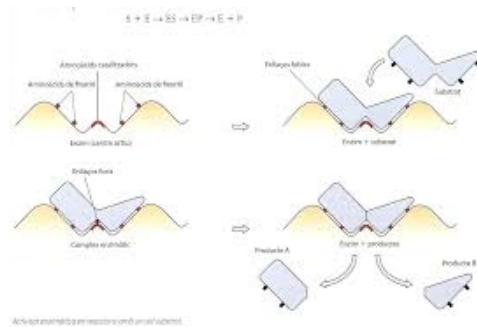
*Exemple d'una reacció catalitzada per enzims: hidròlisi de la sacarosa per l'enzim sacarasa*

### 3.1 L'activitat enzimàtica

La substància sobre la qual actua un enzim s'anomena substrat. Els enzims actuen de dues maneres diferents, segons si es tracta de reaccions en què hi ha un sol substrat o de reaccions en què n'hi ha dos o més tipus de substrats que s'uneixen a l'enzim per reaccionar.

#### a) Reaccions amb un sol substrat

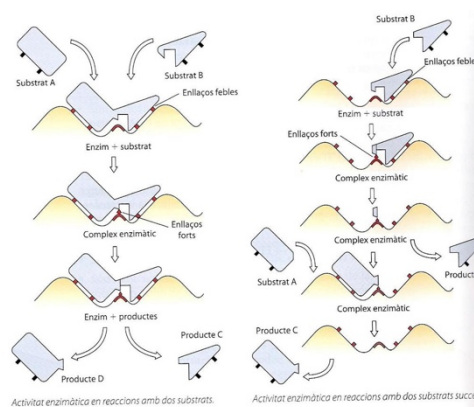
L'enzim (E) actua fixant el substrat (S) a la seva superfície per mitja d'enllaços febles. Així es forma l'anomenat **complex enzim-substrat** (ES). D'aquesta manera es generen tensions que debiliten els enllaços interns del substrat i per això es requereix menys energia per arribar a l'estat de transició del complex enzim-substrat. Finalitzada la transformació, queda el complex **enzim-producte** (EP) que allibera l'enzim intacte i el producte (P).



Activitat enzimàtica en reaccions amb un sol substrat

#### b) Reaccions amb dos substrats

En les reaccions en què hi ha dos substrats (A i B) que reaccionen entre si, els enzims actuen atraient les molècules que reaccionen cap a la seva superfície, de manera que augmenta la possibilitat que es trobin i, en conseqüència, que la reacció es produeixi.

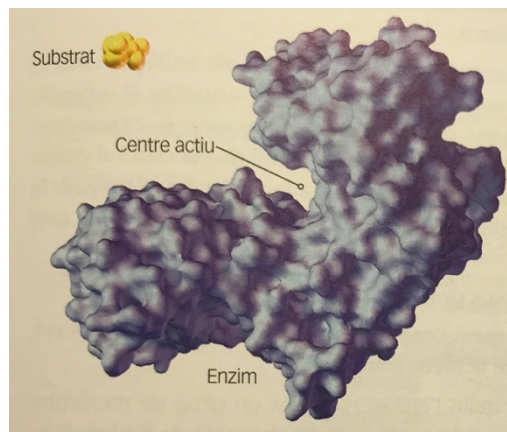


Activitat enzimàtica en reaccions amb dos substrats.

### 3.2 El centre actiu de l'enzim

L'activitat catalitzadora dels enzims s'inicia amb la formació del complex enzim-substrat (ES). Aquesta unió es duu a terme gràcies als radicals d'uns quants aminoàcids que estableixen enllaços amb el substrat (i amb el grup prostètic si n'hi ha), el fixen i després trenquen algun dels seus enllaços.

La regió de l'enzim que s'uneix al substrat rep el nom de **centre actiu**.



*Encaix entre l'enzim hexocinasa i el seu substrat, la glucosa*

#### Característiques dels centres actius:

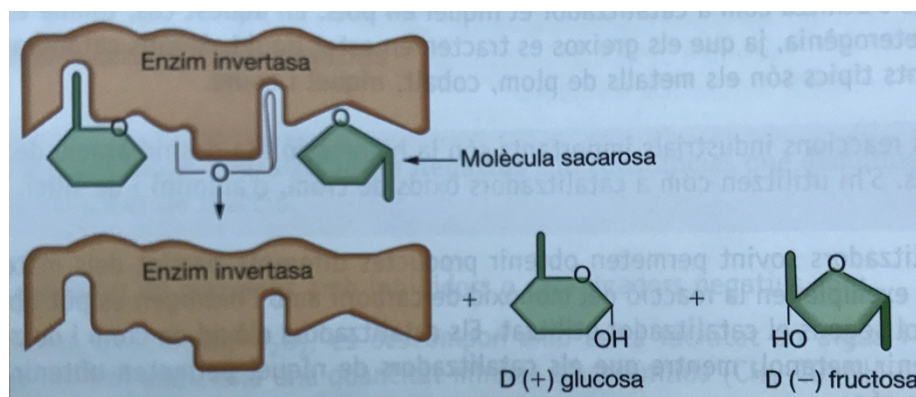
- Constitueixen una part molt petita del volum de l'enzim.
- Tenen una estructura tridimensional en forma de cavitat que permet que el substrat hi encaixi i impedeix que altres molècules hi accedeixin.
- Estan formats per aminoàcids que alguns dels seus radicals presenten afinitat química pel substrat. Gràcies a això, l'atrauen i hi estableixen enllaços febles. Se'n distingeixen dos tipus.
  - Aminoàcids de fixació: són els que estableixen enllaços febles amb el substrat i el fixen.
  - Aminoàcids catalitzadors: Són els que estableixen enllaços, febles o forts (covalents), amb el substrat, i provoquen la ruptura d'algun dels seus enllaços.

### 3.3 L'especificitat dels enzims

Tan sols els substrats que tenen la forma adequada poden accedir al centre actiu; tan sols els que poden establir un enllaç, amb els radicals dels aminoàcids fixadors es poden

fixar, i tan sols els que presenten un enllaç susceptible de trencar-se proper als radicals dels aminoàcids catalítics poden ser alterats. Tot això genera una alta especificitat entre l'enzim i el substrat, que es pot donar en diversos graus:

- Especificitat absoluta: L'enzim tan sols actua sobre un substrat.
- Especificitat de grup: L'enzim reconeix un grup de molècules determinat.
- Especificitat de classe: L'actuació de l'enzim no depèn del tipus de molècula, sinó del tipus d'enllaç.



*Especificitat enzimàtica. L'enzim invertasa s'acoba perfectament a la molècula de sacarosa.*

### 3.4 La cinètica de l'activitat enzimàtica

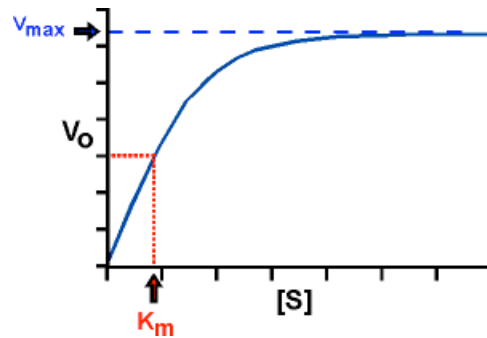
En una reacció enzimàtica amb una concentració d'enzim constant, si s'augmenta la concentració de substrat es produeix un augment de la velocitat de reacció perquè com que hi ha més molècules de substrat per unitat de volum, augmenta la probabilitat de trobada entre el substrat i l'enzim.

Si es va augmentant la concentració del substrat, arriba un moment en què la velocitat de reacció deixa de créixer, és a dir, s'arriba a la velocitat màxima ( $v_{max}$ ). Això és degut al fet que totes les molècules d'enzim ja estan ocupades per molècules de substrat.

A partir d'aquest comportament enzimàtic, Michaelis i Menten van definir una constant, anomenada constant de Michaelis-Menten ( $K_M$ ), que és la concentració de substrat per la qual la velocitat de reacció és la meitat de la velocitat màxima. La  $K_M$  depèn del grau d'afinitat entre l'enzim i el substrat.

Equació per calcular la velocitat de reacció enzimàtica segons les concentracions de substrat:

$$V = V_{\max} \frac{[S]}{K_M + [S]}$$



### 3.5 Els factors que afecten l'activitat enzimàtica

La velocitat de reacció que aconseguix un enzim, a més de dependre de la concentració del substrat, depèn d'altres factors:

- Influència de la temperatura

Si se subministra energia calorífica a una reacció enzimàtica, les molècules augmenten la mobilitat i, per tant, el nombre de trobades moleculars; per això augmenta la velocitat a què es forma el producte. Hi ha una temperatura òptima per a cada enzim, per a la qual l'activitat enzimàtica és màxima. Si la temperatura augmenta més, es produeix la desnaturalització d'una part de les molècules de l'enzim i amb això perd activitat enzimàtica.

- Influència del pH

Els enzims presenten dos valors límit de pH entre els quals són eficaços. Traspassats aquests valors, els enzims es desnaturalitzen i deixen d'actuar. Entre dos límits hi ha un valor de pH òptim en el qual l'enzim presenta la màxima eficàcia.

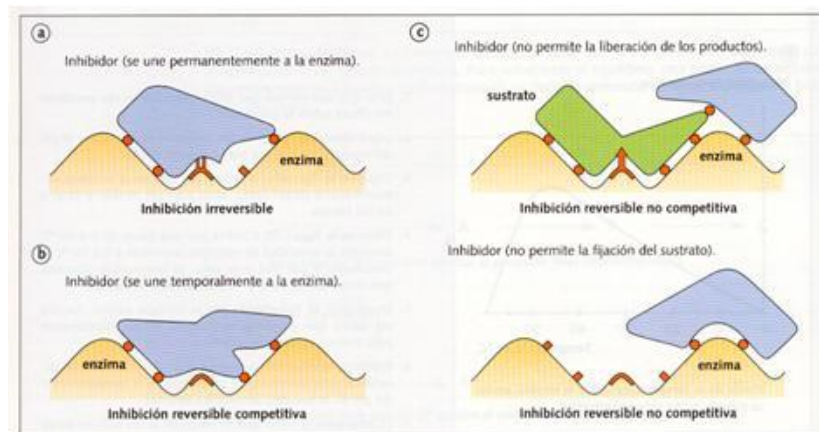
- Inhibidors

Els inhibidors són substàncies que disminueixen l'activitat d'un enzim o bé li impedeixen actuar totalment. Poden ser perjudicials o beneficiosos, com ara la penicil·lina, que és un inhibidor dels enzims que regulen la síntesi de la paret bacteriana i per això és útil contra les infeccions bacterianes.

La inhibició pot ser de dos tipus:

- Inhibició irreversible o enverinament de l'enzim. Té lloc quan l'inhibidor o verí es fixa permanentment al centre actiu de l'enzim, n'altera l'estructura i l'inutilitza.

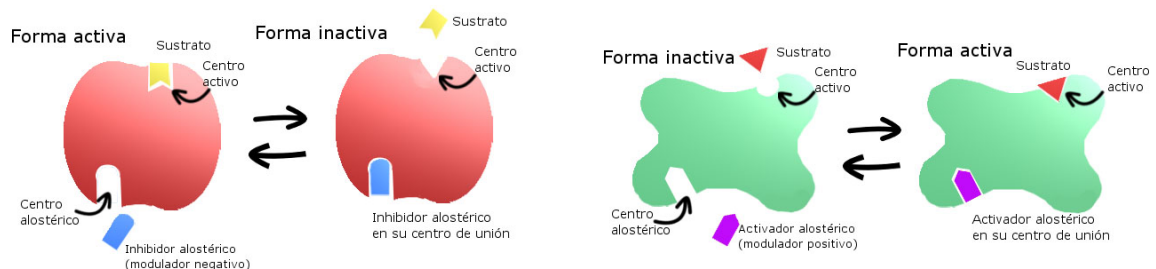
- Inhibició reversible. Té lloc quan no s'inutilitza el centre actiu, sinó que tan sols se n'impedeix el funcionament temporalment. N'hi ha dues modalitats:
  - Inhibició reversible competitiva. Es produeix quan la molècula de l'inhibidor és similar al substrat i competeix amb aquest per fixar-se al centre actiu. Disminueix la velocitat de reacció proporcionalment a la concentració d'inhibidor.
  - Inhibició reversible no competitiva: L'inhibidor s'uneix a l'enzim i impedeix l'accés del substrat al centre actiu.



Tipus d'inhibició enzimàtica.

### 3.6 Els enzims al·lostèrics

Els **enzims al·lostèrics** són els que poden adoptar dues formes estables diferents. La **configuració activa** i la **configuració inactiva**. A més del centre actiu, aquestes enzims tenen almenys un altre lloc, anomenat centre regulador, al qual es pot unir una substància determinada anomenada **ligand**.

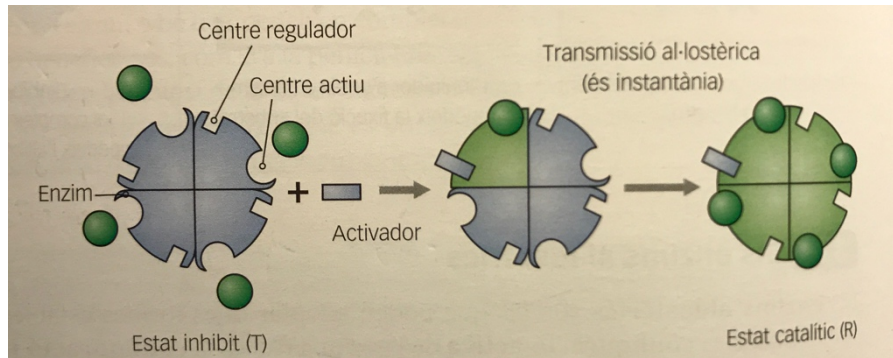


Transició de forma activa a inactiva i viceversa d'un enzim al·lostèric

### 3.7 El cooperativisme

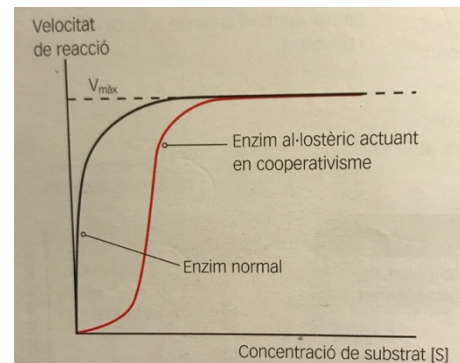
Els enzims al·lostèrics solen estar formats per diverses subunitats anomenades protòmers. Cada protòmer presenta un centre actiu i almenys un altre centre regulador.

En molts enzims, quan s'uneix el lligand, la configuració del protòmer varia, de manera que fa funcional el centre actiu. La variació de configuració en aquest protòmer es transmet instantàniament als altres associats, que també es fan actius. Aquest efecte és la **transmissió al·lostèrica**, i l'enzim passa d'estar en estat inhibit a estat actiu.



*Transmissió al·lostèrica. L'enzim passa d'un estat inhibitor a un estat actiu*

Si un enzim és una subunitat i la seva transformació a l'estat actiu es transmet al·lostèricament a totes les altres subunitats, són nombroses les que sobtadament comencen a actuar, fet que s'anomena **cooperativisme**.

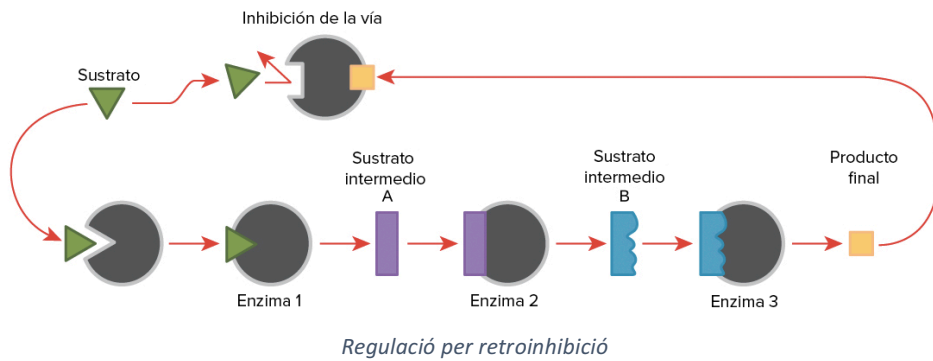


*Velocitat de reacció en enzims al·lostèrics amb cooperativisme*

### 3.8 La regulació de les vies metabòliques

La cèl·lula pot regular de dues maneres que es doni o no una via metabòlica. Una és augmentant o disminuint la síntesi d'enzims que intervenen a partir dels gens que les codifiquen, atès que molts enzims tenen una estabilitat relativament curta, d'unes quantes hores. Una altra manera és regulant l'activitat dels enzims. L'al·lostèria permet l'autoregulació de l'activitat enzimàtica. N'hi ha dos casos:

- **Regulació per retroinhibició o "feed-back"**. És la que es dona quan la configuració inicial de l'enzim és l'activa. En aquest tipus de regulació el producte final és el que es fixa al centre regulador, actua com a inhibidor i provoca la transició al·lostèrica de l'enzim a la seva forma inactiva.



- **Regulació per inducció enzimàtica.** És la que es dona quan la configuració inicial de l'enzim és la inactiva. En aquest tipus de regulació la substància inicial és la que es fixa al centre regulador i provoca la transició al·lostèrica de l'enzim a la seva forma activa, per la qual cosa aquest comença a actuar sobre el substrat.

### 3.9 La disposició espacial dels enzims

En les vies metabòliques, el producte generat per un enzim és el substrat de l'enzim següent; per això, per augmentar l'eficiència del sistema, es donen la compartimentació, els complexos multi enzimàtics i la inclusió d'enzims a les membranes.

- **Compartimentació:** Consisteix a separar amb membranes els llocs on es duen a terme les vies metabòliques que no es vol que es relacionin.
- **Complex multienzimàtic:** És l'associació de diversos enzims que actuen successivament en una via. El complex supramolecular resultant és més eficaç que si els enzims estiguessin dispersos en el medi.
- **Inclusió a les membranes:** Alguns enzims i alguns complexos multienzimàtics estan englobats ordenadament a les membranes, de manera que es facilita la unió entre els successius productes i els successius enzims.

### 3.10 Els coenzims

Un **coenzim** és un cofactor orgànic que s'uneix a un **apoenzim** (part proteica) amb enllaços febles durant el procés catalític. Els coenzims actuen com a donadors o

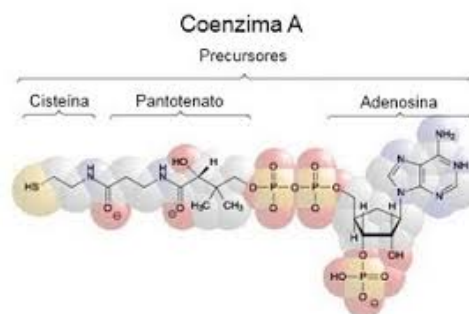
receptors de grups químics, és a dir, en son transportadors. En conseqüència sí que es modifiquen durant la reacció.

La unió coenzim-apoenzim és temporal i similar a la unió substrat-enzim.

Molts coenzims són vitamines.

No solen ser específics d'un sol tipus d'apoenzim i se'n distingeixen dos tipus:

- Coenzims d'oxidació i reducció: transporten protons ( $H^+$ ) i electrons ( $e^-$ ).
- Coenzims de transferència: transporten radicals, com per exemple el CoA.



*Estructura del Coenzim A  
(veure l'annex A)*

### 3.11 Les vitamines

Les vitamines són glúcids o lípids senzills que, en general, els animals no poden sintetitzar o ho fan en una quantitat insuficient, i per això les han d'ingerir en la dieta.

La importància de les vitamines radica en el fet que són coenzims o bé que son imprescindibles per sintetitzar-los.

Són substàncies làbils, és a dir, que s'alteren amb facilitat amb els canvis de temperatura, la llum o els emmagatzematges prolongats.

Es classifiquen segons la solubilitat en liposolubles i hidrosolubles:

- **Vitamines liposolubles:** són de naturalesa lipídica i, per tant, solubles en dissolvents orgànics. Son d'aquest grup les vitamines **A** (protegeix els epitelis i és necessària per a la recepció visual), **D** (regula l'absorció del calci), **E** (actua com a antioxidant i **K** (coopera en els processos de coagulació de la sang).
- **Vitamines hidrosolubles:** Son solubles en aigua i, per tant, es difonen molt bé per la sang. Pertanyen a aquest grup les vitamines del complex **B** (B1, B2, B3, B5, B6, B8,

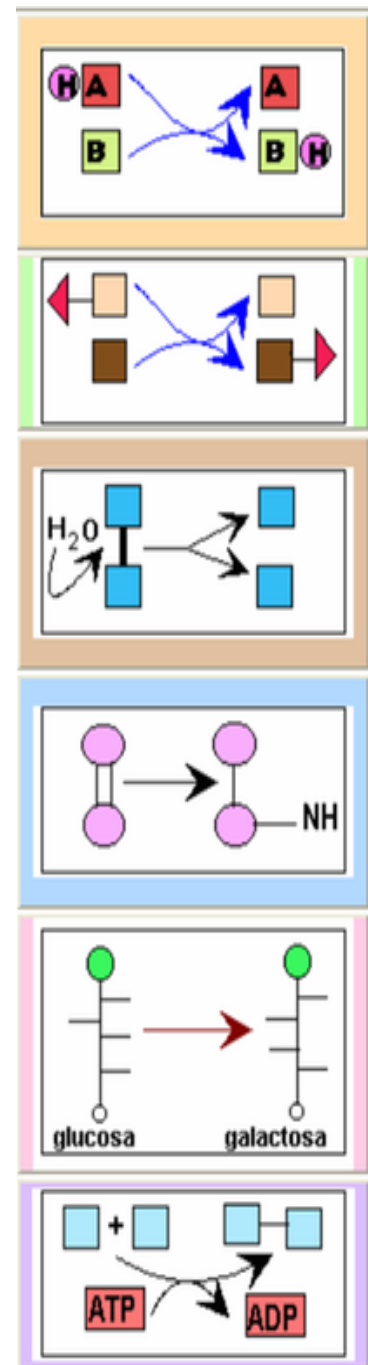
B9 i B12) que actuen en moltes vies metabòliques i en la formació de glòbuls vermells i la vitamina **C**, que intervé en la síntesi del col·lagen.

### 3.12 Nomenclatura i classificació dels enzims

Per anomenar un enzim, primer s'esmenta el nom del substrat; a continuació el nom del coenzim, si n'hi ha, i finalment el nom de la funció que fa generalment acabat en *-asa*.

#### Classes d'enzims:

- **Oxidoreductases:** Catalitzen reaccions d'oxidació o reducció del substrat.
- **Transferases:** Transfereixen radicals d'un substrat a un altre sense que en cap moment aquests radicals quedin lliures.
- **Hidrolases:** Trenquen enllaços amb l'addició d'una molècula d'aigua que s'escindeix i aporta un  $-OH$  a una part i un  $-H$  a l'altra. A aquest grup pertanyen els enzims digestius.
- **Liasas:** Separen grups sense intervenció d'aigua (sense hidròlisi) i generalment originen enllaços dobles a la molècula, o bé afegeixen grups ( $CO_2$ ,  $H_2O$ ,  $-NH_2$ ) a molècules amb enllaços dobles ( $-CO-$ ,  $-C=C$ ), que normalment els perden.
- **Isomerasas:** Catalitzen reaccions d'isomerització, és a dir, de canvi de posició d'algun grup d'una part a una altra de la mateixa molècula.
- **Ligases o sintetases:** Catalitzen la unió de molècules o grups amb l'energia proporcionada per la desfosforilació d'ATP.



## 4. PART EXPERIMENTAL 1: INFLUÈNCIA DE LA CONCENTRACIÓ I DE LA TEMPERATURA EN LA VELOCITAT D'UNA REACCIÓ

### 4.1 Introducció

Quan fem reaccionar tiosulfat de sodi amb àcid clorhídric obtenim en els productes sofre, que és un sòlid groc que enterboleix la dissolució a mesura que es produeix. En aquesta pràctica valorarem quant de ràpid passa això depenent de la concentració de tiosulfat de sodi amb què treballem i la temperatura de la dissolució.



### 4.2 Objectius

Veure com afecta l'augment de concentració dels reactius i l'augment de temperatura en la velocitat d'una reacció amb tiosulfat de sodi i àcid clorhídric.

### 4.3 Material

- Erlenmeyer de 250 mL
- Provetes i pipetes
- Vasos de precipitats
- Cronòmetre
- Paper blanc
- Font de calor
- Solució d'àcid clorhídric 2 M
- Solució de tiosulfat de sodi 28'5 g/L

### 4.4 Procediment

- Primerament necessitem preparar 500 mL d'una dissolució 2 M d'àcid clorhídric (HCl) (DS). Disposem d'una dissolució del 37% en massa d'àcid clorhídric (ds) i de densitat 1'19 g/cm<sup>3</sup>, per tant hem de calcular el volum que en necessitem

$$500 \text{ mL DS} \cdot \frac{2 \text{ mol HCl}}{1000 \text{ mL DS}} \cdot \frac{36'5 \text{ g HCl}}{1 \text{ mol HCl}} \cdot \frac{100 \text{ g ds}}{37 \text{ g HCl}} \cdot \frac{1 \text{ mL ds}}{1'19 \text{ g ds}} = \mathbf{82'89 \text{ mL ds}}$$

Necessitem 82'89 mL de la dissolució del 37% en massa d'HCl per obtenir 500 mL d'una dissolució 2 M d'àcid clorhídric.

- Seguidament necessitem 250 mL d'una dissolució 28'5g/L i disposem de tiosulfat de sodi pentahidratat, per tant hem de calcular quina massa de tiosulfat de sodi pentahidratat necessitem:

$$250\text{mL DS} \frac{28'5\text{g TSNa}}{1000\text{mL DS}} \cdot \frac{248\text{g TSNa}\cdot 5\text{H}_2\text{O}}{158\text{g TSNa}} = \mathbf{11'2 \text{ g TSNa}\cdot 5\text{H}_2\text{O}}$$

Necessitem 11'2 g de tiosulfat de sodi pentahidratat per obtenir 250 mL d'una dissolució 28'5 g/L de tiosulfat de sodi (DS).

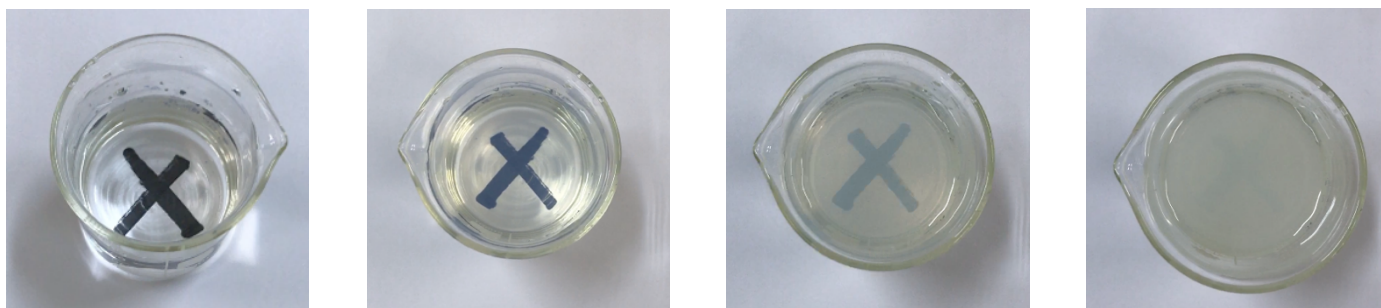
- Dibuiquem amb un permanent una creu en un paper blanc
- Preparem 5 vasos de precipitats, els tres primers estaran a temperatura ambient i contindran 40, 20 i 10 mL de dissolució de tiosulfat de sodi, i 10, 30 i 40 mL d'aigua respectivament per tal de tenir sempre un volum de dissolució de 50 mL. Els altres dos contindran 10mL de tiosulfat de sodi i 40 mL d'aigua però els escalfarem amb la font de calor fins a 40°C i 80°C respectivament.
- Finalment situarem cada vas al damunt de la creu en el paper blanc, afegirem 5 mL de la dissolució d'àcid clorhídric (HCl) i cronometrarem quant de temps tardem en deixar de veure la creu pintada a causa de l'enterboliment de la solució degut al sofre que s'ha produït.

#### 4.5 Resultats

En la taula següent es pot veure el temps que hem tardat en deixar de veure la creu del paper en funció del volum de tiosulfat i de la temperatura i la velocitat de la reacció en cadascuna de les 5 experiències:

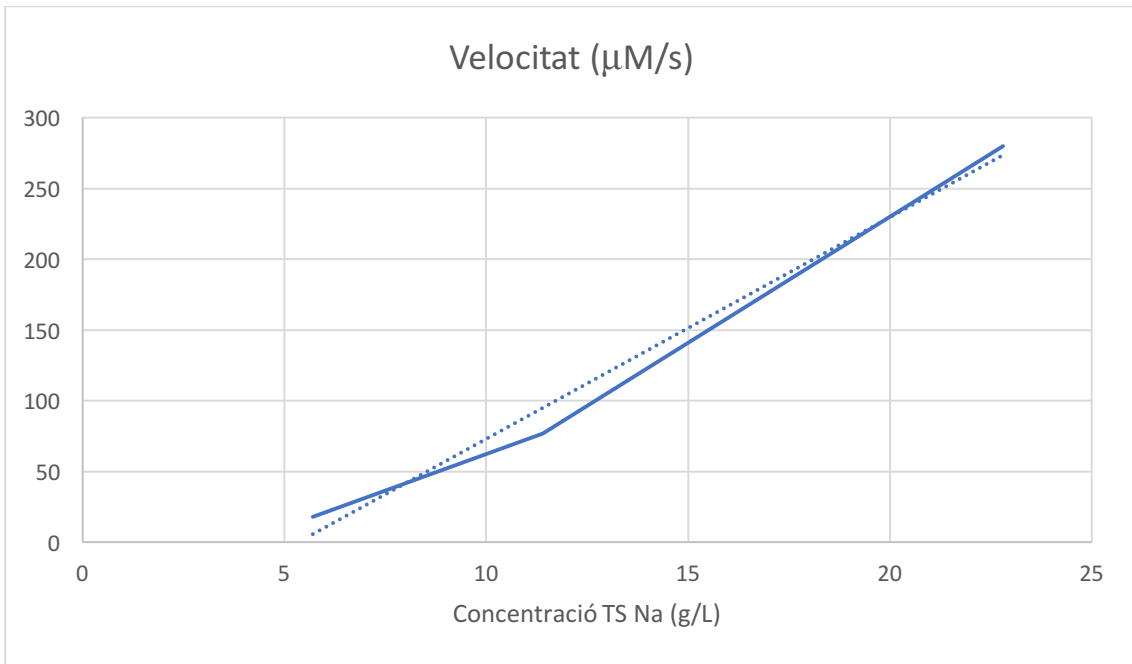
	T (°C)	Volum de tiosulfat	Volum d'aigua	Temps	Concentració Ts Na	Velocitat de reacció
<b>Experiència 1</b>	Ambient (20°C)	40 mL	10 mL	25'97 s	22'8 g/L	280 $\mu\text{M/s}$
<b>Experiència 2</b>	Ambient (20°C)	20 mL	30 mL	46'85 s	11'4 g/L	70 $\mu\text{M/s}$
<b>Experiència 3</b>	Ambient (20°C)	10 mL	40 mL	1 min 40'19 s	5'7 g/L	18 $\mu\text{M/s}$
<b>Experiència 4</b>	40°C	10 mL	40 mL	25'37 s	5'7 g/L	71 $\mu\text{M/s}$
<b>Experiència 5</b>	80°C	10 mL	40 mL	0'75 s	5'7 g/L	2400 $\mu\text{M/s}$

Les imatges següents mostren el procés d'enterboliment de la solució a l'afegir l'àcid clorhídric en diferents moments de l'experiència 3.

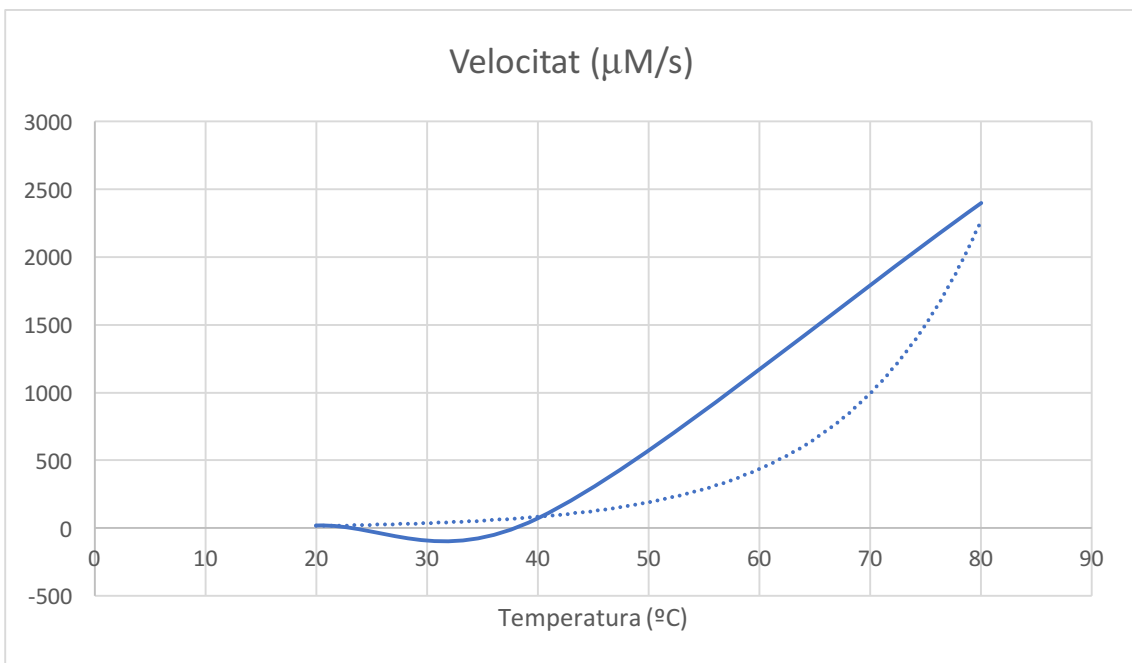


*Progressió de l'enterboliment en l'experiència 3*

4.5.1 Relació entre la concentració de tiosulfat de sodi i la velocitat de reacció en les experiències 1, 2 i 3



4.5.2 Relació entre la temperatura i la velocitat de reacció en les experiències 3, 4 i 5



## 4.6 Conclusions

A la vista dels resultats obtinguts, podem dir que la concentració dels reactius afecta la velocitat de reacció de manera que a major concentració, major velocitat. Això és degut a que a major concentració dels reactius s'incrementa la probabilitat de col·lisions eficaces. Si analitzem el primer gràfic, en què s'expressa la velocitat de reacció en micromols per segon en funció de la concentració de tiosulfat de sodi en grams per litre, podem observar que la velocitat de la reacció augmenta quasi proporcionalment a la velocitat de reacció; probablement, com que les dades a partir de les quals s'han fet els càlculs de la velocitat i de la concentració han sigut obtingudes de manera experimental, no s'obté una relació totalment proporcional entre les dues magnituds, tal com veiem en el gràfic. A més, com que només es van realitzar tres experiències, tenim poques dades per confeccionar un gràfic més precís.

No obstant les petites desviacions, podem observar que la velocitat de la reacció augmenta proporcionalment a la concentració d'un dels reactius, en aquest cas el tiosulfat de sodi. Això és degut a que en augmentar el nombre de partícules per unitat de volum es produeix un augment del nombre de col·lisions, que és la primera condició perquè les substàncies reaccionin.

La velocitat de la reacció augmenta molt amb la temperatura ja que s'incrementa la velocitat de les partícules i també el nombre de col·lisions. A més, a l'augmentar la temperatura també augmenta el nombre de partícules activades amb energia igual o superior a l'energia d'activació. Si analitzem el segon gràfic, en què s'expressa la velocitat de reacció en  $\mu\text{M}$  per segon en funció de la temperatura en graus centígrads, podem observar que la velocitat de reacció augmenta estrepitosament si es duplica la temperatura i encara més si es fa quatre cops més gran.

En conclusió podem afirmar que un petit augment en la temperatura produeix un gran augment de la velocitat de la reacció mentre que un augment en la concentració d'algun reactiu produeix un augment proporcional en la velocitat de la reacció. Per tant, la temperatura és un factor de major pes que la concentració dels reactius pel que fa a la influència en la velocitat de la reacció.

## 5. PART EXPERIMENTAL 2: ASSAIG ENZIMÀTIC PER A LA DETECCIÓ D'ÀCID OCADAIC

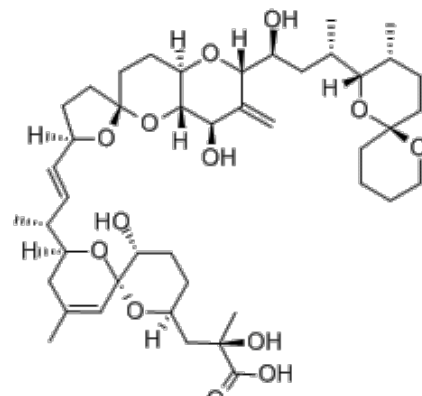
### 5.1 Introducció

L'àcid ocadaic és una toxina produïda per microalgues marines dels gèneres *Dinophysis* i *Prorocentrum*. La toxina s'acumula al marisc i dona lloc a la intoxicació diarreica després de la ingesta d'aquest marisc contaminat. El control sanitari dels mol·luscs és per tant necessari per tal de garantir que arriben al mercat lliure de toxines. Avui en dia, la legislació europea estableix un nivell màxim permès d'àcid ocadaic de 160 µg/kg de marisc. El mètode oficial per a la determinació quantitativa d'àcid ocadaic a Europa és la cromatografia líquida amb espectrometria de masses. Tanmateix, es tracta d'una tècnica molt cara i lenta, de manera que els mètodes ràpids són cada cop més necessaris. Un exemple és l'assaig enzimàtic per a la detecció d'àcid ocadaic, que ja es pot trobar en forma de kit comercial, com per exemple el kit ocadaic Acid-PP2A utilitzat en aquesta pràctica.

L'àcid ocadaic,  $C_{44}H_{68}O_{13}$ , és un potent inhibidor dels enzims proteïna fosfatases específiques i se sap que té una varietat d'efectes negatius sobre les cèl·lules.

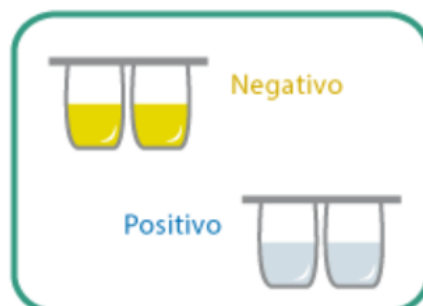
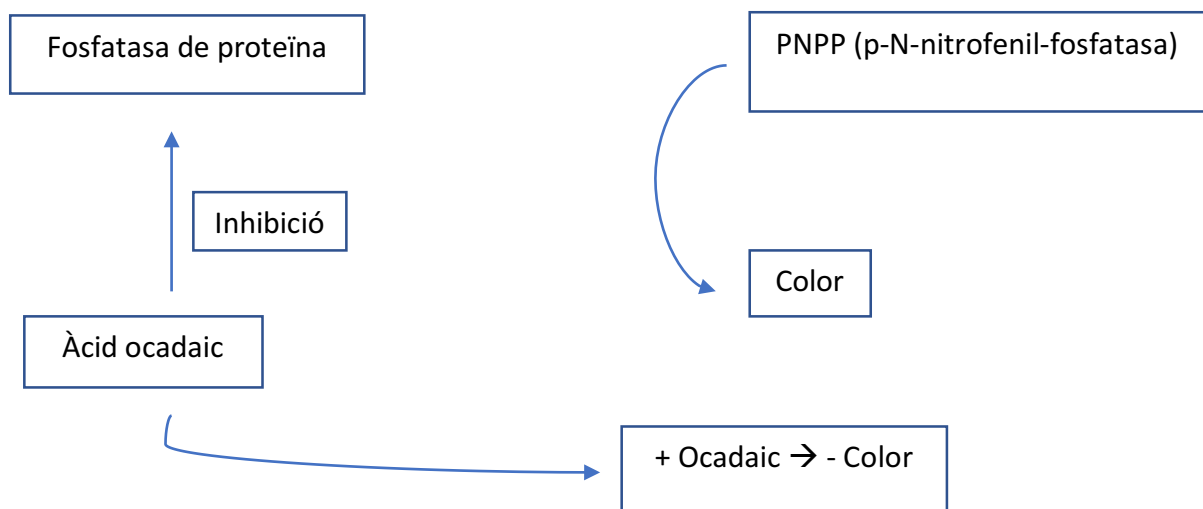
Al Japó, l'empresa farmacèutica Fujisawa va observar que l'extracte d'una esponja negra, *Halichondria okadai*, va ser una potent citotoxina la qual es va anomenar Halichondrine-A. L'any 1981, es va descobrir l'estructura d'aquesta toxina, l'àcid ocadaic, després d'haver estat extreta de l'esponja negra al Japó (*Halichondria okadai*) i també d'una esponja a la Florida Keys (*Halichondria melanodocia*).

En aquesta prova determinarem la concentració en el teixit de dues mostres de marisc obtingudes en èpoques de l'any diferents (hivern i estiu) i direm si serien aptes per al consum o no.



## 5.2 Principi de la prova

El kit ocadaic Acid-PP2A és un assaig colorimètric basat en la inhibició de l'activitat de l'enzim fosfatasa per part de l'àcid ocadaic. L'enzim fosfatasa PP2A és capaç d'hidrolitzar un substrat específic, produint un producte que es pot detectar a 405 nm. Les mostres que contenen toxines del grup d'àcid ocadaic inhibiran l'activitat enzimàtica proporcionalment a la quantitat de toxina continguda a la mostra. La concentració de toxina a la mostra es pot calcular utilitzant una corba estàndard. Aquest mètode és aplicable a espècies de mol·luscs com ara musclos, cloïsses, vieires i ostres.



### 5.3 Material i reactius

Material i reactius del kit:

**1.- Estàndards d'àcid ocadaic** a cinc concentracions diferents: 0.5, 0.8, 1.2, 1.8 i 2.8 nM. per assegurar-se que aquestes solucions siguin homogènies, és molt important mesclar bé amb un vòrtex, abans d'aplicar-se al plat.



*Recipients que contenen els estàndards d'àcid ocadaic*

**2.- Solució de substrat cromogènic** que conté para-Nitrophenylphosphate (pNPP).



*Recipient que conté el substrat cromogènic.*

**4.- Enzim fosfatasa liofilitzat.** Per a preparar la solució de fosfatasa s'afegeixen 2 ml de solució tampó de dilució de fosfatasa (també inclosa al kit) al vial que conté la fosfatasa liofilitzada i es dissol barrejant durant 1 hora a temperatura ambient ( $22 \pm 2$  °C) per garantir que l'enzim estigui hidratat completament. Aquesta solució s'ha d'utilitzar immediatament després de la seva preparació. També es pot emmagatzemar sota

refrigeració i utilitzar-se al dia següent. Aquest reactiu és blau i es torna bronzejat quan es dissol.



*Recipient que conté l'enzim.*

**5.- Solució de tampó:** es dilueix la solució mitjançant la mescla de 1 volum amb 9 volums d'aigua desionitzada. Aquesta solució s'ha d'utilitzar immediatament després de la seva preparació. També es pot emmagatzemar sota refrigeració i utilitzar-se al dia següent.

**6.- Solució de parada:** Hidròxid de sodi (NaOH)

**7.-** Placa de 96 pous

#### **Altres materials i reactius necessaris**

- Pel·lícula adhesiva o para film
- Micro-pipetes amb puntes de plàstiques d'un sol ús (10-200 i 200-1000  $\mu\text{L}$ )
- Lector de plaques
- Temporitzador
- Aigua destil·lada
- Mesclador vòrtex
- Escalfador
- Bany d'aigua
- Tubs de centrifugació de 50 ml graduats amb tapes roscades
- Agitador de tubs
- Metanol
- NaOH de 2,5 M
- HCl 2,5 M

## 5.4 Procediment de l'assaig

### **Advertència:**

El volum d'alguns reactius utilitzats en aquest assaig és petit i s'ha de prestar una atenció especial quan s'afegeix als pous:

- Cal assegurar-se que les pipetes es calibren abans d'executar l'assaig.
- Cal utilitzar pipetes segons els volums que es posaran, amb un volum màxim de 100 o 200 µL.
- Cal assegurar-se que la temperatura de la incubadora s'estabilitzi abans d'usarla.

Es recomana executar mostres i estàndards per duplicat.

El protocol consta de dues parts: l'extracció de les toxines a partir de mostres de múscol i, posteriorment, l'assaig enzimàtic.

**A. Extracció de les toxines:** es tracta d'una extracció metanòlica que inclou un pas d'hidròlisi per detectar totes les formes tòxiques d'àcid ocadaic (àcid ocadaic i dinofisistoxines). Es van fer dues extraccions (MOSTRA 1 i MOSTRA 2) a partir de dos conjunts de múscols obtinguts a dues èpoques diferents (hivern i estiu) a la badia dels Alfacs (Sant Carles de la Ràpita).

- 1.- Netejar la closca a fons utilitzant aigua
- 2.- Obrir els múscols tallant els músculs de l'abductor.
- 3.- Rentar a l'interior de la closca a fons per desfer-se de la brutícia.
- 4.- Treure el teixit dins de la closca tallant tots els músculs enganxats a la closca.
- 5.- Col·locar el teixit de múscol en un paper de filtre durant uns minuts per eliminar l'aigua en excés.
- 6.- Pesar 5 g del teixit de múscol, afegir 25 mL de metanol (utilitzar tubs de centrifugació de 50 ml graduats) i homogeneïtzar la barreja durant 2 minuts utilitzant un coctelera de tub.

7.- Centrifugar a 2000 g<sup>2</sup> durant 10 min a 4°C. El sobrenedant (extracte metanòlic) s'aboca en un tub de centrifugació.

8.- Agafar 640 µL d'extracte metanòlic i abocar a un altre tub de centrifugació.

9.- Afegir 100 µL de solució 2,5 M NaOH.

10.- Escalfar a 76 °C durant 40 minuts.

11.- Afegir 80 µL de solució HCl de 2,5 M (la mostra no necessita ser refredada prèviament).

12.- Afegir 20 mL de solució tampó x1.

## **B. Assaig enzimàtic**

1.- Homogeneïtzar els estàndards i les mostres amb un vòrtex. Posteriorment, afegir 50 µL de cada estàndards (5 en total) i cada mostra (2 en total) a la placa de 96 pous. Cada estàndard i mostra es fa en triplicat. Per tant, s'utilitzen un total de 24 pous de la placa.



*Micro-pipeta de precisió 10 – 200µL*

---

<sup>2</sup> Gravetat: unitat de velocitat angular.

2.- Afegir 70  $\mu$ L de la solució de fosfatasa a cada pou.



*Afegint la solució de fosfatasa*

3.- Cobrir la placa amb la pel·lícula adhesiva i incubar durant 20 minuts a  $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$  amb agitació. Abans de posar la placa a l'escalfador, cal assegurar-se que ha assolit la temperatura desitjada.



*Escalfador*

4.- Treure la pel·lícula adhesiva i afegir 90  $\mu$ L de substrat cromogènic a cada pou.

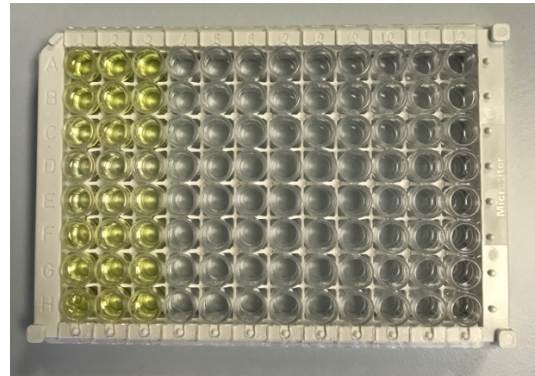
5.- Tapar la placa amb la pel·lícula adhesiva i incubar 30 minuts a  $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$  amb agitació.

6.- Treure la pel·lícula adhesiva i afegir immediatament 70  $\mu$ L de solució de parada a cada pou.

7.- Llegir l'absorbància de mostres i estàndards a 405 nm utilitzant el lector de plaques.



Lector de plaques



Resultats de la placa

### 5.5 Càlculs i representació gràfica de resultats

Volem obtenir una corba estàndard traçant els valors d'absorbància en un eix lineal i la concentració d'àcid ocaidaic en un eix x logarítmic i utilitzant un ajust logarítmic.

$R^2$  ha de ser superior o igual a 0,96.

Determinarem de la concentració de la toxina (àcid ocaidaic) en dues mostres de teixit de marisc i així podrem determinar si serien aptes per al consum. Per a fer-ho, buscarem en la nostra corba de calibrat el valor d' $x$  (concentració en la mostra nM) a partir del valor d' $y$  (absorbància) obtingut de manera experimental mitjançant l'equació següent:

$$x = e^{\frac{y-b}{a}}$$

On  $x$  és la concentració en la mostra ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) i  $y$  l'absorbància de la mostra (unitats arbitràries).

Un cop obtingut el valor de la concentració de la toxina en la mostra, el substituïrem en l'equació següent per a determinar la concentració en el teixit.

$$\text{Conc AO teixit} = \frac{\text{Conc mostra} \cdot \text{FD EM} \cdot m \text{ molar AO} \cdot V \text{ EM}}{m \text{ teixit}}$$

- Concentració AO en el teixit:  $\mu\text{g}/\text{kg}$
- Concentració AO en la mostra:  $x$  nM
- FD EM (factor dilutiu de l'extracte metanòlic): 31'25  $\mu\text{L}/\text{mL}$
- m molar AO (massa molar de l'àcid ocaidaic): 805 g/mol

- V EM (molum d'extracte metanòlic): 0'025L
- M teixit (massa del teixit)t: 5 g

**Resultats d'absorbància:**

	<b>Replicat 1</b>	<b>Replicat 2</b>	<b>Replicat 3</b>	<b>Mitjana</b>	<b>SD</b>	<b>RSD</b>
<b>blanc</b>	2,509	2,333	2,338	2,393	0,100	4,187%
<b>MOSTRA 2</b>	1,915	1,915	1,764	<b>1,865</b>	0,087	4,675%
<b>MOSTRA 1</b>	1,156	1,274	1,103	<b>1,178</b>	0,088	7,433%
<b>2,8 nM</b>	0,595	0,719	0,456	0,590	0,132	22,300%
<b>1,8 nM</b>	0,799	0,853	0,857	0,836	0,032	3,873%
<b>1,2 nM</b>	1,22	1,265	1,165	1,217	0,050	4,116%
<b>0,8 nM</b>	1,663	1,713	1,559	1,645	0,079	4,776%
<b>0,5 nM</b>	1,943	1,967	1,84	1,917	0,067	3,520%

**Replicats 1, 2 i 3:** Cadascuna de les experiències fetes exactament en les mateixes condicions.

**Mitjana:** Resultat d'absorbància obtingut a partir de fer la mitjana dels tres replicats.

**SD:** Desviació estàndard.

**RSD:** Desviació estàndard relativa.

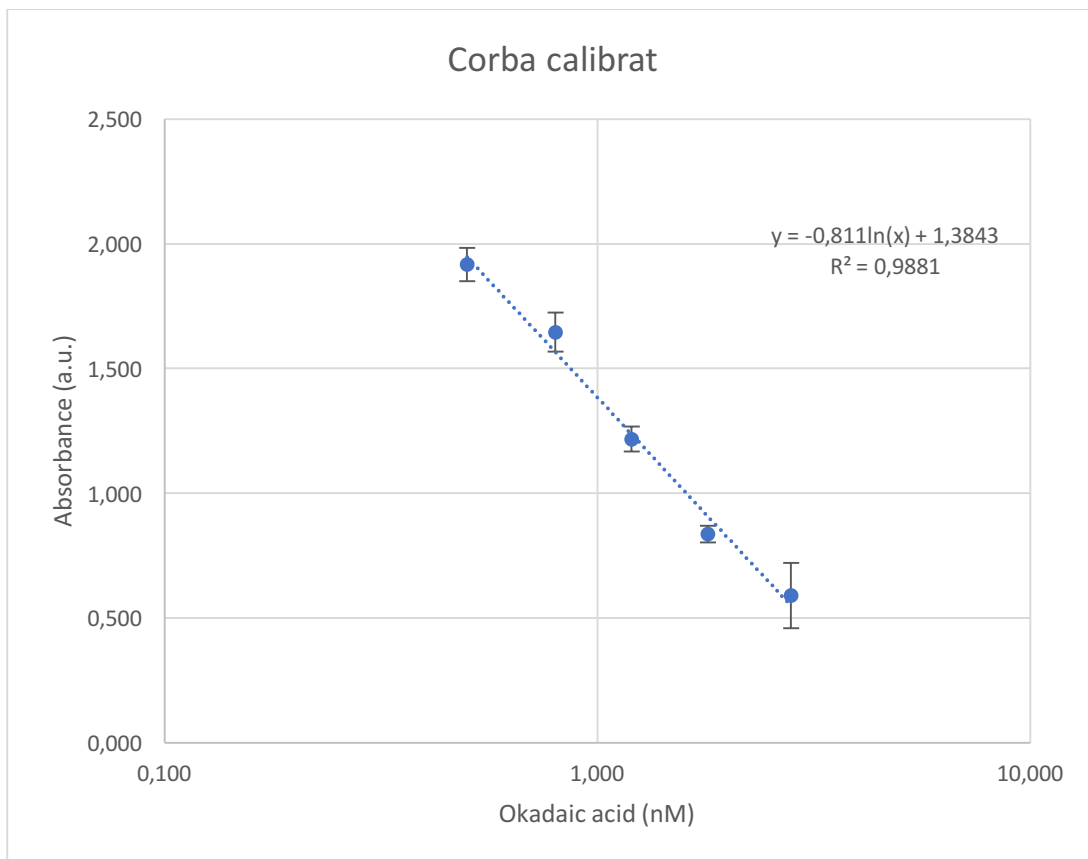
En aquesta taula s'expressen els valors d'absorbància en cadascuna de les experiències amb diferents concentracions i amb les dues mostres amb concentracions desconegudes.

**Blanc:** Experiència realitzada sense presència de l'inhibidor

**Mostres 1 i 2:** Mostres de marisc de les quals no se'n coneix la concentració d'àcid ocaidaic.

**Estàndards d'àcid okadaic:** Experiències realitzades amb concentracions de la toxina conegudes (0'5 nM, 0'8 nM, 1'2 nM, 1'5 nM i 1'8 nM)

Corba de calibrat obtinguda a partir de l'absorbància de les mostres amb concentracions d'àcid okadaic conegudes:



**Mostra 1:** La primera mostra ha presentat una absorbància de 1'178, segons la corba de calibrat la concentració en la primera mostra nM és:

$$x_1 = e^{\frac{1'178 - 1'3843}{-0'811}} = \mathbf{1'290 \text{ nM}}$$

Per tant, la concentració en el primer teixit expressada en  $\mu\text{g}/\text{kg}$  és:

$$\text{Concentració en el teixit 1} = \frac{1'290 \cdot 31'25 \cdot 805 \cdot 0'025}{5} = \mathbf{162'26 \mu\text{g}/\text{kg}}$$

**Mostra 2:** La primera mostra ha presentat una absorbància de 1'865, segons la corba de calibrat la concentració en la segona mostra nM és:

$$x_2 = e^{\frac{1,865-1,3843}{-0,811}} = \mathbf{0'553 \text{ nM}}$$

Per tant, la concentració en el segon teixit expressada en µg/kg és:

$$\text{Concentració en el teixit 2} = \frac{0,553 \cdot 31,25 \cdot 805 \cdot 0,025}{5} = \mathbf{34'78 \text{ µg/kg}}$$

## 5.6 Conclusions

A la vista dels resultats obtinguts d'absorbància, expressats en la taula que va confeccionar el programa que controla la màquina d'espectres, podem dir que:

- A major concentració de la toxina (àcid ocadaic), menor és el valor de l'absorbància. Això vol dir que com més ha actuat l'inhibidor, menys groga s'ha tornat la solució. Una menor intensitat de color groc en la solució és indicador d'una menor activitat enzimàtica ja que quan l'enzim proteïna fosfatasa actua sobre el substrat PNPP aquest es torna groc, la qual cosa passa en menor proporció si l'enzim és en inhibit per l'àcid ocadaic.
- Els resultats d'absorbància dels blancs (replicats sense presència d'àcid ocadaic) són coherentment els més grans perquè són les experiències en que l'enzim ha actuat totalment i per tant la solució s'ha tornat més groga.
- En la majoria dels replicats en les mateixes condicions s'han obtingut resultats d'absorbància similars. No obstant, en els replicats de concentració 2'8 nM el valor de la RSD és del 22'300%, a diferència dels altres casos en que el valor de la RSD oscil·la entre el 3 i el 8%. Com que la causa de la desviació de la RSD és que el replicat 2 té un valor més alt que els dels replicats 1 i 3, potser la causa és que no s'ha produït la inhibició correctament perquè no s'ha agitat el tubet adequadament.

Un cop fetes les anàlisis de les dues mostres amb una concentració desconeguda d'àcid ocadaic, de les quals una va ser obtinguda a l'hivern i l'altra a l'estiu, comparades amb la corba de calibrat creada experimentalment a partir d'uns estàndards d'àcid ocadaic

amb concentracions conegudes amb una màquina d'espectres, i fets els càlculs corresponents, hem obtingut uns resultats que ens indiquen el següent:

- La primera mostra no seria apta per al consum perquè la concentració d'àcid ocadaic supera lleugerament el límit establert de 160 µg d'àcid ocadaic per kg de marisc.
- La segona mostra seria perfectament apta per al consum ja que la seva concentració d'àcid ocadaic és molt inferior al límit establert.

Cal remarcar que la mostra més contaminada és del mes de desembre i la menys contaminada correspon al més de juny. Habitualment hi ha més contaminació quan fa fred a causa que les algues deixen anar la toxina que capten els musclos.

Per poder conèixer la toxicitat al llarg de tot l'any, seria interessant realitzar la mateixa experiències amb mostres de les dues estacions intermèdies (primavera i tardor).

## 6. CONCLUSIONS

En el transcurs del meu treball de recerca he après sobre la cinètica química, que m'ha ajudat a entendre per què les reaccions químiques són més o menys ràpides, així com els models matemàtics que determinen numèricament la velocitat de les reaccions.

M'ha sorprès saber com unes substàncies que en un principi són els reactius poden esdevenir unes altres totalment diferents, amb propietats físiques i químiques que no tenen res a veure amb les de les substàncies que teníem al principi, i que no es transformen de qualsevol manera, sinó que existeix un mecanisme de reacció per a cada reacció química que és un conjunt de processos secundaris que es produeixen durant la reacció i que tenen molt a veure amb la rapidesa d'una reacció.

He vist que existeixen diverses teories de les reaccions químiques que entre totes intenten explicar com es produeixen.

Gràcies a la recerca activa d'informació, la consulta de diversos llibres i de pàgines web durant el meu treball, he conegut tots els factors que intervenen en la velocitat de les reaccions químiques, de quina manera ho fan i quins són més determinants.

Bàsicament, el que condiciona la velocitat de les reaccions és l'eficàcia dels xocs de les partícules i existeixen diversos factors externs a la reacció que fan variar aquesta eficàcia, com per exemple la concentració dels reactius. Si la concentració augmenta, també ho fa la velocitat de la reacció proporcionalment, tal com he pogut comprovar en la primera part experimental. La temperatura és un altre element que intervé en l'eficàcia dels xocs, de manera que un petit augment de temperatura suposa un gran augment de l'eficàcia d'aquests xocs, fet que també he pogut comprovar en la primera part experimental. L'estat físic dels reactius també és un element important a l'hora de fer canviar la velocitat d'una reacció ja que com més gran és la possibilitat de contacte entre partícules, més col·lisions es produiran entre les molècules dels reactius. La naturalesa química dels reactius també s'ha de tenir en compte quan parlem de velocitat de reacció ja que com més enllaços hi hagi en els reactius i més forts siguin, més lentament es produirà la reacció.

Els catalitzadors, que són substàncies que modifiquen la velocitat de reacció sense després aparèixer en els productes, subministren nous camins pels quals es pot produir una reacció amb una energia d'activació menor, és a dir, més ràpidament.

Dins dels tipus de catalitzadors trobem els de contacte, els transportadors, els negatius, els autocatalitzadors... Però el tipus de catalitzadors que a mi més m'ha interessat són els enzims, que són les substàncies que intervenen en la velocitat de les reaccions biològiques. Els enzims són substàncies molt diverses, complexes i amb moltes propietats que són indispensables pels éssers vius ja que sense elles, reaccions que es produirien en dècimes de segon, tardarien anys en acabar-se, cosa que els éssers vius no ens podríem permetre per viure.

M'ha semblat molt interessant conèixer que les vitamines són coenzims, és a dir, parts d'alguns enzims imprescindibles perquè funcionin, cosa que m'ha fet comprendre per què és tan important consumir vitamines.

He investigat que existeixen factors que afecten l'activitat enzimàtica i un d'ells són els inhibidors, que són substàncies que disminueixen l'activitat d'un enzim o fins i tot poden inhabilitar-lo totalment. Els enzims tenen una part que és el centre actiu, i segons com es vegi afectat podem classificar els inhibidors en irreversibles i reversibles. Quan la molècula de l'inhibidor és similar al substrat competeix amb aquest per fixar-se al centre actiu parlem d'inhibició reversible competitiva en què es disminueix la velocitat de la reacció proporcionalment a la concentració d'inhibidor. Aquest tipus d'inhibició ha sigut la base de la meva segona part experimental.

En la meva primera part experimental, que he realitzat al laboratori del meu institut, he pogut comprovar com influeix la temperatura i la concentració dels reactius en la velocitat d'una reacció i he vist que la temperatura és una factor de major pes que la concentració gràcies a diverses experiències que he realitzat amb diferents valors d'aquestes dues variables.

A més, com que en el moment de realitzar la pràctica no disposava dels reactius necessaris, he tingut l'oportunitat d'aprendre a preparar-los a partir d'altres substàncies que sí hi ha al laboratori i amb les concentracions que eren requerides, fet que em va permetre fer una aplicació pràctica de l'estequiometria que vaig estudiar l'any passat.

En la meva segona part experimental, que ha consistit en un assaig enzimàtic per a la detecció d'àcid ocadaic en dues mostres de musclos, he pogut comprovar la inhibició reversible competitiva d'un enzim amb funcions importants en el nostre cos, la proteïna fosfatasa, per part d'una toxina present en els mol·luscs anomenada àcid ocadaic.

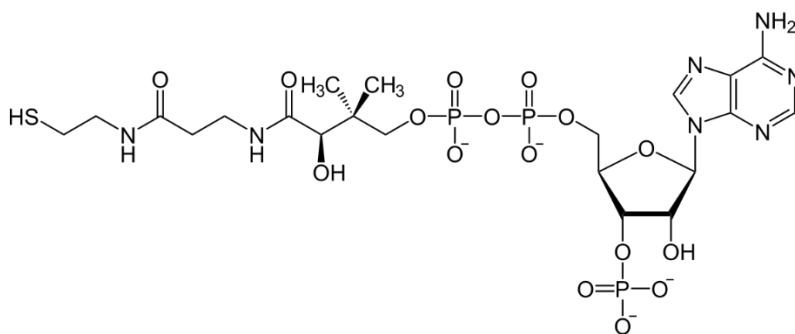
En fer aquesta pràctica en un laboratori de l'IRTA, he tingut la privilegiada oportunitat de treballar amb material de laboratori professional com pipetes de precisió, un lector de plaques, un mesclador vòrtex, tubs de centrifugació, agitador de tubs, una màquina d'espectres... Una experiència que a més de ajudar-me a comprovar i quantificar jo mateix una inhibició reversible competitiva d'un enzim, m'ha enriquit i m'ha permès conèixer un ambient de treball diferent i més professional que el del meu institut. A més, estic més convençut d'encaminar els meus estudis posteriors cap a la branca de la química i la biologia després d'aquesta experiència.

Com a projectiva del meu treball de recerca, m'agradaria poder realitzar experiències que em permetessin comprovar els altres factors que intervenen en la velocitat de les reaccions químiques.

## 7. ANNEXOS

### A. El coenzim-A

El coenzim A (CoA) és un coenzim de transferència de grups acil que participa en diverses rutes metabòliques (cicle de Krebs, síntesi i oxidació d'àcids grassos). Es deriva d'una vitamina: l'àcid pantotènic (vitamina B5), i és un coenzim lliure.



*Coenzim-A*

El coenzim A consta de tres parts: un "cos" compost per vitamina B5 (àcid pantotènic), un "cap" format pel nucleòtid adenosin difostat (ADP) i una cua de beta-mercaptoetilamina. La zona més important de la cua és el grup sulfhidril (SH-), ja que és el lloc on altres grups i molècules s'uneixen al coenzim A.

A la cua de la Coenzim A s'hi poden enllaçar diverses molècules i grups per formar àcids grassos. Per exemple, se li pot enllaçar un grup acetil. Un grup acetil és simplement un carboni amb tres hidrògens units a un carboni que està unit a un altre grup i doblement unit a un oxigen (CH<sub>3</sub>-CO-). Quan un grup acetil s'afegeix a la cua del coenzim A (CoA), tota la molècula es coneix com Acetil-CoA (acetil-coenzim A). El lloc d'enllaç és el grup sulfhidril o tiol (-SH). Aquesta part reactiva de la tioetanolamina es simbolitza sovint com HS-CoA (o CoA-SH). Per tant, la reacció amb un àcid carboxílic forma un enllaç acil tioèster ric en energia.

#### Funcions del Coenzim-A

Ja que el coenzim A és químicament un tiol, pot reaccionar amb els àcids carboxílics per formar tioèsters, funcionant així com un transportador de grups acil. Assisteix en la transferència d'àcids grassos des del citoplasma a les mitocondries. Una molècula de coenzim A que transporta un grup acetil es coneix com acetil-CoA. Quan no porta grup acil generalment s'anomena CoASH o HSCoA.

### Grups acil transportats pel Coenzim A:

- Acetil-CoA.
- Propionil-CoA.
- Acetatacetil-CoA.
- Cumaril-CoA (utilitzat en la biosíntesi de flavonoides)
- Derivats acil d'àcids dicarboxílics: malonil-CoA, succinil-CoA, hidroximetilglutaril-CoA (utilitzat en la biosíntesi d'isoprenoides) i pimelil-CoA (utilitzat en la biosíntesi de biotina).
- Butiril-CoA.

## B. Proteïna fosfatasa

La proteïna fosfatasa és l'enzim que he investigat en la segona part experimental.

És una fosfoproteïna fosfatasa (PPP) del grup de les proteïnes serina / treonina fosfatases present en les cèl·lules eucariotes regulant moltes funcions cel·lulars mitjançant la interacció del seu subunitat catalítica (PP1c) amb més de 50 subunitats reguladores. Juntament amb la proteïna fosfatasa 2A catalitza la major part de les reaccions de desfosforilació de dotzenes de fosfoproteïnes cel·lulars, contrarestant l'acció de més de 500 proteïnes quinases.

La proteïna fosfatasa elimina el grup fosfat unit a un aminoàcid serina o treonina d'un ampli rang de fosfoproteïnes incloent alguns enzims que han estat fosforilats sota l'acció d'una quinasa. Són molt importants en el control d'esdeveniments intracel·lulars en cèl·lules eucariotes.

La proteïna fosfatasa és essencial per a la divisió cel·lular i participa en la regulació del metabolisme del glicogen, contractilitat del múscul i síntesi de proteïnes. Està involucrat en la regulació de les conductàncies iòniques i en la plasticitat sinàptica. Pot tenir un paper important en defosforilar substrats com la calci / calmodulina-dependent proteïna quinasa II. Necessita com a cofactors un ió ferro i un ió manganès.

## C. Instruccions d'ús, seguretat, emmagatzematge i estabilitat en el test de la pràctica 2:

### 1. Descripció general

Aquest protocol especifica un mètode per a la determinació quantitativa d'àcid ocadaic (OA) i altres toxines carboxíliques del grup OA incloent DTX1, DTX2 i DTX3 mitjançant un assaig d'inhibició colorimètrica de fosfatasa. Aquest mètode és aplicable a espècies de marisc com ara musclos, cloïsses, ostres i vieires.

### 2. Instruccions de seguretat

Les solucions estàndard en aquest kit de prova contenen petites quantitats d'àcid ocadaic en solució. Cal evitar el contacte de solucions estàndard i de parada amb la pell i les membranes mucoses. Si aquests reactius entren en contacte amb la pell, s'ha de rentar amb aigua.

Recomanació: s'ha de prevenir el material de polipropilè a través de la recollida, conservació i tractament de mostres, ja que s'ha demostrat que es produeix la pèrdua de toxines.

### 3. Emmagatzematge i estabilitat

El kit ocadaic Acid-PP2A s'ha d'emmagatzemar a la nevera (4-8°C) abans de l'ús i protegit de la llum. Les solucions s'han de permetre arribar a la temperatura ambient (20-25°C) abans de l'ús. Els reactius es poden utilitzar fins a la data de caducitat de la caixa.

#### D. Limitacions de l'assaig de la fosfatasa d'ocadaic, possibles interferències en la prova.

S'han provat nombrosos compostos orgànics i inorgànics que s'obtenen habitualment a les mostres i no poden interferir amb aquesta prova. No obstant això, a causa de l'alta variabilitat dels compostos que es poden trobar en mostres d'aigua, les interferències de prova provocades pels efectes matricials no poden ser excloses del tot.

Les equivocacions en el maneig de la prova també poden provocar errors. Les possibles fonts d'aquests errors poden ser:

- Condicions d'emmagatzematge inadequades del kit de prova.
- Seqüències de pipetes incorrectes o volums incorrectes dels reactius.
- Temps de incubació massa llargs o molt curts durant l'assaig i/o reacció del substrat.
- Temperatures extremes durant el rendiment de la prova (inferior a 10°C o superior a 40°C).

El procediment d'assaig s'ha de fer fora de la llum solar directa.

Igual que amb qualsevol tècnica analítica (GC, HPLC, bioassaig de ratolí, etc ...), els resultats positius que requereixen una certa acció han de ser confirmats per un mètode alternatiu.

## E. Informació addicional sobre la preparació de les solucions de la pràctica

2:

### 1. Estàndards d'àcid ocaidaic:

Per assegurar-se que aquestes solucions siguin homogènies, és molt important mesclar bé amb un vòrtex, abans d'aplicar-les al plat.

### 2. Solució de substrat cromogènic:

La solució conté resina d'estabilització. Cal assegurar-se que aquesta resina no s'afegeixi a les microones. Per a fer-ho, es recomana transferir el volum necessari a un tub d'assaig o eppendorf i prendre la solució d'aquest contenidor per afegir-la als pous.

Nota: No utilitzeu aquesta solució si l'absorció de 90  $\mu$ L d'aquesta solució a 405 nm és superior a 0,6

### 3. Solució de la fosfatasa:

Afegir 2,0 mL de solució tampó de dilució de fosfatasa (tampó de dilució de fosfatasa) a un dels vials de fosfatasa i dissoldre-la barrejant suaument durant 1 hora  $\pm$  5 minuts a temperatura ambient ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) per garantir que l'enzim estigui completament hidratat.

Cal evitar utilitzar el cofre del tub en qualsevol moment. Aquesta solució s'ha d'emmagatzemar sota refrigeració si no s'utilitza immediatament després de la seva preparació.

Cada vial d'enzim conté un volum suficient per a 24 pous.

Si s'utilitza més d'un vial en l'assaig, cal dissoldre cada vial tal com s'ha descrit anteriorment, s'ha de realitzar un grup amb el contingut dels vials i barrejar-lo suaument, per inversió, abans d'usar-lo.

\* Atenció: aquest reactiu és blau i es torna bronzejat quan es dissol. Si es nota el color marró abans de la hidratació, cal descartar aquest reactiu ja que es podria danyar.

### 4. Solució de tampó:

Cal diluir la solució de reserva d'estoc inclosa al kit mitjançant la mescla de 1 volum amb 9 volums d'aigua desionitzada. S'ha la solució buffer x1 només feta recentment i

emmagatzemar-la sota refrigeració si no s'utilitza immediatament després de la seva preparació.

5. NaOH de 2,5 M:

Cal pesar 100 g de NaOH, afegir-hi 500 mL d'aigua i dissoldre-ho. Seguidament, cal transferir la dissolució a un matràs de volum i afegir-hi aigua desionitzada fins a un volum final de 1000 mL.

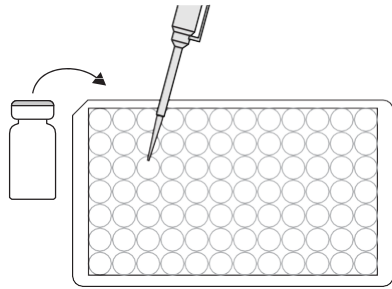
6. HCl 2,5 M:

Cal afegir 205 ml de HCl (37%) a 400 mL d'aigua desionitzada ja continguda en un matràs volumètric. Seguidament, cal afegir aigua desionitzada fins a un volum final de 1000 mL.

F. Descripció gràfica del procediment de l'assaig en la pràctica 2 (a la pàgina següent).

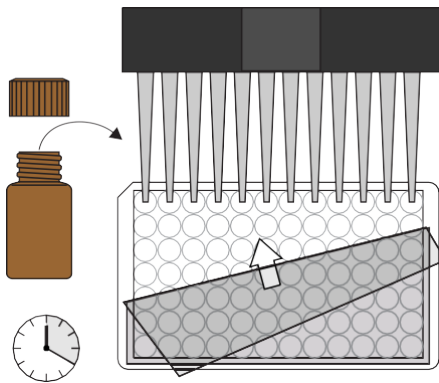
## 1. Addition of Standards, Samples

Add 50  $\mu$ L of the standard solutions, and samples into the wells of the test strips according to the working scheme given. We recommend using duplicates or triplicates.



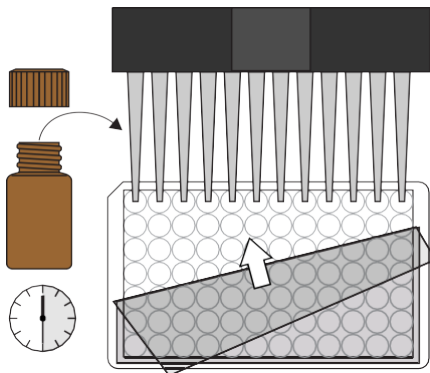
## 2. Addition of Phosphatase Solution

Add 70  $\mu$ L of the Phosphatase solution to the individual wells successively using a multi-channel pipette or a stepping pipette. Incubate the strips for 20 min at 30°C.



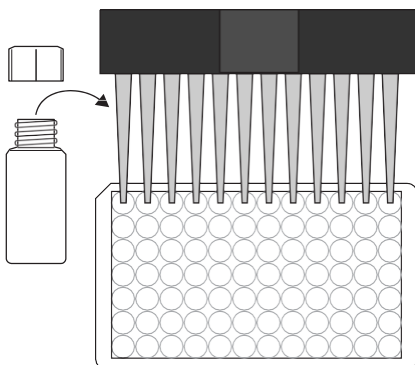
## 3. Addition of Chromogenic Substrate

Add 90  $\mu$ L of the Chromogenic Substrate to the individual wells successively using a multi-channel pipette or a stepping pipette. Cover the wells with parafilm or tape and mix the contents by moving the strip holder in a rapid circular motion on the benchtop. Be careful not to spill contents. Incubate the strips for 30 min. at 30°C.



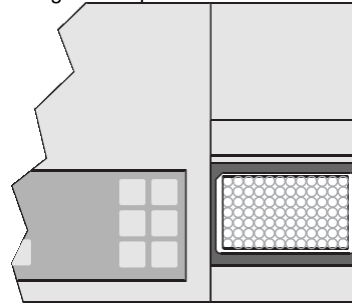
## 4. Addition of Stopping Solution

Add 70  $\mu$ L of stop solution to the wells in the same sequence as for the substrate solution using a multi-channel pipette or a stepping pipette.



## 5. Measurement of Color

Read the absorbance at 405 nm using a microplate ELISA reader.



Calculate results.

For Ordering or Technical Assistance Contact:  
ABRAXIS, LLC  
54 Steamwhistle Drive, Warminster, PA 18974  
Phone: 215-357-3911 Fax: 215-357-5232  
[www.abraxiskits.com](http://www.abraxiskits.com)

## 8. BIBLIOGRAFIA

### LLIBRES:

- Odile Viratelle, "Enzimologia".
- Lubert Stryer, "Bioquímica, cuarta edición". Editorial Reverte, S. A.
- José Antonio Gómez Capilla, Carolina Gómez Llorente, "Iniciación al estudio de la Bioquímica". Editorial Anaya.
- Pere Castells i Esqué, Núria Riba i Soldevila, Francesc Andreu i Mateu, "Química 2". Editorial McGrawHill.
- Antonio Jimeno Fernández, Luis Ugedo Ucar, Santiago Rodríguez Rodríguez, "Biología 2". Editorial Santillana

### PÀGINES WEB

#### Factors que intervenen en la velocitat de reacció

##### **a) La concentració dels reactius**

<https://www.quimicaparaingenieros.com/efecto-de-la-concentracion-sobre-la-velocidad/>

[http://www.pps.k12.or.us/district/depts/edmedia/videoteca/curso3/htmlb/SEC\\_81.HTM](http://www.pps.k12.or.us/district/depts/edmedia/videoteca/curso3/htmlb/SEC_81.HTM)

##### **b) La temperatura**

[http://www.pps.k12.or.us/district/depts/edmedia/videoteca/curso3/htmlb/SEC\\_81.HTM](http://www.pps.k12.or.us/district/depts/edmedia/videoteca/curso3/htmlb/SEC_81.HTM)

[https://www.google.com/search?q=influencia+de+la+temperatura+en+la+velocidad+de+reaccion&client=safari&rls=en&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjLyerBmujfAhWG3eAKHdrcDSAQ\\_AUIDigB&biw=1324&bih=802#imgrc=bD6na4Cmx5CNYM](https://www.google.com/search?q=influencia+de+la+temperatura+en+la+velocidad+de+reaccion&client=safari&rls=en&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjLyerBmujfAhWG3eAKHdrcDSAQ_AUIDigB&biw=1324&bih=802#imgrc=bD6na4Cmx5CNYM)

##### **c) L'estat físic dels reactius**

<https://quimica.laguia2000.com/reacciones-quimicas/factores-que-afectan-a-la-velocidad-de-reaccion>

##### **d) Els catalitzadors**

[https://es.wikipedia.org/wiki/Energ%C3%ADa\\_de\\_activaci3n](https://es.wikipedia.org/wiki/Energ%C3%ADa_de_activaci3n)

<https://ca.wikipedia.org/wiki/Adsorció>

### **Biocatalitzadors o enzims**

[http://www.edu.xunta.gal/centros/iespuntacandieira/system/files/05\\_Enzimas.pdf](http://www.edu.xunta.gal/centros/iespuntacandieira/system/files/05_Enzimas.pdf)

[http://www.joaquinrodriguezpiaya.es/2\\_Bachillerato\\_Biologia/Bioquimica/Biocatalizadores/index\\_biocatalizadores.html](http://www.joaquinrodriguezpiaya.es/2_Bachillerato_Biologia/Bioquimica/Biocatalizadores/index_biocatalizadores.html)

[http://biologiacampmorvedre.blogspot.com/2013/02/bloque-ii\\_9387.html](http://biologiacampmorvedre.blogspot.com/2013/02/bloque-ii_9387.html)

<https://www.lifeder.com/enzimas-alostericas/>

[http://iespoetaclaudio.centros.educa.jcyl.es/sitio/index.cgi?wid\\_item=1492&wid\\_seccion=19](http://iespoetaclaudio.centros.educa.jcyl.es/sitio/index.cgi?wid_item=1492&wid_seccion=19)

<https://es.khanacademy.org/science/biology/energy-and-enzymes/enzyme-regulation/a/enzyme-regulation>

<https://www.asturnatura.com/articulos/nucleotidos-acido-nucleico-adn/coenzimas-derivados-de-nucleotidos.php>

<https://docplayer.es/docs-images/75/72021410/images/12-1.jpg>

### **Àcid ocadaic**

<http://acsa.gencat.cat/ca/detall/article/Acid-ocadaic-AO>

[https://es.wikipedia.org/wiki/Ácido\\_okadaico](https://es.wikipedia.org/wiki/Ácido_okadaico)

[https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/okadaic\\_acid](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/okadaic_acid)

[https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB0246204.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB0246204.htm)

### **Proteïna fosfatasa**

[https://en.wikipedia.org/wiki/Protein\\_phosphatase\\_2](https://en.wikipedia.org/wiki/Protein_phosphatase_2)

[https://es.wikipedia.org/wiki/Prote%C3%ADna\\_fosfatasa\\_1](https://es.wikipedia.org/wiki/Prote%C3%ADna_fosfatasa_1)

## **PNPP**

<https://en.wikipedia.org/wiki/Para-Nitrophenylphosphate>

## **Altres**

<https://www.encyclopedia.cat/EC-GEC-0137164.xml>

[https://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&u](https://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjr-)

[8\\_u\\_5bdAhUQ6RoKHfCZBwYQjRx6BAgBEAU&url=https%3A%2F%2Fes.slideshare.net%2Fjoseangelb7%2Freacciones-quimiques-1-presentation&psig=AOvVaw3CLil-loJLpRBPgh0K2tXd&ust=1535794862229444](https://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjr-8_u_5bdAhUQ6RoKHfCZBwYQjRx6BAgBEAU&url=https%3A%2F%2Fes.slideshare.net%2Fjoseangelb7%2Freacciones-quimiques-1-presentation&psig=AOvVaw3CLil-loJLpRBPgh0K2tXd&ust=1535794862229444)

[https://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&u](https://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiQkNPLgJfdAhVM5IUKHfc-)

[CM4QjRx6BAgBEAU&url=https%3A%2F%2Fes.slideshare.net%2Fmopujol%2Fllio5-cinticaquimica&psig=AOvVaw1i2xlVotaWlpCfEwyq4wP0&ust=1535795051723446](https://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiQkNPLgJfdAhVM5IUKHfc-CM4QjRx6BAgBEAU&url=https%3A%2F%2Fes.slideshare.net%2Fmopujol%2Fllio5-cinticaquimica&psig=AOvVaw1i2xlVotaWlpCfEwyq4wP0&ust=1535795051723446)

<https://agrologia.wordpress.com/2015/03/23/las-enzimas-del-suelo/>

<http://www.ehu.eus/biomoleculas/enzimas/enz3.htm>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23454242>