ENZIMOLOGIA

Reazioni chimiche

$$aA + bB \rightleftharpoons cC + dD$$

Si definisce una generica **reazione chimica** (immagine di fianco) la reazione che da generiche specie molecolari, **A** e **B** (=reagenti), reagiscono con una ben definita stechiometria per formare attraverso un processo elementare **C** e **D** (=prodotti).

Da una reazione chimica è possibile definire la ***costante termocinetica di equilibrio*** (***K_{eq}***), calcolata come: $K_{eq} = \frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}$. Essa per una reazione in soluzione con reagenti non gassosi sufficientemente diluite è un parametro che dipende la che dipende dalla temperatura a cui la reazione viene effettuata. Non solo, questa costante riflette la stabilità relativa dei reagenti e dei prodotti di reazione, ovvero quando è elevato il valore di K_{eq} corrisponde un minore contenuto energetico dei prodotti di reazione.

Se si parla di *energia di reazione* si fa riferimento all'equazione di Gibbs, ossia la variazione di energia libera di una reazione chimica, calcolata come:

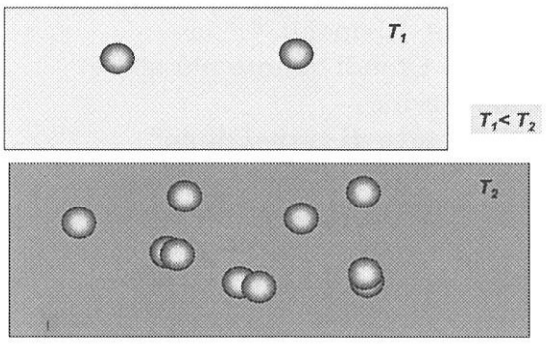
$\Delta G = -RTlnK_{eq} + RTln\frac{[C]_0^c[D]_0^d}{[A]_0^a[B]_0^b}$; l'equazione rappresenta la variazione tra lo stato iniziale e quella di K_{eq}. Si possono verificare 3 condizioni:

- Quando il rapporto è minore della K_{eq}, il valore di ΔG è negativo ciò significa che la reazione si evolve verso i prodotti (reazione esotermica).
- Quando il rapporto è maggiore della K_{eq}, il valore di ΔG è positivo ciò significa che la reazione si evolve verso i reagenti (reazione endotermica).
- Quando il rapporto è uguale della K_{eq}, il valore di ΔG è uguale a zero ciò significa che la reazione è all'equilibrio.

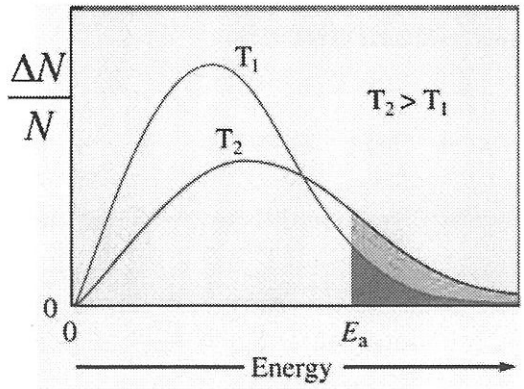
Allo scopo di confrontare tutti i valori viene definito uno stato standard dove le concentrazioni dei prodotti e dei reagenti si trovano alla concentrazione 1M e la temperatura di 25 °C (=298 K), dove il rapporto delle concentrazioni iniziali, indicato come **$\Delta G°$**; a questi parametri è aggiunto il valore della concentrazione protonica, il pH 7, in questo caso si indica con **$\Delta G°'$**.

Le reazioni chimiche prevedono la formazione e/o la rottura di legami tra atomi diversi e liberazione o assunzione di energia. Per esempio, la formazione di H_2O è accompagnata da una significativa liberazione di energia, reazione fortemente spostata verso i prodotti tanto da essere considerata irreversibile.

Oltre a questo aspetto *termodinamico* una reazione chimica presenta aspetti *cinetici*, ossia il tempo necessari a fa si che la reazione avvenga. Un approccio che correla i 2 aspetti è la **teoria della collisione**, questa teoria può essere spiegata dal seguente modo: in un recipiente sono presenti molecole allo stato gassoso, sottoposti a due temperature diverse, T_1 e T_2, dove la prima è maggiore della seconda; queste molecola all'interno nel recipiente si muovano con un moto casuale si muovono con un moto casuale, è evidente che le molecole durante questo moto possono urtarsi. Se tale urto provoca il passaggio da uno stato fondamentale a quello eccitato, con un conseguente cambiamento dell'assetto degli orbitali rispetto al precedente si avrà ottenuto i prodotti. Non tutti gli urti portano ai

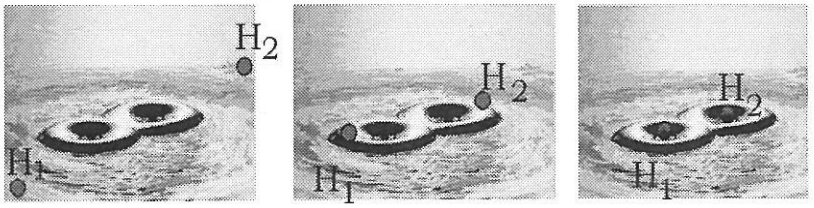


prodotti ma solo quelli sono definiti **urti efficaci**, ovvero sono gli urti che hanno generato un energia uguale o superiore all'***energia di attivazione*** (***E_a***). Infatti, la temperatura maggiore comporta un aumento dell'energia al sistema, quindi aumenta la frazione di molecole a più alta energia, ciò comporta una maggiore probabilità di generare urti efficienti che porteranno ai prodotti. Il grafico di fianco rappresenta la distribuzione di energia associata alle molecole presenti ad una certa temperatura, il grafico riporta per ogni valora di energia la frazione molecolare ($\Delta N/N$) a cui compete quel determinato valore; ciò significa fissato la soglia di E_a (=energia di attivazione), all'aumentare della temperatura ci sarà una più elevata frazione di molecole con energia superiore a detta soglia.



L'**energia di attivazione** (**E_a**) è, per definizione, la soglia energetica che le molecole devono superare perché la reazione avvenga.

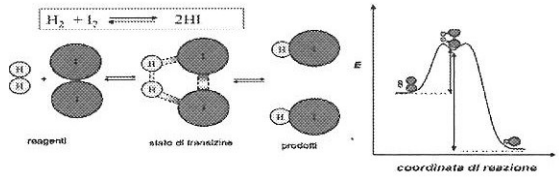
Un esempio è la formazione dell'idrogeno molecolare (H_2) a partire da due atomo di idrogeno: i 2 atomi di idrogeno distanti si muovono con un moto casuale ciascuno con la propria energia; quando loro moto casuale si trovano a breve distanza le nubi elettroniche dei 2 atomi tendono a creare una barriera repulsiva per un ulteriore aumento; se l'energia cinetica è sufficientemente alta da garantire un avvicinamento, la nube elettronica comincerà a risentire dell'effetto dell'attrazione con il risultato di un abbassamento dell'energia complessiva del sistema (=il sistema che vede i 2 atomi di idrogeno uniti è più stabile del sistema dei due atomi di idrogeno separati).



Dall'esigenza di descrivere i cambiamenti energetici che si verificano durante una reazione nel passare dai prodotti ai reagenti nasce il concetto di **coordinata di reazione** (=di fatto i grafici che descrivono una reazione sono descritta dall'energia in funzione della coordinata di reazione), ossia la distanza ottimale che presenta il minor contenuto energetico, quindi una maggiore stabilità, ciò coincide con la **lunghezza di legame**.

La relazione tra la velocità di reazione e l'energia di attivazione è l'***equazione di Arrhenius***: $k = Ae^{-\frac{E_a}{RT}}$, dove "k" indica la costante di velocità specifica della reazione, "A" il fattore di frequenza che dipende dalla geometri delle molecole connesse al loro avvicinamento e orientamento nella fase di collisione che devono essere rispettate affinché la reazione avvenga, "R" la costante dei gas (=8,314 $JK^{-1}mol^{-1}$), "T" la temperatura (in gradi Kelvin) e "E_a" l'energia di attivazione. Quindi quanto più alta è l'energia di attivazione (E_a) tanto minore è la velocità di reazione.

L'interpretazione termodinamica di questa equazione è lo **stato di transizione**: attraverso tale approccio è stato possibile, infatti associare l'energia di attivazione con un evento fisico che fa parte della dinamica della reazione. Per esempio (immagine di fianco), si analizza la reazione di formazione dell'acido iodidrico (HI) a partire dai suoi reagenti l'idrogeno (H_2) e l'ioduro (I_2): l'urto tra i due reagenti ha come conseguenza un



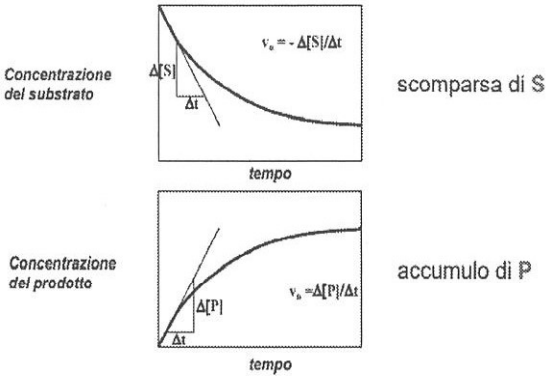
cambiamento del loro assetto, fino a generare un intermedio del processo, dove il legame tra H ed I non si sono completamente formati e per contro i legami I-I e H-H non si sono ancora rotti. L'energia associata a tale intermedio, definito come **stato di transizione**, sarà superiore all'energia dei reagenti e coincide con l'energia di attivazione calcolata di Arrhenius. Lo stato di transizione è caratterizzato da una forma transiente instabile per cui viene definito/considerato intermedio di processo. La razione raggiunto lo stato transiente la reazione potrà evolvere indifferentemente verso i prodotti oppure verso le molecole che lo hanno generato. Più stabile è lo stato di transizione minore sarà l'energia di attivazione della reazione.

L'equazione di Arrhenius, quindi, può essere scritta sostituendo il valore dell'energia di attivazione, E_a, con l'energia libera di attivazione, ΔG^*, ossia la variazione di energia libera associata alla formazione dello stato di transizione (complesso attivo), quindi:

$k = Ae^{-\frac{E_a}{RT}} = \frac{KT}{h}e^{-\frac{\Delta G^*}{RT}} = \frac{KT}{h}e^{-\frac{\Delta H^* - T\Delta S^*}{RT}}$, dove "$K$" indica la costante di Boltzmann, "h" la costante di Planck, "T" la temperatura, "R" la costante dei gas, "ΔH^*" l'entalpia di attivazione "ΔS^*" l'entropia di attivazione. Il fattore di frequenza viene sostituito seguendo un approccio meccanico quantistico dal rapporto di $^{KT}/_{h}$.

La **velocità di una reazione** chimica viene determinata in un intervallo di tempo Δt ($=t_2-t_1$), come la diminuzione della concentrazione dei reagenti o l'incremento della concentrazione dei prodotti nell'unità di tempo:

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



Per la determinazione bisogna monitorare la trasformazione dei reagenti nel tempo misurando, con un adeguato metodo di dosaggio, la scomparsa dei reagenti e/o la comparsa/accumulo di prodotti. La misura di velocità consiste nel determinare la derivata, $-\frac{\Delta[S]}{\Delta t}$ o $\frac{\Delta[P]}{\Delta t}$, al tempo t di reazione valutando la pendenza della retta tangente alla cura di trasformazione in un punto (nel grafici sopra riportati è evidenziata la determinazione della velocità di reazione misurata al tempo zero, v_0).

L'obiettivo di uno studio cinetico è quello di analizzare la dipendenza della reazione dalle condizioni sperimentali, definire l'equazione cinetica e il meccanismo di reazione. Operativamente quello che viene fatto è determinare l'equazione della velocità di reazione in modo empirico utilizzando i valori sperimentali di velocità al variare della concentrazione dei reagenti e dei prodotti, dopodiché si immagina un possibile meccanismo di reazione, dove sulla base di ciò si prevede un'equazione di reazione; se la predizione dei valori sperimentali con quelli teorici coincide si è individuato il percorso di trasformazione, altrimenti, se la predizione tra l'equazione e l'ipotesi non è confrontabile/esatta allora viene ipotizzato un nuovo meccanismo di reazione.

Fissate le condizioni sperimentali (P, T, [cat], …) un approccio classico è quello di studiare l'effetto della concentrazione dei reagenti e dei prodotti sulla velocità di reazione, descritta nella seguente equazione (di fianco), in cui "k" rappresenta la costante di velocità o velocità specifica a T, P, [cat], … costanti, mentre gli esponenti α, β, γ e δ rappresentano gli **ordini di reazione** rispetto alla componente A, B, C e D. Si definisce ordine di reazione rispetto ad un componente, l'ordine di reazione misurato con gli altri componenti in forte eccesso; mentre la **molecolarità della reazione** è il numero

$$aA + bB \rightarrow cC + dD$$

$$v = k[A]^{\alpha}[B]^{\beta}[C]^{\gamma}[D]^{\delta}$$

di molecole coinvolte nello stadio della trasformazione che è limitante al decorso della reazione, per cui è necessario individuare, fra le tappe che costituiscono il meccanismo di reazione, lo *stadio limitante*, ossia lo stadio più lento.

$$2O_3 \rightarrow 3O_2$$

$$v = \frac{d[O_3]}{dt} = k_{sperim}\frac{[O_3]^2}{[O_2]}$$

1) $O_3 \underset{k_{-1}}{\overset{k_{+1}}{\rightleftharpoons}} O_2 + O$ (rapida)

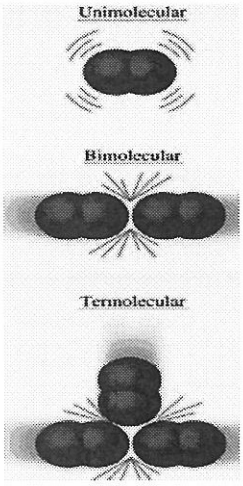
2) $O + O_3 \xrightarrow{k_{+2}} 2O_2$ (lenta)

$$v = k_{+2}[O][O_3]$$

stadio 1 all'equilibrio.

$$\frac{[O_2][O]}{[O_3]} = K_{eq} \quad \text{da cui} \quad [O] = k_{eq}\frac{[O_3]}{[O_2]}$$

Per chiarire questi concetti si analizza, per esempio, la reazione di scomposizione dell'azoto che tende spontaneamente a trasformarsi in prodotti (immagine di fianco), per la quale dalle misure sperimentali di $[O_2]$ a partire da diverse $[O_3]$ si è ricavata/determinata l'equazione della velocità. Di questa reazione è noto il meccanismo di reazione: la prima tappa è caratterizzata da un equilibrio rapido mentre la seconda si realizza molto lentamente, quindi si tratta dello stato limitante (in cui si individua la molecolarità). Dalla seconda tappa si calcola la velocità di reazione:



$v = k_{+2}[O][O_2]$; a questo punto è necessario esplicitare l'equazione con termini noti, infatti grazie alla prima tappa si determina la costante di equilibrio, dalla quale si può determinale [O], che una volta determinata si sostituisce dell'equazione della velocità ottenendo: $v = k_{+2}[O][O_2] = k_{+2}k_{eq}\frac{[O_3]^2}{[O_2]} = k_{sperim}\frac{[O_3]^2}{[O_2]}$. La reazione di decomposizione dell'ozono ha ordine complessivo 1 ed è bimolecolare.

I tipi di **molecolarità** (immagine di fianco) che si possono osservare nelle reazioni sono: uni-molecolare (relativamente probabile), bi-molecolare (relativamente probabile) e tri-molecolare (poco probabile), per molecolarità di una reazione superiore a 3 è molto improbabile.

Gli **ordini di reazione** possono essere:

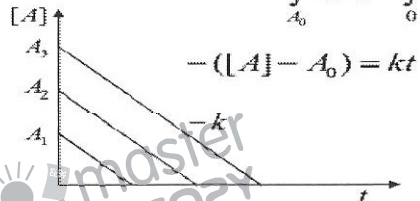
- ***Reazione di ordine zero***: descrive un processo nel quale la velocità di reazione è indipendente dalla velocità dei reagenti. Considerando la reazione che da A si originano i prodotti (immagine di fianco), si calcola la velocità misurata al tempo zero (v_0) della scomparsa della concentrazione di A nell'intervallo di tempo che è uguale a k (=costante di velocità). L'equazione della velocità v_0 viene integrata tra un tempo t=0 a cui corrisponde A_0 (=concentrazione iniziale) ed un generico tempo t a cui corrisponde [A]. Il risultato dell'integrazione è una retta ([A] = A_0 – kt), che riportata su grafico (immagine sopra riportato) della [A] in funzione di t, presenta una pendenza negativa (-k) e l'intercetta con le asse delle ordinata corrisponde alla concentrazione iniziale di A; a diverse concentrazioni iniziali di reagente si avrà un fascio di rette parallele la cui pendenza rappresenta la costante di velocità.

$$A \rightarrow prodotti$$

$$v_0 = -\frac{d[A]}{dt} = k$$

$$-\int_{A_0}^{[A]} d[A] = \int_0^t k\,dt$$

$$-([A] - A_0) = kt$$



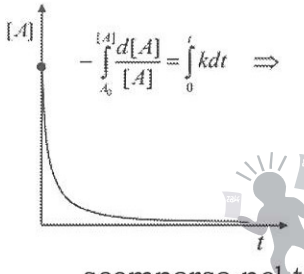
Se si pone [A]=A_0/2, ovvero quando sia ha la trasformazione del 50% della concentrazione iniziale del reagente si avrà: $\frac{A_0}{2} = A_0 - kt \rightarrow t_{1/2} = \tau = \frac{A_0}{2k}$, dove "τ" è il tempo di semi-trasformazione, ossia il tempo necessario a che il reagente sia trasformato al 50% della concentrazione iniziale; in una reazione di ordine zero τ è direttamente proporzionale alla concentrazione iniziale di reagente.

- ***Reazione di primo ordine***: descrive un processo in cui la velocità di reazione aumenterà linearmente all'aumentare della concentrazione del reagente.

$$A \rightarrow prodotti$$

$$v = -\frac{d[A]}{dt} = k[A]$$

$$-\int_{A_0}^{[A]} \frac{d[A]}{[A]} = \int_0^t k dt \quad \Rightarrow \quad \ln[A] = \ln A_0 - kt$$



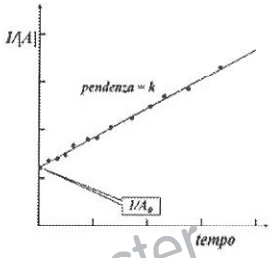
Considerando la reazione che da A si originano i prodotti (immagine di fianco), si calcola la velocità misurata al tempo zero (v_0) della scomparsa della concentrazione di A nell'intervallo di tempo che è uguale a k (=costante di velocità) moltiplicata la concentrazione di A (=[A]). L'equazione della velocità v_0 viene integrata tra un tempo t=0 a cui corrisponde A_0 (=concentrazione iniziale) ed un generico tempo t a cui corrisponde [A]. Il risultato dell'integrazione è [A] = A_0e^{-kt}, che riportata su grafico (immagine di fianco) della [A] in funzione di t, il grafico presenta una retta con andamento a scomparsa nel tempo del reagente di reazione, quindi pendenza negativa (-k) mentre l'intercetta con l'asse delle ordinate a valore $\ln A_0$.

Se si ricava il tempo di semi-trasformazione (τ) per una reazione di primo ordine si osserva l sua indipendenza dalla concentrazione iniziale di reagente, infatti questo valore risulta essere, quando [A]=$A_0/2$ (=trasformazione del 50% della concentrazione iniziale del reagente) si avrà: $\frac{A_0}{2} = lnA_0 - kt \rightarrow t_{1/2} = \tau = \frac{ln2}{k}$, con il passare del tempo, la concentrazione A diminuisce e proporzionalmente diminuisce la velocità di trasformazione così da lascare invariato il tempo di dimezzamento.

- ***Reazione di secondo ordine***: descrive un processo in cui la velocità di reazione aumenterà con il quadrato della concentrazione del reagente. La reazione della velocità, di una reazione di secondo ordine, in funzione dell'andamento della [A] è caratterizzato da una curva esponenziale. Si può procedere in due modi, il <u>primo modo</u> vede la reazione che da 2A si originano i prodotti (immagine di fianco), si calcola la velocità misurata al tempo zero (v_0) della scomparsa della concentrazione di A nell'intervallo di tempo che è uguale a k (=costante di velocità) moltiplicata la concentrazione di A (=[A]) al quadrato. L'equazione della velocità v_0 viene integrata tra un tempo t=0 a cui corrisponde A_0 (=concentrazione iniziale) ed un generico tempo t a cui corrisponde [A]. Il risultato dell'integrazione è $\frac{1}{[A]} = \frac{1}{A_0} + kt$, anche in questo caso le misure di [A] nel tempo potranno essere intrappolate in una retta di pendenza k e con l'intercetta sull'asse delle ordinate $1/A_0$. Il tempo di semi-trasformazione della reazione in questo caso legato alla concentrazione del reagente con una relazione che permette di utilizzare τ per individuare l'ordine di reazione in esame $\tau = \frac{1}{kA_0}$.

$$2A \rightarrow prodotti$$

$$v = -\frac{d[A]}{dt} = k[A]^2 \qquad \int_{A_0}^{[A]} \frac{d[A]}{[A]^2} = -k\int_0^t dt$$



Il <u>secondo modo</u> vede la reazione che da A e B si originano i prodotti (immagine sotto riportata), si calcola la velocità misurata al tempo zero (v_0) della scomparsa della concentrazione di A e della scomparsa della concentrazione di B nell'intervallo di tempo che è uguale a k (=costante di velocità) moltiplicata la