

Difusión y reacción en sistemas enzimáticos heterogéneos bisustrato

A. Bódalo Santoyo, J.L. Gómez Carrasco, E. Gómez Gómez,
J. Bastida Rodríguez y M. Tenés Hernández
Departamento de Ingeniería Química.
Facultad de Ciencias (Químicas y Matemáticas). Universidad de Murcia

Recibido: 25-10-88

Aceptado: 30-12-88

Diffusion and reaction for heterogeneous two-substrate enzymatic systems

Summary: A mathematical model to describe the interaction between the chemical reaction and the internal diffusional effects, assuming steady and transient states, has been developed. The model has been applied to heterogeneous two-substrate enzymatic processes when the enzyme is immobilized into porous spherical particles.

When unsteady state is considered, the differential equations must be solved simultaneously, so the finite differences method has been applied. If a steady state is assumed, only one differential equation must be solved by Runge-Kutta.

The asymptotic effectiveness factor values obtained, by computing the unsteady state model, have been compared with the results that the steady state model provides. There is a good accordancy between them, so that the theoretical suitability of the proposed model has been verified.

INTRODUCCIÓN

El empleo de enzimas inmovilizadas en soportes sólidos constituye una práctica cada vez más extendida en el desarrollo de nuevas tecnologías, puesto que se pueden aplicar a procesos industriales en forma continua en diferentes tipos de reactores. En contrapartida, la cinética del proceso enzimático se ve afectada por impedimentos difusionales para los reactantes y productos. Ello provoca un grado elevado de complejidad a la hora de formular modelos matemáticos que describan físicamente el sistema y sean una herramienta eficaz para el diseño y control de las unidades de reacción que los contienen.

A pesar de las dificultades que entraña la resolución de este tipo de modelos, nosotros hemos publicado trabajos que proporcionan los valores del factor de eficacia en los casos en que la reacción enzimática transcurre según cinéticas del tipo Michaelis-Menten simple¹, con inhibición competitiva y no competitiva por producto^{2,3} y Michaelis-

Menten reversible, tanto en estado estacionario⁴ como no estacionario⁵.

Comparados con la gran cantidad de estudios publicados para sistemas enzimáticos heterogéneos monosustrato, los trabajos realizados con enzimas inmovilizadas que catalizan reacciones bisustrato son muy escasos, debido, fundamentalmente, a la relativa complejidad matemática de las expresiones de velocidad para este tipo de sistemas. Por ello, muchos autores simplifican su estudio reduciéndolo a un sistema pseudomonosustrato, considerando que la concentración de uno de los sustratos es muy elevada comparada con la del otro⁶⁻¹⁰.

Por lo tanto, el objetivo general del presente trabajo ha consistido en el desarrollo de un modelo matemático, que describa cuantitativamente la interacción de la reacción enzimática con las limitaciones difusionales internas, para procesos heterogéneos bisustrato en los que la enzima se encuentra inmovilizada en partículas esféricas porosas, tanto en estado estacionario como no estacionario. La re-

solución de este modelo permite obtener la evolución con el tiempo de los perfiles radiales de concentración adimensional de ambos sustratos en la partícula, así como los correspondientes factores de eficacia.

El modelo se ha aplicado a una reacción enzimática bisustrato que transcurre según cinéticas del tipo: complejo ternario ordenado, ternario al azar o «ping-pong», con una expresión matemática general de la velocidad de reacción que engloba a las tres cinéticas.

DESARROLLO TEÓRICO

Para la formulación del modelo matemático que se presenta, se han supuesto como hipótesis de partida las siguientes:

a) La enzima se encuentra uniformemente distribuida en partículas esféricas de igual tamaño.

b) La reacción enzimática es bisustrato, tiene lugar en el interior de las partículas del catalizador y el proceso es isotérmico.

c) La resistencia a la transferencia de materia entre la disolución y la superficie exterior de la partícula es despreciable.

d) La difusión de los sustratos y productos en los poros de las partículas de catalizador se rige por la primera ley de Fick y las difusividades efectivas no varían de un punto a otro de la partícula.

De forma general, una reacción enzimática bisustrato puede representarse de la siguiente forma:



donde S y U son los dos sustratos, P_i los posibles productos de la reacción, n_U el coeficiente estequiométrico del sustrato U y n_i el de cada producto. De la estequiometría indicada, se deduce que:

$$V_S = \frac{1}{n_U} V_U = -\frac{1}{n_i} V_{P_i} \quad (2)$$

donde V_S y V_U son las velocidades locales de desaparición de los sustratos y V_{P_i} la de formación de cada producto, todas ellas referidas a la unidad de volumen de partícula catalítica.

Bajo estos supuestos, las ecuaciones que rigen el proceso de difusión y reacción en la partícula de catalizador, en coordenadas esféricas y estado no estacionario son respectivamente:

Para el sustrato S:

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial C_S}{\partial r} \right) = \frac{1}{D_S} \left(V_S + \frac{\partial C_S}{\partial t} \right) \quad (3)$$

Para el sustrato U:

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial C_U}{\partial r} \right) = \frac{1}{D_U} \left(V_U + \frac{\partial C_U}{\partial t} \right) \quad (4)$$

Para el producto P_i :

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial C_{P_i}}{\partial r} \right) = \frac{1}{D_{P_i}} \left(-V_{P_i} + \frac{\partial C_{P_i}}{\partial t} \right) \quad (5)$$

Las condiciones iniciales y de contorno asociadas a estas ecuaciones son:

$$t=0 ; \quad r=r ; \quad C_S=C_U=C_{P_i}=0 \quad (6)$$

$$t \geq 0 ; \quad r=R ; \quad C_S=C_{S_R}; C_U=C_{U_R}; C_{P_i}=C_{P_iR} \quad (7)$$

$$t=t ; \quad r=0 ; \quad \frac{\partial C_S}{\partial r} = \frac{\partial C_U}{\partial r} = \frac{\partial C_{P_i}}{\partial r} = 0 \quad (8)$$

Para reacciones en el interior de partículas catalíticas se define el factor de eficacia, en cada instante de tiempo, como la relación entre la velocidad media efectiva de reacción en toda la partícula y la velocidad que tendría lugar en la misma en ausencia de limitaciones difusionales, es decir, bajo unas concentraciones de reactantes y productos uniformes e iguales a las del líquido en contacto con la superficie externa. Su expresión matemática es:

$$\eta = \frac{\langle V_S \rangle_{\text{part}}}{V_{S \text{ sup}}} \quad (9)$$

Para partículas esféricas se verifica:

$$\langle V_S \rangle_{\text{part}} = \frac{3}{4\pi R} \int_0^R V_S 4\pi r^2 dr \quad (10)$$

por tanto el factor de eficacia valdría:

$$\eta = \frac{3}{V_{S \text{ sup}} R} \int_0^R V_S r^2 dr \quad (11)$$

Para poder evaluar este factor, será preciso conocer previamente el perfil radial de velocidad de reacción para cada tiempo t o, en su defecto, los perfiles de concentraciones (que se obtendrán de la resolución de las ecuaciones 3, 4 y 5) y la ley de velocidad de la reacción enzimática.

En el presente desarrollo, se ha adoptado como ecuación de velocidad la siguiente:

$$V_S = \frac{V_m C_S C_U}{K_{S_U} + K_{m_S} C_U + K_{m_U} C_S + C_S C_U} \quad (12)$$

ya que esta expresión se puede aplicar a las reacciones enzimáticas bisustrato que transcurran según mecanismos de complejo ternario ordenado, complejo ternario al azar y «ping-pong» que son los más frecuentes en este tipo de procesos.

Una situación particular del presente modelo puede obtenerse considerando que el proceso de difusión-reacción transcurre en régimen estacionario. En este caso, las ecuaciones diferenciales 3, 4 y 5 quedan simplificadas del siguiente modo:

$$\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dC_S}{dr} \right) = \frac{1}{D_S} V_S \quad (13)$$

$$\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dC_U}{dr} \right) = \frac{1}{D_U} V_U \quad (14)$$

$$\frac{1}{r^2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dC_R}{dr} \right) = - \frac{1}{D_R} V_{Pi} \quad (15)$$

cuyas condiciones de contorno se reducen a:

$$r=0 ; C_S=C_{S0} ; C_U=C_{U0} ; C_{Pi}=C_{Pi0} \quad (16)$$

$$r=R ; C_S=C_{SR} ; C_U=C_{UR} ; C_{Pi}=C_{PiR} \quad (17)$$

$$r=0 ; \frac{dC_S}{dr} = \frac{dC_U}{dr} = \frac{dC_R}{dr} = 0 \quad (18)$$

El resto de ecuaciones necesarias para completar el modelo en estado estacionario, es decir, aquellas que definen el factor de eficacia y la ley de velocidad, son las mismas ya expresadas anteriormente para el caso no estacionario (ecuaciones 11 y 12).

Al objeto de generalizar el tratamiento, haciéndolo inde-

pendiente de las características particulares de cada proceso, se definen las variables y módulos adimensionales que para ambas situaciones se expresan en la Tabla 1. De esta forma, las ecuaciones diferenciales de difusión-reacción en las partículas y las expresiones del factor de eficacia y de velocidad de reacción quedan convertidas en las correspondientes adimensionales que se muestran en la Tabla 2, en las que las diferentes magnitudes se encuentran acotadas en intervalos finitos, lo cual facilita la aplicación de procedimientos de cálculo numérico para su resolución.

Para la resolución de las ecuaciones diferenciales que conforman el modelo para la situación de estado no estacionario, se ha aplicado el método de las diferencias finitas en forma explícita. Dicho método conduce a expresiones recurrentes que determinan los valores de las distintas concentraciones, en un instante temporal dado y posición definida, en función de los valores conocidos en el instante anterior y en las posiciones igual, anterior y posterior.

En el estado estacionario, existe una expresión matemática que liga las concentraciones adimensionales de ambos sustratos:

$$U = 1 - \frac{n_U \text{ Dif}}{C_R} (1-S) \quad (19)$$

por lo tanto, el sistema de ecuaciones diferenciales expuesto en la tabla 2 se puede reducir a una sola ecuación

TABLA 1. Variables y módulos adimensionales definidos

ESTADO NO ESTACIONARIO		ESTADO ESTACIONARIO
$\rho' = \frac{R-r}{R}$		$\rho = \frac{r}{R}$
$\theta = \frac{V_m t}{C_{SR}}$		
AMBOS		
$S = \frac{C_S}{C_{SR}}$	$\phi_S = \frac{R^2 V_m}{D_S C_{SR}}$	$\beta_1 = \frac{K_{SU}}{C_{SR} C_{UR}}$
$U = \frac{C_U}{C_{UR}}$	$\phi_U = \frac{n_U R^2 V_m}{D_U C_{UR}}$	$\beta_2 = \frac{K_{mS}}{C_{SR}}$
$P_i = \frac{C_R}{C_{SR}}$	$\phi_U = \frac{n_i R^2 V_m}{D_{Pi} C_{SR}}$	$\beta_2 = \frac{K_{mU}}{C_{UR}}$
$\vartheta = \frac{V_s}{V_m}$	$C_R = \frac{C_{UR}}{C_{SR}}$	$\text{Dif} = \frac{D_S}{D_U}$



TABLA 2. Ecuaciones adimensionales del modelo

ESTADO NO ESTACIONARIO	ESTADO ESTACIONARIO
Ecuaciones diferenciales del proceso de difusión-reacción	
$\frac{1}{(1-\rho')^2} \frac{\partial}{\partial \rho'} \left[(1-\rho')^2 \frac{\partial s}{\partial \rho'} \right] = \phi_s \left(\vartheta + \frac{\partial s}{\partial \theta} \right)$	$\frac{1}{\rho^2} \frac{d}{d\rho} \left(\rho^2 \frac{dS}{d\rho} \right) = \phi_s \vartheta$
$\frac{1}{(1-\rho')^2} \frac{\partial}{\partial \rho'} \left[(1-\rho')^2 \frac{\partial U}{\partial \rho'} \right] = \phi_U \left(\vartheta + \frac{C_R}{\eta_U} \frac{\partial U}{\partial \theta} \right)$	$\frac{1}{\rho^2} \frac{d}{d\rho} \left(\rho^2 \frac{dU}{d\rho} \right) = \phi_U \vartheta$
$\frac{1}{(1-\rho')^2} \frac{\partial}{\partial \rho'} \left[(1-\rho')^2 \frac{\partial P_i}{\partial \rho'} \right] = \phi_{P_i} \left(-\vartheta + \frac{1}{\eta} \frac{\partial P_i}{\partial \theta} \right)$	$\frac{1}{\rho^2} \frac{d}{d\rho} \left(\rho^2 \frac{dP_i}{d\rho} \right) = -\phi_{P_i} \vartheta$
Condiciones iniciales y de contorno	
$\theta=0 ; \rho'=\rho' ; S=U=P_i=0$	$\rho=0 ; S=S_0 ; U=U_0 ; P_i=P_{i0}$
$\theta \geq 0 ; \rho'=0 ; S=U=1 ; P_i=C_{PR}/C_{SR}$	$\rho=1 ; S=U=1 ; P_i=C_{PR}/C_{SR}$
$\theta=\theta ; \rho'=1 ; \frac{\partial s}{\partial \rho'} = \frac{\partial U}{\partial \rho'} = \frac{\partial P_i}{\partial \rho'} = 0$	$\rho=0 ; \frac{dS}{d\rho} = \frac{dU}{d\rho} = \frac{dP_i}{d\rho} = 0$
Factor de eficacia	
$\eta = \frac{-3}{\vartheta_{sup}} \int_1^0 \vartheta (1-\rho')^2 d\rho'$	$\eta = \frac{3}{\vartheta_{sup}} \int_0^1 \vartheta \rho^2 d\rho$
Ecuación de velocidad	
$\vartheta = \frac{SU}{\beta_1 + \beta_2 U + \beta_3 S + SU}$	

que describe, por sí sola, el proceso global de difusión-reacción. Dicha ecuación se ha resuelto utilizando el método de Runge-Kutta de cuarto orden.

Una vez que se conocen los perfiles radiales de concentración en la partícula, se procede a la estimación de los correspondientes factores de eficacia para cada situación.

Las expresiones matemáticas citadas anteriormente se ofrecen en la tabla 3.

Estos algoritmos de cálculo se han transformado en sendos programas de ordenador y procesado en un equipo Digital PDP 11/23 plus. dichos programas proporcionan la variación con el tiempo de los perfiles adimensionales de

concentración de sustratos y productos en el interior de la partícula, así como de los factores de eficacia. Para obtener estos mismos resultados en la situación de estado estacionario se puede proceder de dos formas: a partir de los valores asintóticos obtenidos procesando el programa que describe el estado transitorio o, de una forma más rápida y sencilla, procesando el programa desarrollado para el estado estacionario.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los programas de ordenador anteriormente citados se

TABLA 3. Expresiones de recurrencia, ecuación diferencial y factor de eficacia para ambas situaciones

ESTADO NO ESTACIONARIO	ESTADO ESTACIONARIO
Expresiones de recurrencia	Ecuación diferencial
$S_{i,n+1} = S_{i,n} + \lambda_s \left[S_{i-1,n} - 2S_{i,n} + S_{i+1,n} - \frac{S_{i+1,n} - S_{i-1,n}}{(\alpha - i)} \right]$ $- \frac{S_{i,n} U_{i,n}}{\beta_1 + \beta_2 U_{i,n} + \beta_3 S_{i,n} + S_{i,n} U_{i,n}} \Delta \theta$	$\frac{1}{\rho^2} \frac{d}{d\rho} \left(\rho^2 \frac{dS}{d\rho} \right) = \phi_s \frac{\sigma S + S^2}{\delta + WS + S^2}$
$U_{i,n+1} = U_{i,n} + \frac{\lambda_u}{G} \left[U_{i-1,n} - 2U_{i,n} + U_{i+1,n} - \frac{U_{i+1,n} - U_{i-1,n}}{(\alpha - i)} \right]$ $- \frac{S_{i,n} U_{i,n}}{\beta_1 + \beta_2 U_{i,n} + \beta_3 S_{i,n} + S_{i,n} U_{i,n}} \frac{\Delta \theta}{G}$	
siendo: $\lambda_s = \Delta \theta / \phi_s (\Delta \rho)^2$ $\lambda_u = \Delta \theta / \phi_u (\Delta \rho)^2$ $\alpha = 1 / \Delta \rho'$; $G = C_R / n_u$	siendo $\sigma = (\phi_s / \phi_u) - 1$ $w = \beta_2 + (\phi_s / \phi_u) \beta_3 + \sigma$ $\delta = \sigma (\beta_1 + \beta_2) + \beta_1$
Factor de eficacia	
$\eta = 3 (\beta_1 + \beta_2 + \beta_3 + 1) \int_0^1 \frac{SU}{\beta_1 + \beta_2 + \beta_3 S + SU} (1 - \rho')^2 d\rho'$	$\eta = \frac{3(\delta + W + 1)}{\sigma + 1} \int_0^1 \frac{\sigma S + S^2}{\delta + WS + S^2}$

han procesado para un amplio rango de valores de los módulos adimensionales implicados, de manera que se cubren la mayor parte de las situaciones experimentales que puedan presentarse. Los resultados obtenidos se presentan en familias de curvas de forma que se puede observar la influencia que sobre las limitaciones difusionales tienen los distintos módulos.

En la figura 1 se muestran, a modo de ejemplo, los perfiles radiales de concentración adimensional S y U para distintos valores de los módulos ϕ_s , ϕ_u y β , siendo $\beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta$. Se dispone, pues, de los valores de concentración a lo largo de la partícula para cada instante temporal hasta que los valores de S y U alcanzan la constancia propia del estado estacionario, que corresponde a la curva superior de cada familia. Como puede observarse, un aumento de β origina una disminución de las resistencias difusionales, produciéndose una mejor y más rápida difusión de los sustratos en el poro.

Para valores fijos del parámetro β , se ha observado también un aumento de las limitaciones difusionales con los módulos ϕ_s o ϕ_u , necesiándose un valor más elevado del

módulo adimensional de tiempo θ para alcanzar la situación estacionaria.

En la figura 2 se ofrece la representación gráfica de la variación de η con θ . Como puede observarse un aumento de β provoca un incremento de los valores del factor de eficacia, necesiándose un tiempo más dilatado para alcanzar la estabilización de η . Asimismo, se ha observado que los valores de η decrecen al aumentar los módulos ϕ_s y ϕ_u , retardándose también el tiempo de llegada a la situación asintótica.

En las figuras 3 y 4 se han representado los perfiles dimensionales de S, así como el factor de eficacia en la situación de estado estacionario. Los valores de U se pueden obtener de forma inmediata a partir de S, usando la ecuación 19. De la observación de estas figuras se deduce que, para valores crecientes de ϕ_u , la caída de concentración en el interior de las partículas es mayor, es decir, las limitaciones difusionales aumentan. Existe, sin embargo, un comportamiento contrario para la variación del módulo δ , de tal manera que los valores crecientes de este módulo dan como resultado una disminución de la resistencia a la



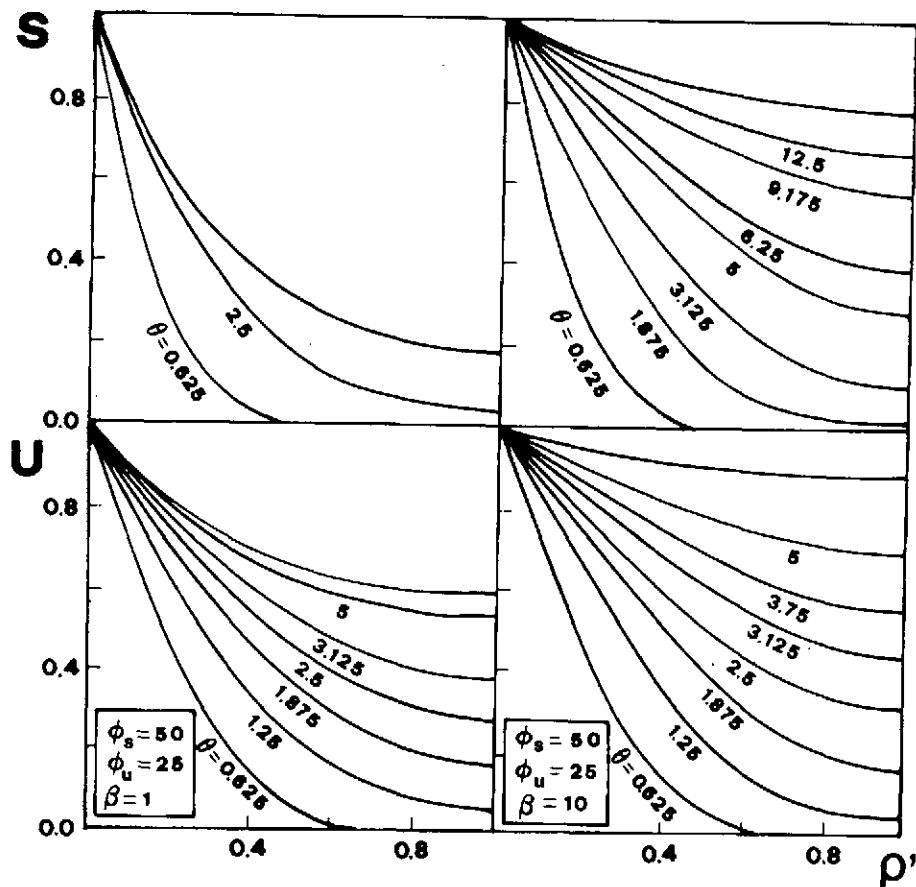


FIGURA 1. Evolución con el tiempo de los perfiles radiales de concentración adimensional para distintos valores de ϕ_s , ϕ_u y β .

difusión. También se ha observado que las limitaciones difusionales disminuyen al aumentar W y al disminuir σ .

En cuanto al factor de eficacia, en la figura 4 se aprecia una disminución del mismo con el aumento del módulo ϕ_s y la disminución de W . Asimismo, se ha observado un aumento de η para valores crecientes del módulo δ y decrecientes de σ . Como quiera que las condiciones más favorables de trabajo son aquellos casos en los que el factor de eficacia tiene un valor próximo a la unidad, éstas se presentan para valores bajos de ϕ_s y σ , así como elevados de δ y W .

COMPROBACIÓN ASINTÓTICA DEL MODELO

Una vez desarrollado y resuelto el modelo matemático que describe las situaciones estacionaria y transitoria en sistemas de enzimas inmovilizadas bisustrato, se ha procedido a la comparación del valor asintótico del factor de eficacia en estado no estacionario con el correspondiente calculado en la situación estacionaria. Dicha comparación se ha efectuado procesando ambos programas de ordena-

dor para valores de los módulos adimensionales correspondientes a situaciones análogas en los dos estados.

En la figura 5 se expresa de forma gráfica la concordancia existente entre los factores de eficacia. Los puntos se ajustan por regresión lineal a una recta de ecuación:

$$\eta_e = 0.9952 \eta_{ne}$$

con un coeficiente de correlación $r = 0.9997$. Como puede observarse, existe una buena concordancia entre ambos, lo cual verifica la validez de los modelos propuestos.

NOMENCLATURA

- C_P, C_S, C_U Concentraciones locales de producto y sustratos S y U , respectivamente.
 C_{PR}, C_{SR}, C_{UR} Concentraciones locales de producto y sustratos S y U en $r = R$.
 C_{PO}, C_{SO}, C_{UO} Concentraciones locales de producto y sustratos S y U en $r = 0$.

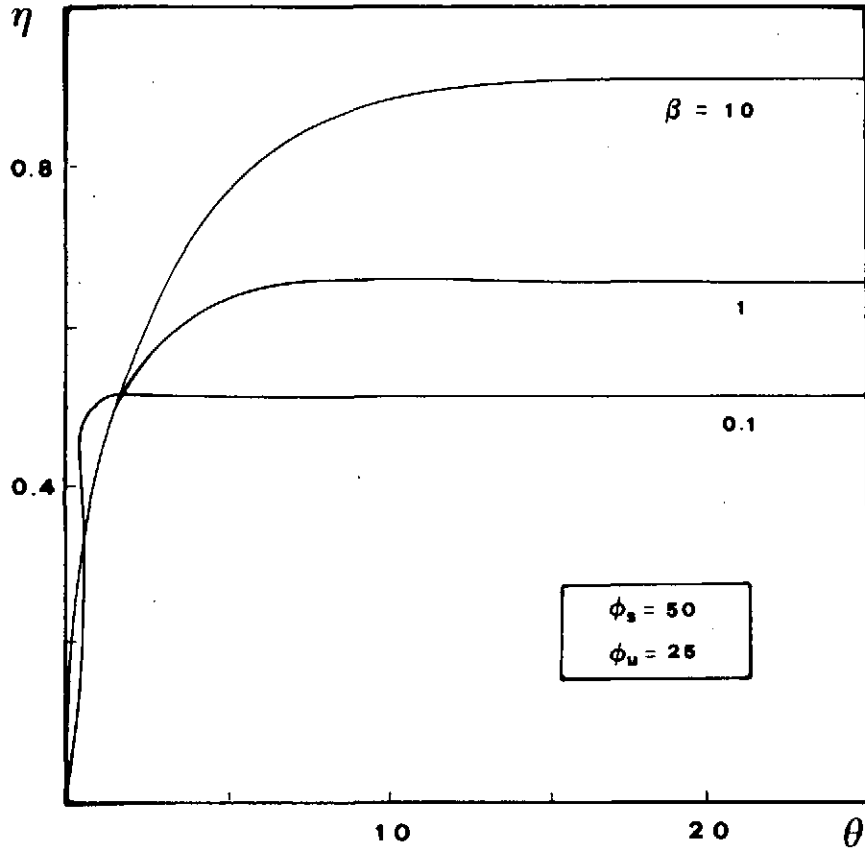


FIGURA 2. Variación con el tiempo del factor de eficacia para distintos valores de los módulos ϕ_s , ϕ_u y β .

D_R, D_S, D_U Difusividades efectivas de producto y sustratos S y U, respectivamente.
i Número de intervalo en que se divide ρ' .
 K_{mS}, K_{mU} Constantes de Michaelis de los sustratos S y U, respectivamente.
 K_{SU} Constante cinética.
n Número de intervalo en que se divide θ .
r Coordenada radial en la partícula esférica.
R Radio de la partícula esférica.
 V_m Velocidad máxima de la reacción enzimática por unidad de volumen de partícula catalítica.
 $V_{S\ sup}$ Velocidad de desaparición de sustrato S por

unidad de volumen de partícula catalítica, en ausencia de limitaciones difusionales.
 $\langle V_S \rangle_{part}$ Velocidad media de desaparición de sustrato S por unidad de volumen de partícula catalítica.
 V_{sup} Velocidad adimensional de reacción en ausencia de limitaciones difusionales.
 $\langle \vartheta \rangle_{part}$ Velocidad media adimensional de reacción.
 η Factor de eficacia.
 η_e Factor de eficacia en estado estacionario.
 η_{ne} Valor asintótico del factor de eficacia en estado no estacionario.



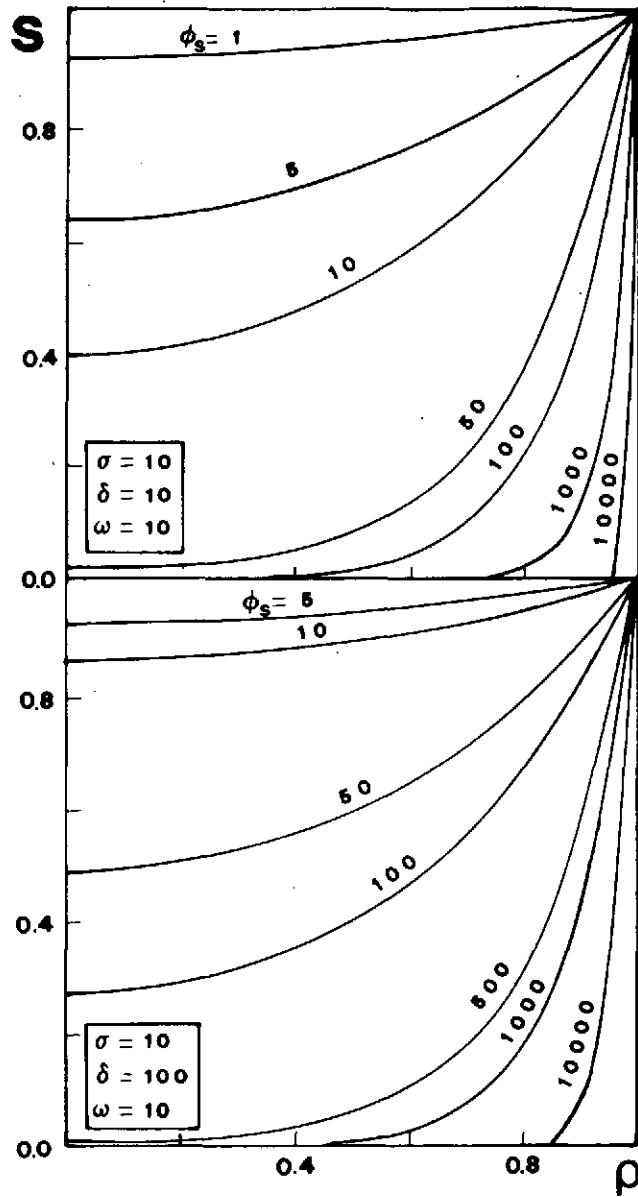


FIGURA 3. Perfiles radiales de concentración adimensional S , en estado estacionario, para distintos valores de los módulos ϕ_s , σ , δ y ω .

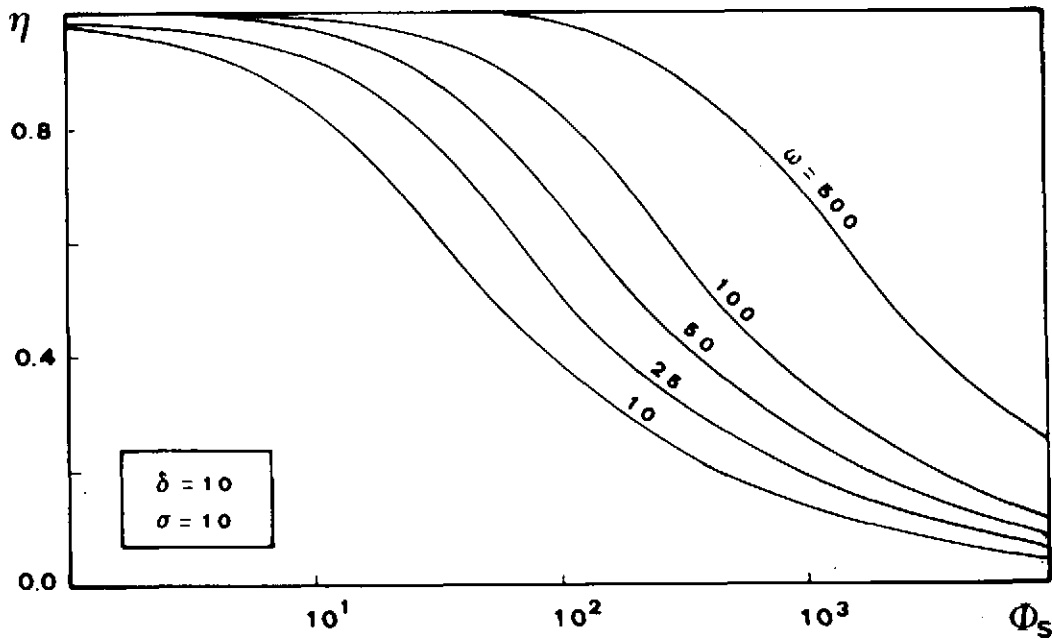


FIGURA 4. Factor de eficacia, en estado estacionario, para distintos valores de los módulos ϕ , σ , δ y ω .

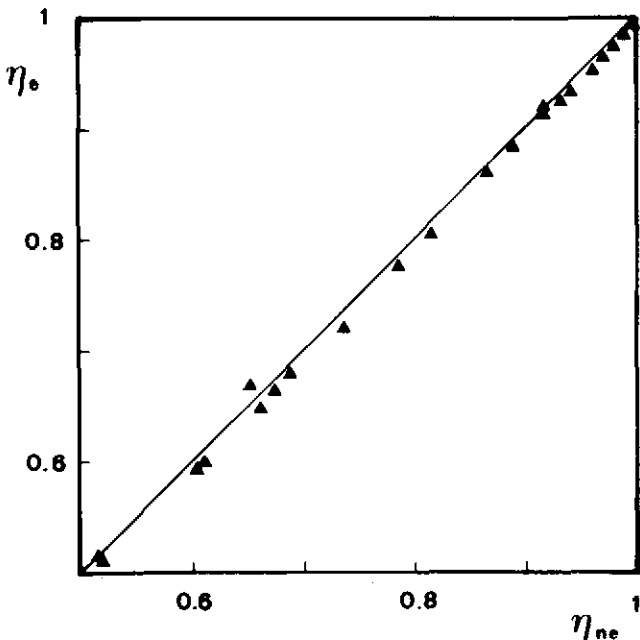


FIGURA 5. Comparación entre los factores de eficacia en estado estacionario y no estacionario.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 BÓDALO, A.; GÓMEZ, E.; GÓMEZ, J. L.; LÓPEZ-CABANES, A. y VÍLLORA, G.: Ingeniería Química, 19, 179 (1987).
- 2 BÓDALO, A.; GÓMEZ, E.; GÓMEZ, J. L.; LÓPEZ-CABANES, A.; BASTIDA, J. y MARTÍNEZ, E.: Anales de Química R.S.E.Q., 83, 234 (1987).
- 3 BÓDALO, A.; GÓMEZ, E.; GÓMEZ, J. L., BASTIDA, J. y LÓPEZ-CABANES, A.: Afinidad, 404, 355 (1986).
- 4 BÓDALO, A.; GÓMEZ, J. L., GÓMEZ, E., BASTIDA, J., IBORRA, J. L. y MANJÓN, A.: Enzyme and Microb. Technol., 8, 433 (1985).
- 5 BÓDALO, A.; GÓMEZ, E.; GÓMEZ, J. L.; BASTIDA, J. y LÓPEZ-CABANES, A.: Afinidad, 407, 52 (1987).
- 6 ATKINSON, B. y LESTER, D. E.: Biotechnol. Bioeng., 16, 1299 (1984).
- 7 LEE, S. B. y RYU, D. Y.; J.: Theor. Biol., 84, 256 (1980).
- 8 LEYPOLDT, J. K. y GOUGH, D. A.: Biotechnol. Bioeng., 24, 2705 (1982).
- 9 ENGASSER, J. M. y HISLAND, P.: J. Theor. Biol., 77, 427 (1979).
- 10 TSUKAMOTO, T.; MORITA, S. y OKADA, J.: Chem. Pharm. Bull., 30, 78 (1982).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado en parte por el proyecto BT 87-0015 de la CICYT.



NORMAS DE PUBLICACION

- 1. Presentación.** De cada trabajo se enviarán a la Secretaría de la Comisión de Publicaciones (Decanato-Facultad de Ciencias Químicas y Matemáticas-Universidad de Murcia), tres copias de buena calidad. En la primera página se hará constar exclusivamente: título del trabajo, autores y centro donde se ha realizado el trabajo. En la segunda página figurará el título del trabajo y un resumen del mismo (máximo 100 palabras) en lengua inglesa. A continuación del resumen se incluirá un máximo de seis palabras clave en inglés. La presentación de un trabajo para su aceptación supone que el mismo texto no ha sido enviado simultáneamente para su consideración a otra revista nacional o extranjera.
- 2. Contenido.** Los textos corresponderán a trabajos científicos originales y estarán redactados en tal forma que un investigador, especializado en la misma rama de la memoria, pueda, basándose en las indicaciones que aparecen en el texto, reproducir los experimentos, en su caso, y verificar la exactitud de las deducciones que han permitido llegar a sus conclusiones.
- 3. Redacción del texto.** Se presentará mecanografiado a doble espacio, en folio, sin correcciones y utilizando una sola de las caras (con suficiente margen a la izquierda), y con numeración correlativa en el ángulo superior derecho. Deberá dividirse en las partes necesarias para su claridad y orden de exposición. En los trabajos experimentales se recomienda la presentación de una parte crítica o introducción, una parte experimental y discusión de los resultados. La introducción, en la cual se expondrán los fines y objetivos perseguidos, deberá ser lo más breve posible. Se recomienda que el número de páginas mecanografiadas sea inferior a doce. El texto se redactará correctamente en castellano, inglés o francés.
- 4. Símbolos.** En la redacción, el autor se atenderá a las normas del Sistema Internacional en lo que respecta a unidades, símbolos y abreviaturas. La nomenclatura química se adaptará a las normas de la I.U.P.A.C.
- 5. Bibliografía.** Las citas bibliográficas irán numeradas al final del original. Para la denominación de las revistas se utilizarán las abreviaturas publicadas por Chemical Abstracts, Bibliographic Guide for Editor & Authors CA. 1974 y por Mathematical Reviews.
- 6. Fórmulas, figuras, gráficos y tablas.** Las fórmulas químicas que impliquen el uso de ciclos poligonales y/o líneas quebradas se dibujaran de manera que el tamaño de éstos, una vez reducidos, sea de 4 ó 5 mm. Las figuras y gráficos, en el original, se dibujarán a tinta china de color negro sobre papel vegetal o blanco de buena calidad. Todas las ilustraciones llevarán en su dorso numeración correlativa precedida de la palabra genérica Figura, además del nombre y apellidos del primer autor, todo ello a lápiz. Se procurará yuxtaponer aquellas gráficas que, sin perjuicio de la claridad, puedan referirse al mismo sistema de coordenadas, los números y letras deberán ser legibles después de la reducción del original (las figuras se publicarán a tamaño no superior a 10 cm. de ancho y de altura no superior a 8 cm.). Las tablas o cuadros esquemáticos deberán numerarse además de identificarse en su dorso tal como se ha indicado para las figuras. Deberá procurarse que la información que proporcionen gráficas y tablas no se duplique entre sí o con la que figura en el texto. No deberán reproducirse figuras o tablas ya publicadas en la bibliografía. Los textos del pie de las figuras, tablas y gráficos deberán acompañarse escritos a máquina en una hoja al final del trabajo. La situación aproximada de las figuras y tablas en el texto deberá señalarse mediante un recuadro; dentro de este recuadro se indicará el número de la figura o tabla.
- 7. Caracteres de imprenta**
Se ruega a los autores expresen en sus originales de la manera siguiente los estilos de los caracteres de letra que deban emplearse.
Subrayar con una línea — las palabras en *cursiva*
Subrayar con dos líneas == las palabras en **VERSALITAS**
Subrayar con tres líneas === las palabras en **VERSALES**
Subrayar con una línea las palabras en **negritas**.
- 8. Examen de los trabajos.** La Comisión de Publicaciones, de acuerdo con la información recibida de los Censores, aceptará los trabajos para su publicación o devolverá aquellos que hayan sido razonadamente desestimados, y los que su contenido no encuadre con el de la Revista, o no se ajusten a las presentes normas. Se solicitarán, en su caso, las modificaciones que se consideren oportunas.
- 9. Pruebas de imprenta.** Los autores indicarán las señas a las que deben enviarse las pruebas de imprenta, las cuales deberán devolverse, debidamente corregidas y junto con el trabajo original, en el plazo máximo de diez días a partir de la fecha de envío, pasado el cual perderá el trabajo su turno de publicación. En la corrección de pruebas no se admitirán modificaciones del texto original.
- 10. Separatas.** De cada trabajo se entregarán gratuitamente al autor 10 separatas. A petición de éste (hecha constar por escrito en la cubierta del original) podrán servírsele, a su cargo, las que desee.



ANALES DE CIENCIAS

VOLUMEN XLVII NÚMS. 1-4 1988

ÍNDICE

F. Martínez-Ortiz, J. Albaladejo y A. Molina	5	Aplicabilidad del modelo difusional para la formación de amalgama en cronopotenciometría con corriente programada en el electrodo de gotas de mercurio, después de un tiempo de reposo
J. Albaladejo, A. Molina, F. Martínez-Ortiz y M. López-Tenés	11	Análisis de la aplicabilidad de dos funciones corriente-tiempo, impuestas al EGM después de un tiempo de reposo, a partir de las ecuaciones de las concentraciones superficiales
F. Martínez-Ortiz, J. Albaladejo y A. Molina	17	Determinación de coeficientes de difusión a partir de medidas de tiempos de transición en cronopotenciometría con el EGM aplicando la perturbación después de un tiempo de reposo
A. López Cabanes, Gloria Villora Cano, María Tomás Martínez	23	Simulación de reactores tanque continuo autotérmicos
A. Pagán Muñoz, I. López García y M. Hernández Córdoba	29	Determinación espectrofotométrica de N-(2-Mercacaptopropionil) glicina (tiopronin) mediante análisis por inyección en flujo
J. C. Sánchez-Mayendia	33	Representación del efecto Doppler relativista en el modelo no euclideo de Poincare. Mediciones en el ábaco de Smith
R. Madrid, C. Ferrer, J. S. Ferrando, E. Pérez-Crespo, E. Balsalobre	39	Evolución de los parámetros físicos del fruto de limonero, variedad fino, mediante fertirrigación
J. López, F. Vicente F. Martínez Ortiz y J. Vera	47	Sobre las ecuaciones de Ruzic para los polarogramas de Kalousek de procesos reversibles $Ox + ne \rightleftharpoons Red$
A. Bódalo Santoyo, J. L. Gómez Carrasco, E. Gómez Gómez, J. Bastida Rodríguez y M. Tenés Hernández	53	Difusión y reacción en sistemas enzimáticos heterogéneos bisustrato