

ENZIMAS

INTRODUCCION:

Aunque los fenómenos de fermentación y digestión ya eran conocidos, el primer reconocimiento claro de una **ENZIMA** fue realizado por Payen y Persoz (1883), cuando encontraron que un precipitado obtenido por tratamiento de alcohol del extracto de malta contenía una sustancia termolábil que convertía el almidón en azúcar.

La sustancia antes mencionada se denominó **DIASTASA** (en griego: separación) debido a su capacidad para separar la dextrina soluble de las cubiertas insolubles de los granos de almidón. La palabra **DIASTASA** se convirtió en un término de aplicación general para estas mezclas de **ENZIMAS** en 1898, cuando Duclaux sugirió el uso de la terminación -ASA en el nombre de una enzima; este procedimiento de clasificación se mantiene hasta la actualidad.

Muchas enzimas se purificaron de numerosas fuentes, pero fue J.B. Sumner, quien por primera vez cristalizó una enzima. La enzima era la **UREASA** del frijol. Por su trabajo, que tomó seis años (1924 - 1930), fue galardonado con el Premio Nobel en 1946. El trabajo demostró categóricamente que las enzimas son entidades químicas distintas.

CONCEPTOS BASICOS:

Las **ENZIMAS** son proteínas que catalizan (aceleran) las reacciones bioquímicas. Generalmente existen en muy bajas concentraciones en las células, donde aumentan la velocidad de una reacción sin alterar su equilibrio; es decir, las velocidades de reacción directa e inversa aumentan en un mismo factor, que generalmente es de alrededor de : $10 + 3 / 10 + 12$.

Por su parte, las **PROTEINAS** son polipéptidos naturales de pesos moleculares mayores que 5.000. Estas macromoléculas realizan una amplia gama de funciones **biológicas** y muestran gran diversidad en sus propiedades físicas; desde las **enzimas solubles en agua**.

Las proteínas cumplen varias funciones bioquímicas; pero la función más importante y que comentaremos es; CATALISIS ENZIMATICA. Las enzimas son proteínas catalizadoras, capaces de aumentar las velocidades de reacciones en factores extremadamente altos.

CATALISIS ENZIMATICA:

Existen más de 2.500 diferentes reacciones **BIOQUIMICAS** con enzimas específicas adaptadas para aumentar la velocidad. Ya que diferentes especies de organismos producen numerosas variantes estructurales de enzimas, el número de enzimas biológicas diferentes es mucho mayor que $10+6$. Cada enzima se caracteriza por su **ESPECIFICIDAD** por un pequeño número de **SUSTRATOS** (reactantes), químicamente semejantes y también por otras moléculas que modulan sus actividades, los llamados **EFACTORES** que pueden ser **ACTIVADORES**, **INHIBIDORES** ó ambos. En las enzimas más complejas un compuesto puede tener cualquier efecto, dependiendo de otras condiciones físicas ó químicas. El tamaño de las enzimas es muy variable, desde los grandes complejos con múltiples subunidades (denominadas: enzimas multiméricas), hasta las formas más pequeñas de una sola subunidad.

El área de superficie de las enzimas, incluso de las más pequeñas como la ribinucleasa, que es ocupada por los grupos químicos a los cuales se unen los reactivos, es menos de 5% del área total; a esta región se le denomina **SITIO ACTIVO**.

El arreglo particular de las cadenas laterales de aminoácidos en el **SITIO ACTIVO** de una enzima determina el tipo de moléculas que pueden unirse y que reaccionan ahí; en una enzima particular, generalmente existen alrededor de cinco de estas cadenas laterales. Además, muchas enzimas

tienen pequeñas moléculas no proteicas asociadas con ó cerca del SITIO ACTIVO que determinan la especificidad del sustrato. Estas moléculas se denominan COFACTORES si no están unidas covalentemente a la proteína; si están unidos covalentemente, se denominan GRUPOS PROSTETICOS. En algunas enzimas se requiere de un ion metálico específico para su actividad.

CINETICA ENZIMATICA:

La **cinética enzimática** trata las mediciones de las velocidades de las reacciones químicas y los factores que la afectan, tales como el pH, la temperatura, la presencia de cofactores y los iones metálicos. Esencialmente es una materia experimental relacionada con dos aspectos principales. El primero implica el diseño de los experimentos, incluyendo los métodos para determinar el progreso de la reacción. El segundo se refiere a la interpretación de los datos; generalmente esto implica emplear expresiones matemáticas para los modelos de los esquemas de reacción, los cuales posteriormente son evaluados para probar su concordancia con los datos experimentales. Este análisis se utiliza posteriormente para diseñar los subsecuentes experimentos, y finalmente se hace una interpretación del mecanismo de la reacción. Por consiguiente, el proceso es sumamente iterativo; los datos nuevos sugieren nuevos modelos de mecanismos, a la vez que los nuevos modelos sugieren nuevos experimentos para controlar las fallas de los modelos.

La cinética enzimática tiene vital importancia, ya que en la aplicación industrializada y específica de un compuesto enzimático, la eficiencia y calidad en los resultados se basa en la utilización de los compuestos de ULTIMA GENERACION.

Evidentemente, los procesos de **CINETICA** de los cuales se obtienen los productos enzimáticos son **PROPIEDAD PRIVADA EXCLUSIVA** del laboratorio de la empresa ELABORADORA de productos enzimáticos, por ello no hay formulas y/o enunciado de componentes constituyentes de los modelos y compuestos, por ejemplo, la determinación del ADN, considerado uno de los pasos más relevantes de la ciencia de la última década, se basa en la reacción de las enzimas del compuesto orgánico o líquido de un individuo (muestra de pelo, saliva, sangre, fluido corporal etc.) dicha muestra se lleva a un proceso cinético descubierto para obtener una lectura matemática de la reacción de las enzimas presentes en la muestra, dicha lectura es única para cada individuo y constituye su ADN. Este descubrimiento se estima que corresponde al resultado de pruebas realizadas en 1968, retomados y modificados entre 1980 y 1990, para llegar a los actuales resultados, no obstante y pese a la importancia del descubrimiento, solo tres países del mundo, trabajaban este proyecto de cinética enzimática a puerta cerrada, si bien en la actualidad aumento el número de países que pueden trabajar con sus propios laboratorios, aun existe una enorme cantidad de información en carácter privado o reservado. Este comentario, es valido para miles de procesos enzimáticos que hoy se aplican a nivel mundial, donde prevalecen tres aspectos relevantes sobre la formulación de cada producto enzimático:

1. **Formula propietaria privada.**
2. **Producto Biológico no afecto a nombre químico (IUPAC) – Sustancia no clasificada.**
3. **Número UN = En más del 90 % no listado (se estima que hay un 10 % listado por tener aplicaciones militares).**

EFFECTOS DEL pH SOBRE LAS VELOCIDADES DE REACCION ENZIMATICA:

Una enzima hipotética tiene actividad con respecto a la HIDROLISIS (Licuación) de un sustrato neutro, y no es afectada por un amplio margen de valores de Potencial de Hidrogeno: pH (entre 6 a 8). Sin embargo, muestra actividad en un intervalo más estrecho de pH cuando se usa un sustrato alternativo que contiene un grupo imidazol.

Las curvas resultantes de análisis de pH, dependiendo del tipo de sustrato y el calculo de tiempo de reacción, permiten graduar la obtención de valores estables entre 6 - 8.

Describir completamente los valores del pH sobre la catálisis enzimática es una tarea imposible. Muchas de las cadenas laterales de aminoácidos de una enzima son ionizables, pero en un medio ambiente con polaridad diferente a la de la solución libre, los potenciales de ácido pueden alterarse de manera significativa. No obstante, es fácil determinar experimentalmente los valores de los parámetros cinéticos de una enzima en el estado estacionario, en distintas condiciones de pH.

Los posibles efectos del pH son producir un cambio en el estado de ionización de:

- 1) **Los grupos involucrados en la catálisis,**
- 2) **Los grupos involucrados en la unión del sustrato,**
- 3) **Los grupos involucrados en la unión en sitios distintos del sitio ACTIVO, definidos como sitios efectores alostericos, y**
- 4) **Los grupos de los sustratos. Estos estados de carga alterada afectarán la afinidad de la enzima por sus sustratos, así como la velocidad de catálisis.**

De lo anterior se desprende que el pH es estabilizado en función de la aplicación enzimática, dirigida a obtener una reacción acelerada en función de un tiempo predeterminado. En el caso del tratamiento de aguas residuales contenidas en fermentadores (fosas sépticas, decantadores previos a plantas de tratamiento, cámaras de impulsión etc.) el pH se estabiliza en función lineal, ya que el compuesto enzimático debe actuar en función del caudal móvil y del caudal inactivo, debiendo fructuar sus resultados en variables 6 - 8.

HIDROLISIS POR EFECTO DEL USO DE ENZIMAS:

Las ENZIMAS BIOLÓGICAS pueden catalizar la descomposición de una sustancia en velocidades que pueden desarrollarse desde microsegundos hasta varias horas o días, meses, todo depende del objetivo, también la temperatura es un factor importante, ya que se pueden obtener reacciones polares de catálisis hasta el inverso con temperaturas sobre 2000° C. El efecto enzimático de producir líquido como resultante de una reacción producida por uno o varios tipos de enzimas que entran en contacto con una sustancia o compuesto orgánico, está presente en muchos ejemplos, al respecto podemos citar una situación común para todo ser humano a través de la siguiente acción enzimática, que permite observar el efecto de hidrólisis:

La **LISOZIMA** es una enzima que se encuentra en las lágrimas, **HIDROLIZA** a los polisacáridos de la pared celular bacteriana. De todos los mecanismos enzimáticos, esta enzima tiene uno de los mejores y claros esquemas de ejemplo estudiados: La enzima es una sola cadena polipeptídica de 129 aminoácidos plegados en forma de grano de trigo inflado, con una endidura lateral a todo lo largo de la molécula. Dentro de esta se ajusta el sustrato, un polisacárido formado de unidades alternadas de N-acetilglucosamina (NAG) y ácido N-acetilmurámico (NAM). Por medio de cristalografía de rayos X se han logrado obtener detalles de la unión de un inhibidor competitivo (NAG)₃ al sitio activo. Usando la estructura de rayos X se ha logrado tener una idea de la unión de sustratos tales como (NAG-NAM)₃.

La enzima cataliza la ruptura del enlace entre el carbono del residuo y el átomo de oxígeno de la unión glicosídica del residuo. Dos cadenas de aminoácidos en la región de este enlace pueden servir como donadores o aceptores de protones: ASP52 y GLU35, cada una de las cuales está a 0,3 nm del enlace. El ASP52 está en un medio ambiente polar y está ionizado al pH óptimo de la lisozima (pH 5), mientras que el GLU35 está en una región no polar y no está ionizado.

Al producirse la catálisis por efecto de la enzima **LISOZIMA**, el efecto de hidrólisis se obtiene en una velocidad de reacción de 10 elevado a 8 **MICROSEGUNDOS**, resultado = Líquido = lagrime.

CONCLUSION:

Las enzimas están presentes en una infinidad de reacciones en el organismo humano, vegetal, animal etc.. Su clasificación y gran impacto a través del desarrollo de la **BIO-INGENIERIA**, las introduce con gran eficiencia en los productos alimenticios y en múltiples aplicaciones industriales. El desarrollo de la **CINETICA ENZIMATICA** es permanente, las formulaciones para determinadas reacciones son producto de años de estudio, aportando tecnología de punta para dar soluciones a nivel industrial.

Las enzimas **SERIE "ADR" y "DTX"**, corresponden a un desarrollo específico para obtener como resultado la **HIDROLISIS** por **CATALISIS** de la materia orgánica y tratamiento de aguas servidas y otros derivados, producto desarrollado en **ALEMANIA**, distribuido en Chile por **ROADCLEAN**.

CINETICA ENZIMATICA DERIVANTE DE LOS PRODUCTOS ADR Y DTX:

Para tener una visión sobre los considerados que fueron incluidos en los estudios para desarrollar el producto de la serie **ADR** y **DTX**, podemos señalar:

Por una parte se consideran las PROTEINAS: Compuestos de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno de estructura química compleja e inestable, sujetas a muchas formas de descomposición; constituyen un componente esencial del protoplasma celular y de la dieta de todo animal. La formación de proteínas supone el enlace de un gran número de alfa aminoácidos, los cuales son sintetizables por la mayoría de las plantas y de las bacterias, todas contienen un grupo amino adherido al carbón alfa del amino ácido y constituyen, junto con la urea, la principal fuente de nitrógeno en las aguas residuales.

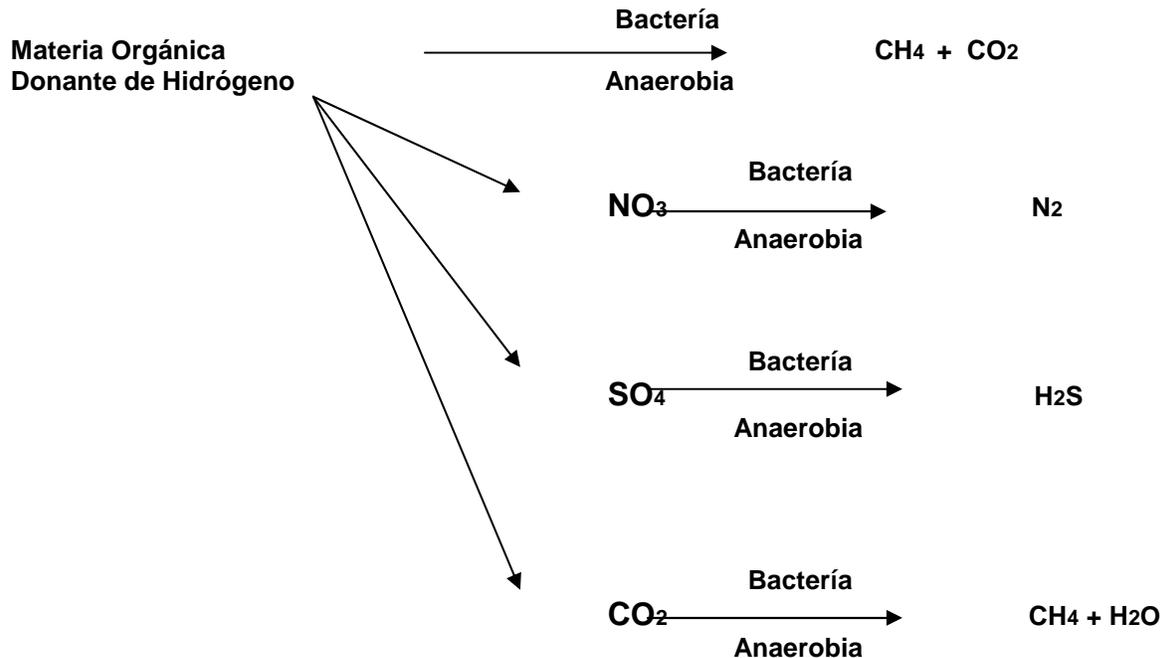
Los residuos industriales más ricos en proteínas son los provenientes de procesadoras de carnes, quesos, huevos y ciertos vegetales. Teniendo en cuenta que el contenido de nitrógeno de las proteínas es de aproximadamente 16 %, la concentración de proteínas se puede valorar como igual al valor del nitrógeno orgánico multiplicado por el factor 100/16 o 6.25.

El proceso de tratamiento biológico de residuos proteínicos supone la hidrólisis enzimática de las proteínas en alfa aminoácidos y la conversión de éstos en dióxido de carbono y agua.

Por otra parte, la oxidación anaerobia se define como aquella en que la descomposición se ejecuta en ausencia de oxígeno disuelto y se usa el oxígeno de compuestos orgánicos, nitratos y nitritos, los sulfatos y el CO₂, como aceptador de electrones.

En el proceso conocido como desnitrificación, los nitratos y nitritos son usados por bacterias facultativas, en condiciones anóxicas, condiciones intermedias, con formación de CO₂, agua y nitrógeno gaseoso como productos finales.

Diagrama simplificado de la oxidación anaerobia =



CH₄ = metano (gas)

El uso de los sulfatos y el CO₂ como aceptadores de electrones requiere condiciones estrictamente anaerobias, es decir ausencia de oxígeno y nitratos.

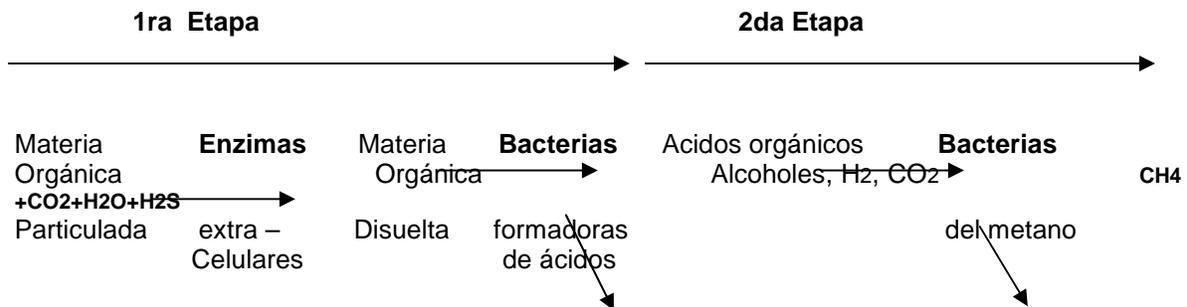
Los carbohidratos contienen oxígeno que puede ser usado como aceptador de electrones; una porción del carbohidrato es oxidado en CO₂ y ácidos orgánicos mientras que otra porción es reducida en aldehídos, cetonas y alcoholes. Prácticamente, la descomposición anaerobia es posible con todos los compuestos orgánicos que contienen oxígeno en sus moléculas.

En el tratamiento anaerobio se puede, por lo tanto, considerar que ocurren procesos básicos de la descomposición anaerobia, es decir: desnitrificación, reducción de sulfatos, hidrólisis y fermentación acetogénica y metanogénica. El proceso microbio es muy complejo y está integrado por múltiples reacciones paralelas y en serie, interdependientes entre sí.

En su forma más elemental, se puede considerar el proceso anaerobio de descomposición de la materia orgánica compuesto de dos etapas:

- 1) **Fermentación de ácidos y**
- 2) **Fermentación de metano**

Que ocurren simultáneamente :



Biomasa

Biomasa

En la fermentación metanogénica, los microorganismos metanogénicos, en condiciones estrictamente anaerobias, convierten los productos de la fermentación ácida en CO₂ y CH₄ principalmente.

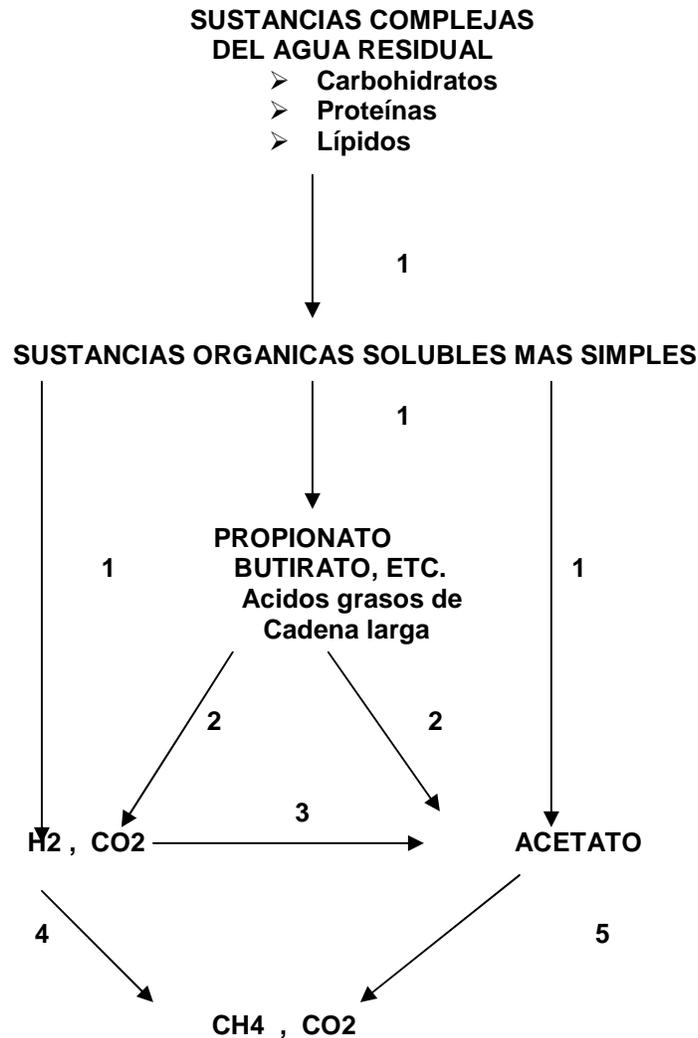
Inicialmente las bacterias hidrolíticas, mediante transformaciones enzimáticas, fermentan los compuestos orgánicos complejos en compuestos de masa molecular baja como los azúcares, aminoácidos, ácidos grasos y glicerol; adecuados para ser usados como fuente de energía y de carbón celular. Estos compuestos son usados por las bacterias acetogénicas para producir ácido acético, propiónico, butírico, valérico y fórmico; CO₂ o hidrógeno, metanol y etanol. A partir del ácido acético y fórmico; CO₂, H₂ y metanol, las bacterias del metano producen metano, dióxido de carbono y agua.

La fermentación del metano en el proceso de digestión anaerobia supone una serie de tres etapas:

- 1) **Hidrólisis, Licuefacción y fermentación;**
- 2) **Formación de hidrógeno y ácido acético; y**
- 3) **Fermentación de metano;**

Etapas realizadas por **cinco grupos bacteriales principales**, cada uno con metabolismo dependiente de los otros grupos involucrados en el proceso

Formación de metano en la digestión anaerobia =



Grupos Bacteriales:

- 1.- Bacterias fermentativas
- 2.- Bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno.
- 3.- Bacterias acetogénicas consumidoras de hidrógeno.
- 4.- Bacterias metanógenas reductoras de CO₂.
- 5.- Bacterias metanógenas acetilclásticas.

Para la hidrólisis y licuefacción del material orgánico complejo y/o insoluble, las bacterias fermentativas producen y excretan ENZIMAS HIDROLITICAS. Este eslabón del proceso ES ESENCIAL y puede limitar la fermentación de metano, por ello se considera muy importante proveer una población grande de microorganismos, un sustrato orgánico concentrado y mezcla y temperatura uniforme dentro del reactor.

De los estudios de Cinética Enzimática basados en los antecedentes antes descritos, nacen los productos de serie **ADR y DTX**, fundamentalmente con el objeto de suplir la deficiente producción de enzimas de las bacterias fermentativas, derivado de su baja concentración y de su inhibición o neutralización frente a determinados agentes químicos como lo son los detergentes, shampoo, bálsamos y otros de origen similar. Ello debido a que cualquier reacción o condición que impida la formación del metano produce una reducción de eficiencia en la remoción de DBO en el proceso anaerobio.

Frente a lo anterior y ante la necesidad de mantener el equilibrio entre el metano y el oxígeno disuelto, la acción de los productos ADR y DTX se orientó a regular la eficiencia del proceso de hidrólisis y licuefacción, desarrollando productos que logran efectividad por lapsos máximos entre 15 a 25 días, desde su aplicación al reactor.

Cabe señalar que ambos productos son altamente eficientes tanto para tratar un sistema séptico, como una Planta de Tratamiento de aguas residuales, su concentración y periodicidad de aplicación corresponden a la parte de técnica de uso de los mismos, pero su aporte al proceso completo a demostrado ser altamente significativo, permiten estabilizar el pH, regular el equilibrio de formación de metano y liberación de oxígeno disuelto, acelerando la obtención de los resultados en términos de DBO, reducen la formación de lodos y la aplicación emulsionada permite asear redes de tuberías de aguas servidas afectadas por impermeabilización tanto de materia orgánica como de residuos lípidos y grasas saturadas.