

Aplicación del Programa Matemático POLYMATH para la Determinación del Tipo de Inhibición de Reacciones Catalizadas por Enzimas

Duarte R., Menéndez A.

Universidad Nacional de Lanús, Carrera de Ciencia y Tecnología de los Alimentos
29 de Septiembre 3901, Remedios de Escalada (1826), Provincia de Buenos Aires, Argentina.
054-11-5533-5600 int. 5131, duarteroxana@gmail.com

Resumen - El presente trabajo pretende poner de manifiesto la versatilidad del programa matemático Polymath para efectuar regresiones.

Con el programa mencionado se llevaron a cabo correlaciones lineales para efectuar estimaciones iniciales y luego no lineales para obtener los valores de los parámetros de los distintos modelos de inhibición enzimática. Las regresiones se efectuaron sobre datos experimentales obtenidos del libro *Problem Solving in Chemical and Biochemical Engineering with Polymath, Excel and Matlab Second*, escrito por Michael Cutlip y Mordechal Shacham. (Ed. Prentice Hall 2009).

Se determinó el modelo que mejor ajustaba a los datos usando los parámetros estadísticos coeficiente de correlación y varianza.

Palabras claves: Polymath, inhibiciones enzimáticas, modelos, regresión, Michaelis-Menten, Lineweaver-Burk

Abstract - This paper aims to highlight the versatility of the mathematical program Polymath to perform regressions.

With this program, it was made linear correlations so as to get initial estimations of the parameters of the various models of enzymatic inhibition. The regressions were performed on experimental data from the book called *Problem Solving in Chemical and Biochemical Engineering with Polymath, Excel and Matlab Second*, written by Michael Cutlip y Mordechal Shacham. (Ed. Prentice Hall 2009).

It was determined the model that best fit the data, using statistical parameters correlation coefficient and variance.

Keywords: Polymath, enzymatic inhibitions, models, regression, Michaelis-Menten, Lineweaver-Burk

INTRODUCCIÓN

La actividad enzimática puede ser disminuida o eliminada por la acción de ciertas sustancias a las cuales se les conoce con el nombre de inhibidores enzimáticos.

La unión de un inhibidor a la enzima puede impedir

la entrada del sustrato a su sitio activo y obstaculizar la catálisis de la reacción correspondiente. Esta unión del inhibidor puede ser reversible o irreversible. Normalmente los inhibidores irreversibles reaccionan con la enzima de forma covalente modificando su estructura química. En cambio los inhibidores reversibles se unen a la enzima de forma no covalente.

lente dando lugar a diferentes tipos de inhibiciones dependiendo de si el inhibidor se une a la enzima, al complejo enzima-sustrato o a ambos al mismo tiempo. Son del tipo puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y enlaces iónicos. Los enlaces débiles múltiples entre el inhibidor y el sitio activo se combinan para producir una unión fuerte y específica sin que ocurran uniones químicas. El inhibidor puede ser removido fácilmente por dilución.

La inhibición reversible puede afectar a la V_{max} y/o a la K_M de la ecuación de Michaelis- Menten ($V = V_{max} [S]/K_M + [S]$) ya sea:

- Si solo afecta al K_M la inhibición es competitiva.
- Si solo afecta a la V_{max} la inhibición es no-competitiva.
- Si afecta tanto a la K_M como a la V_{max} la inhibición es incompetitiva o mixta.

En el libro Principles of Biochemistry (*Lehninger et al., 2009*) se describen los diferentes tipos de inhibición de la siguiente manera:

“En la inhibición competitiva el sustrato y el inhibidor no se pueden unir a la misma enzima al mismo tiempo. Ésto generalmente ocurre cuando el inhibidor tiene afinidad por el sitio activo de una enzima donde el sustrato también se une; el sustrato y el inhibidor compiten para el acceso al sitio activo de la enzima. Este tipo de inhibición se puede superar con concentraciones suficientemente altas del sustrato, es decir, dejando fuera de competición al inhibidor.

En la inhibición no-competitiva el inhibidor se une a otro sitio distinto del sitio activo de la enzima: la unión modifica la configuración tridimensional de la enzima y bloquea la reacción. Este tipo de inhibidor no compete directamente con el sustrato para unirse a la enzima y, por lo tanto, este tipo de inhibición no disminuye cuando aumenta la concentración del sustrato. El grado de inhibición depende solamente de la concentración del inhibidor.

La inhibición es incompetitiva o mixta cuando el inhibidor se puede unir a la enzima al mismo tiempo que el sustrato por lo que el inhibidor ejerce su efec-

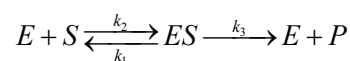
to sólo a altas concentraciones de sustrato (cuando hay gran cantidad de complejo enzima-sustrato). Es decir, el inhibidor se une sólo al complejo enzima-sustrato pero no a la enzima libre. Por lo tanto, variando la concentración de sustrato se evita la unión con el inhibidor. En este tipo de inhibición el inhibidor se une a otro sitio que no es el sitio activo de la enzima.

En la inhibición por sustrato o por producto de una reacción enzimática son éstos los que inhiben la actividad enzimática. Este tipo de inhibición puede seguir los patrones competitivos, no competitivos o incompetitivos. En la inhibición por sustrato hay una disminución progresiva de la actividad a altas concentraciones de sustrato. Ésto puede indicar la existencia de dos sitios de unión entre sustrato y enzima. Cuando hay poco sustrato se ocupa el sitio de alta afinidad y sigue la cinética normal. Sin embargo, a altas concentraciones, el segundo sitio de inhibición se ocupa inhibiendo a la enzima”.

Con este trabajo se busca poner de manifiesto las ventajas del programa Polymath para determinar los parámetros de los modelos de inhibición tratados mediante la regresión de datos experimentales obtenidos de la bibliografía mencionada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se presenta a continuación la cinética enzimática:



siendo E la enzima, S el sustrato, P el producto y k las constantes de la reacción correspondiente.

La representación gráfica de la ecuación de Michaelis-Menten, es decir de la dependencia de la velocidad de reacción con la concentración de sustrato, se muestra en la Fig. 1 extraída del libro Principles of Biochemistry. La V_{max} corresponde al valor máximo de velocidad al que tiende la curva. K_M es la concentración de sustrato a la cual la velocidad de la reacción es la mitad de la V_{max} .

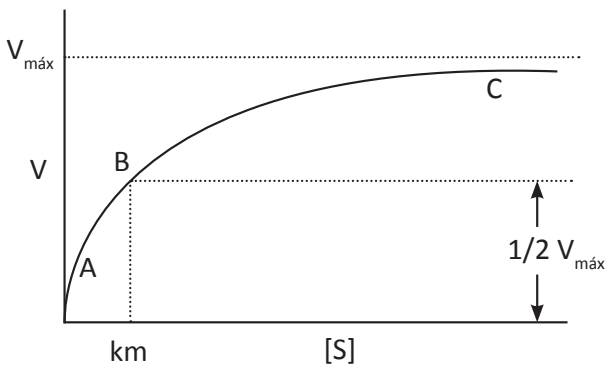


Fig. 1 - Velocidad de reacción V versus concentración de sustrato $[S]$

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

La velocidad de reacción máxima que presenta la enzima es un parámetro importante para su estudio. Dicho valor será alcanzado cuando la concentración del complejo enzima-sustrato alcance su valor máximo. Esta concentración ocurrirá cuando toda la enzima disponible forme parte del complejo con el sustrato, es decir, cuando la concentración de enzima libre sea igual a cero. Esta condición se conoce como saturación de la enzima con el sustrato. Dicha velocidad es por lo tanto una función de la concentración de la enzima en la reacción.

Los valores de K_M de las enzimas varían ampliamente. Para la mayoría de ellas K_M varía entre 10^{-1} y 10^{-6} M. El valor de K_M para una enzima depende de cada sustrato particular y también de las condiciones ambientales como temperatura y fuerza iónica. K_M es la concentración de sustrato a la cual la mitad de los centros activos están ocupados y la misma relaciona las constantes de velocidad de las etapas individuales. Una K_M alta indica una unión enzima-sustrato débil, una K_M baja indica una unión fuerte. K_M indica la afinidad del complejo ES.

Para determinar gráficamente los valores de K_M y $V_{\text{máx}}$ es más sencillo utilizar la representación doble recíproca ($1/V$ frente a $1/[S]$), ya que se trata de una línea recta (Fig. 2). Esta representación doble recíproca recibe el nombre de representación de Lineweaver-Burk y es una recta en la cual:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{\text{máx}}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\text{máx}}}$$

- La pendiente es $K_M/V_{\text{máx}}$.
- La abscisa en el origen ($1/V = 0$) es $-1/K_M$ (es la solución de la ecuación).
- La ordenada en el origen ($1/[S] = 0$) es $1/V_{\text{máx}}$.

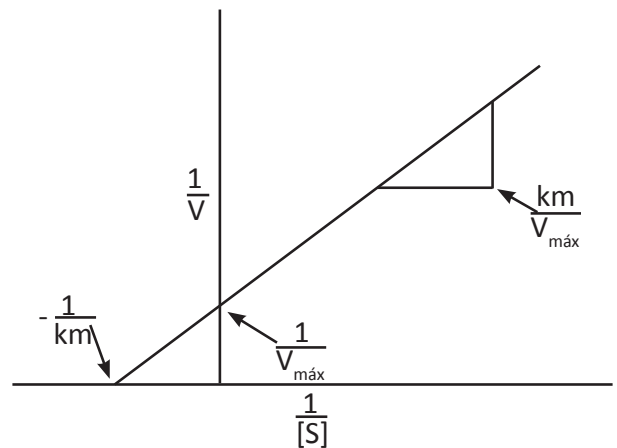


Fig. 2 - Representación de $1/V$ versus $1/[S]$

De esta forma a partir de datos experimentales se pueden calcular los valores de K_M y $V_{\text{máx}}$ de una enzima para el sustrato en diferentes condiciones o en presencia de inhibidores.

Los datos de velocidad de reacciones enzimáticas son determinados generalmente a partir del análisis de los datos de velocidad inicial en un reactor batch, donde $[E_0]$ es la concentración de enzima y $[S]$ la concentración de sustrato.

La ecuación de Michaelis-Menten generalmente utilizada para correlacionar los datos de velocidad es la siguiente:

$$V = \frac{V_{\text{máx}} [S]}{K_M + [S]} = \frac{k_2 [E_0][S]}{K_M + [S]}$$

donde los parámetros k_2 (la constante cinética individual para pasar de $E + S$ a ES) y K_M varían con la

temperatura.

Para obtener los valores de los parámetros V_{max} y K_M se requiere llevar la ecuación de Michaelis-Menten a una forma lineal, lo que se logra con la transformación de Lineweaver-Burk. En realidad, con esta linealización se efectúan las estimaciones iniciales de los parámetros V_{max} y K_M para una correcta regresión no-lineal de dicha ecuación.

En este trabajo se pretende, mediante el uso del Polymath, estimar los valores de k_2 y K_M a 32°C cuando no hay presente inhibidor a partir de los datos de corridas experimentales que se indican en la Tabla 1, extraída del libro *Problem Solving in Chemical and Biochemical Engineering with Polymath, Excel and Matlab* (2009).

E_0 gr/dm ³	T °C	S M (molar)	I M (molar)	V M/min
1.3	32.	0.2	0	3.11
1.3	32.	0.15	0	2.81
1.3	32.	0.1	0	2.40
1.3	32.	0.075	0	2.06
1.3	32.	0.05	0	1.64
1.3	32.	0.025	0	1.04
1.3	32.	0.01	0	0.467
1.3	32.	0.005	0	0.256
2.1	32.	0.2	0.7	2.33
2.1	32.	0.15	0.7	2.11
2.1	32.	0.1	0.7	1.74
2.1	32.	0.075	0.7	1.54
1.6	32.	0.2	0.4	2.31
1.6	32.	0.15	0.4	2.10
1.6	32.	0.1	0.4	1.75
1.6	32.	0.075	0.4	1.57
0.8	45.	0.2	0	4.36
0.8	45.	0.15	0	3.89
0.8	45.	0.1	0	3.55
0.8	45.	0.075	0	3.07
0.8	45.	0.05	0	2.53
0.8	45.	0.025	0	1.65
0.8	45.	0.01	0	0.777
0.8	45.	0.005	0	0.430

Tabla 1 - Datos de las corridas experimentales

También se pretende determinar el modo de inhibición y los parámetros de su ecuación de velocidad a 32°C. Para ello se presentan en la Fig. 3 cuatro modelos de inhibición y sus correspondientes expresiones de velocidad, donde la concentración del inhibidor está dada por $[I]$ y V_{max} y puede ser reemplazada por $V_{max} = k_2 E_0$.

Tipo de inhibición	Expresión de la velocidad de reacción
Ninguna	$V = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]}$
Competitiva	$V = \frac{V_{max} [S]}{K_M \left(1 + \frac{I}{K_I}\right) + [S]}$
No-competitiva	$V = \frac{V_{max}}{\left(1 + \frac{I}{K_I}\right) \left(1 + \frac{K_M}{[S]}\right)}$
Incompetitiva	$V = \frac{\frac{V_{max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)} [S]}{\frac{K_M}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)} + [S]}$
Inhibición por sustrato	$V = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S] + \frac{[S]^2}{K_S}}$

Fig. 3 - Expresiones de velocidad de reacción para inhibición enzimática

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La regresión no-lineal de una expresión requiere de buenas estimaciones iniciales para los parámetros desconocidos.

	E ₀	TC	S	I	V	INVv	INVs
01	1.3	32	0.2	0	3.11	0.3215434	5.
02	1.3	32	0.15	0	2.81	0.3558719	6.666667
03	1.3	32	0.1	0	2.4	0.4166667	10.
04	1.3	32	0.075	0	2.06	0.4854369	13.33333
05	1.3	32	0.05	0	1.64	0.6097561	20.
06	1.3	32	0.025	0	1.04	0.9615385	40.
07	1.3	32	0.01	0	0.467	2.141328	100.
08	1.3	32	0.005	0	0.256	3.900625	200.

Tabla 2 - Datos experimentales a 32°C sin inhibidor

Mediante el uso de los programas de regresión y análisis de datos de Polymath se puede ajustar los datos sin inhibidor a 32° C (primeros 8 puntos de dato de la Tabla 1) transformándolos y escribiendo en dos nuevas columnas las inversas de la velocidad

POLYMATH Report
Linear Regression

Model: INVv = a0 + a1*INVs

Variable	Value	95% confidence
a0	0.2380565	0.0289542
a1	0.0184657	0.0003579

General

Regression including a free parameter
Number of observations = 8

Statistics

R^2	0.9996236
R^2adj	0.9995609
Rmsd	0.0081169
variance	0.0007028

Source data points and calculated data points

	INVs	INVv	INVv calc	Delta INVv
1	5	0.3215131	0.3303849	-0.0088415
2	6.666667	0.3558719	0.361161	-0.0052891
3	10	0.4166667	0.4227132	-0.0060165
4	13.33333	0.4854309	0.4842654	0.0011715
5	20	0.6097561	0.6073699	0.0023862
6	40	0.9615385	0.9766833	-0.0151448
7	100	2.141328	2.081623	0.0567015
8	200	3.90625	3.93119	-0.0249404

Tabla 3 - Resultados de la regresión lineal

(1/V) y de la concentración de sustrato (1/[S]) (Tabla 2). Estas variables transformadas pueden ser utilizadas luego en una regresión lineal conduciendo a los resultados que se observan en la Tabla 3.

Observar que la estimación del parámetro V_{max} puede ser realizada del resultado arrojado para la variable $a0$ ya que:

$$V_{max} = 1/a0 = 1/0.2380565 = 4.202 \text{ M/min},$$

y el parámetro K_M está dado por $a1/a0$.

$$K_M = a1/a0 = 0.0184657/0.2380565 = 0.07757 \text{ M}.$$

Estos valores de V_{max} y K_M serán utilizados como estimaciones iniciales en la regresión no-lineal de la ecuación de Michaelis-Menten.

En la Fig. 4 se observa cómo solicitar una regresión lineal. Se observa que en este caso la variable dependiente es la inversa de V (1/V) y la variable independiente la inversa de $[S]$ (1/[S]). Se aprecia también que sólo se ha solicitado un informe de los resultados de la regresión. También se señaló al programa que la regresión lineal no pasa por el origen de coordenadas.

En la Fig. 5 se observa una gráfica de los resultados de la regresión lineal.

A continuación se llevó a cabo la regresión no-lineal de la ecuación de Michaelis-Menten para obtener los valores de k_2 y K_M a 32°C sin la pre-

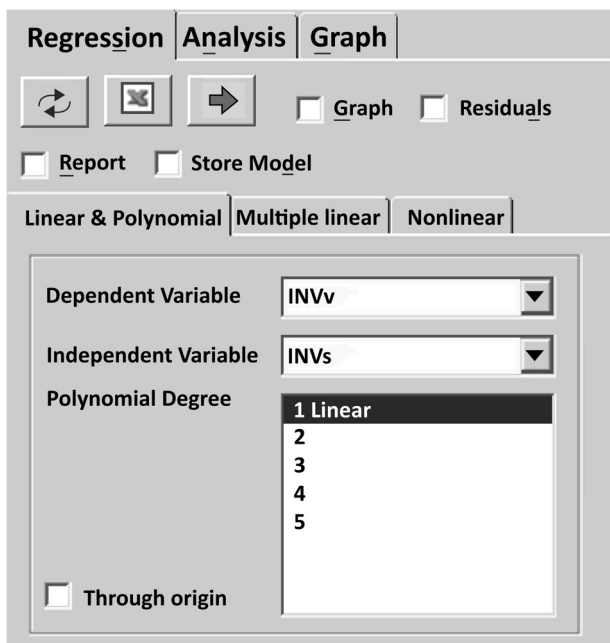


Fig. 4 - Especificación de la regresión lineal

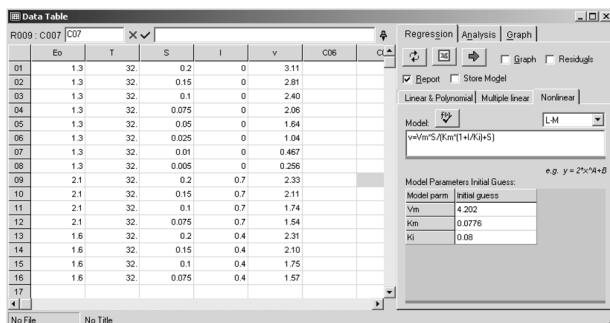


Fig. 5 - Regresión lineal

sencia de inhibidor utilizando como estimaciones iniciales los valores de K_M y V_{max} calculados en la regresión lineal.

En la Fig. 6 se observa la información suministrada a Polymath para llevar a cabo la regresión no-lineal. Allí se puede apreciar el modelo (Michaelis-Menten) y los valores iniciales de los parámetros a ajustar, $V_{max} = 4.202$ y $K_M = 0.0776$. También se aprecian las variables dependiente (V), independiente (S), del modelo (V_{max} y K_M) y otras.

En la Tabla 4 se presenta el informe de resultados de la regresión. Allí se observa que los valores

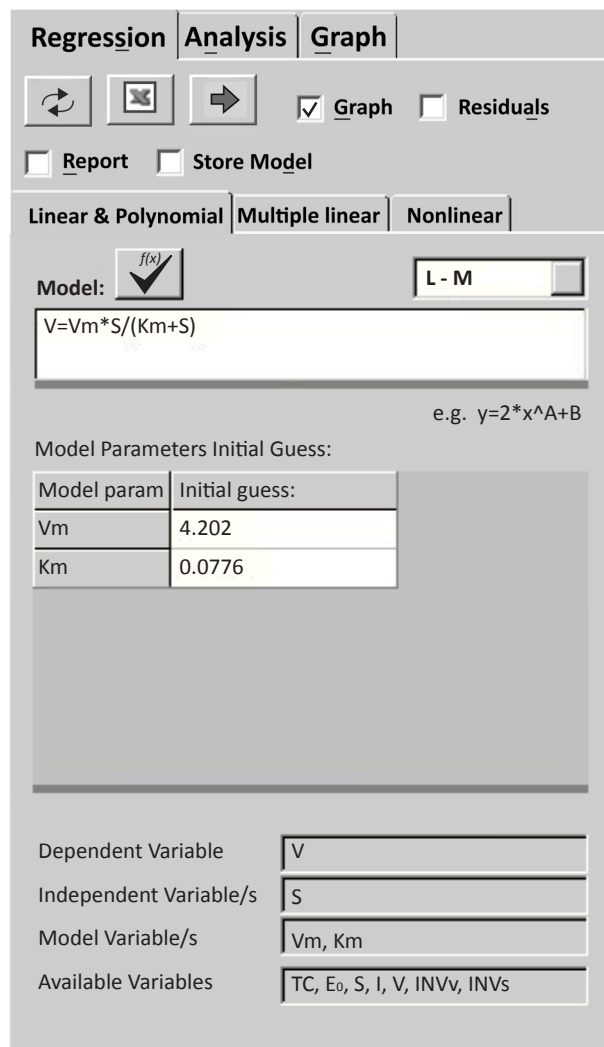


Fig. 6 - Especificación del modelo, valores iniciales y variables de la regresión no-lineal

calculados para V_{max} y K_M son:

$$V_{max} = 4.383222 \text{ M/min}$$

$$K_M = 0.0830883 \text{ M}$$

Como

$$V_{max} = k_2 E_0$$

es

$$k_2 = V_{max}/E_0 = 4.383222/1.3 = 3.371709 \text{ min}^{-1}$$

Variable	Initial guess	Value	95% confidence
Vm	4.202	4.383222	0.1011313
Km	0.0776	0.0830853	0.004362

Nonlinear regression settings

Max # iterations = 64

Precision

R ²	0.999809
R ² adj	0.9997772
Rmsd	0.0048496
Variance	0.0002509

General

Sample size	8
Model vars	2
Indep vars	1
Iterations	4

Source data points and calculated data points

	S	V	V calc	Delta V
1	0.2	3.11	3.096717	0.0132835
2	0.15	2.81	2.820747	-0.0107471
3	0.1	2.4	2.394047	0.0059525
4	0.075	2.06	2.079481	-0.0194806
5	0.05	1.64	1.646734	-0.006734
6	0.025	1.04	1.013805	0.0261946
7	0.01	0.467	0.4708669	-0.0038669
8	0.005	0.256	0.2487969	0.0072031

Tabla 4 - Resultados de la regresión no-lineal

En la Fig. 7 se observa el diagrama residual de la correlación no-lineal. Allí se puede apreciar que los errores (Valor experimental - valor calculado) están distribuidos en forma aleatoria lo que sugiere que la regresión del modelo es bastante adecuada.

Finalmente en la Fig. 8 se presenta un gráfico donde se puede observar la pequeña diferencia que hay entre los valores experimentales y los calculados para cada uno de los ocho puntos de dato.

A continuación se determinará el modelo de in-

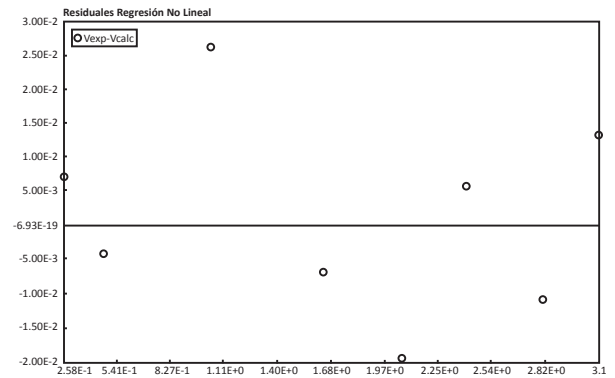


Fig. 7 - Diagrama residual de la regresión no-lineal

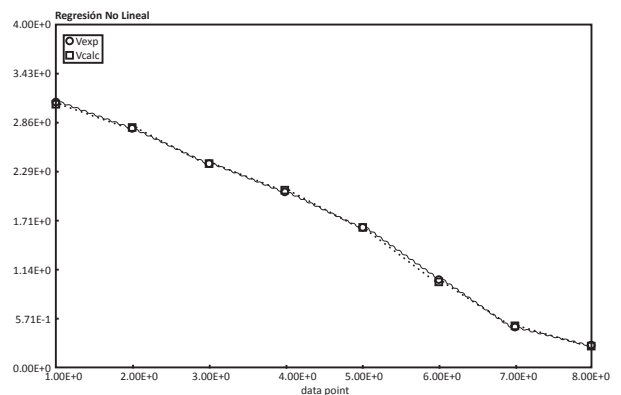


Fig. 8 - Valores de V experimental y V calculado para los 8 puntos de dato

hibición que mejor ajuste los datos experimentales. Para ello se utilizarán los datos a 32°C y se asumirá una estimación inicial para K_I y K_S igual a 0,08. Estas dos corresponden a las constantes resultantes cuando la reacción está inhibida con el inhibidor y con el sustrato respectivamente. Los valores iniciales para V_{max} y K_M serán los mismos que los utilizados en la regresión no-lineal anterior ($V_{max} = 4.202$ y $K_M = 0.0776$).

En la Tabla 5 se muestran los 16 puntos de dato a 32°C con el modelo de inhibición competitiva y los valores iniciales para los parámetros del modelo V_{max} , K_M y K_I .

En la Tabla 6 se muestra el informe con los resultados de la regresión no-lineal de la inhibición competitiva.

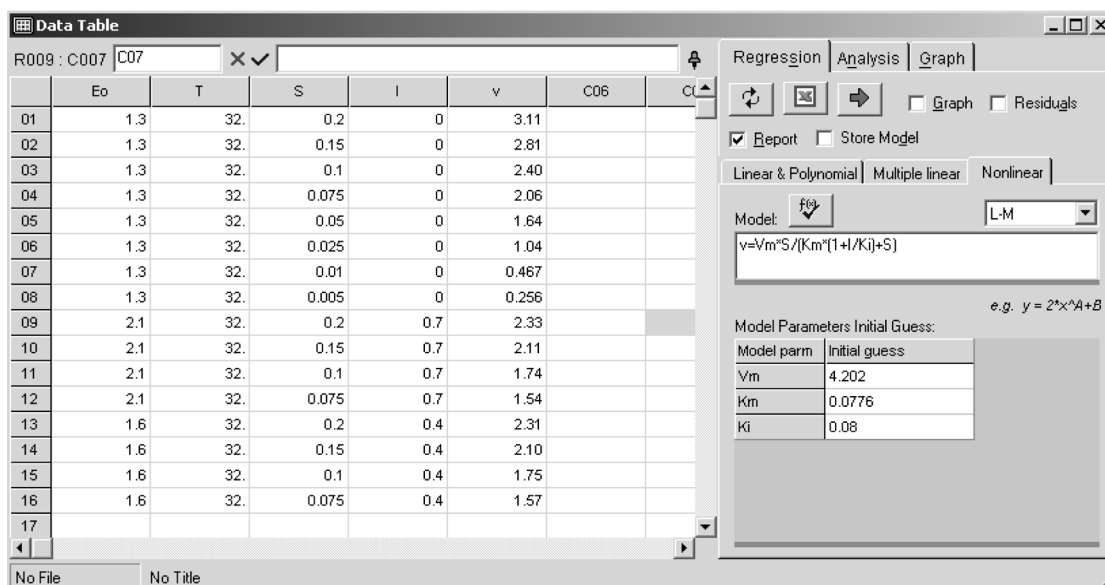


Tabla 5 - Especificación de la regresión no-lineal de la inhibición competitiva

POLYMATH Report
Nonlinear Regression (L-M)

Model: $v = Vm * S / (Km * (1 + I/Ki) + S)$

Variable	Initial guess	Value	95% confidence
Vm	4.202	4.020754	0.5101947
Km	0.0776	0.0704426	0.0221971
Ki	0.08	0.6330897	0.2105239

Nonlinear regression settings

Max # iterations = 64

Precision

R ²	0.9780849
R ² adj	0.9747133
Rmsd	0.0273998
variance	0.014784

General

Sample size	16
Model vars	3
Indep vars	2
Iterations	8

Source data points and calculated data points

	S	I	V	V calc	Delta V
1	0.2	0	3.11	2.973462	0.1365383
2	0.15	0	2.81	2.735919	0.0740813
3	0.1	0	2.4	2.359007	0.0409926
4	0.075	0	2.06	2.073371	-0.0133713
5	0.05	0	1.64	1.669157	-0.0291575
6	0.025	0	1.04	1.053186	-0.0131862
7	0.01	0	0.467	0.4998288	-0.0328288
8	0.005	0	0.256	0.2664776	-0.0104776
9	0.2	0.7	2.33	2.308588	0.0214125
10	0.15	0.7	2.11	2.021629	0.0883707
11	0.1	0.7	1.74	1.619116	0.1208841
12	0.075	0.7	1.54	1.350272	0.1897279
13	0.2	0.4	2.31	2.553266	-0.2432664
14	0.15	0.4	2.1	2.27633	-0.1763295
15	0.1	0.4	1.75	1.870555	-0.1205547
16	0.075	0.4	1.57	1.587559	-0.017559

Tabla 6 - Resultados de la regresión no-lineal de la inhibición competitiva

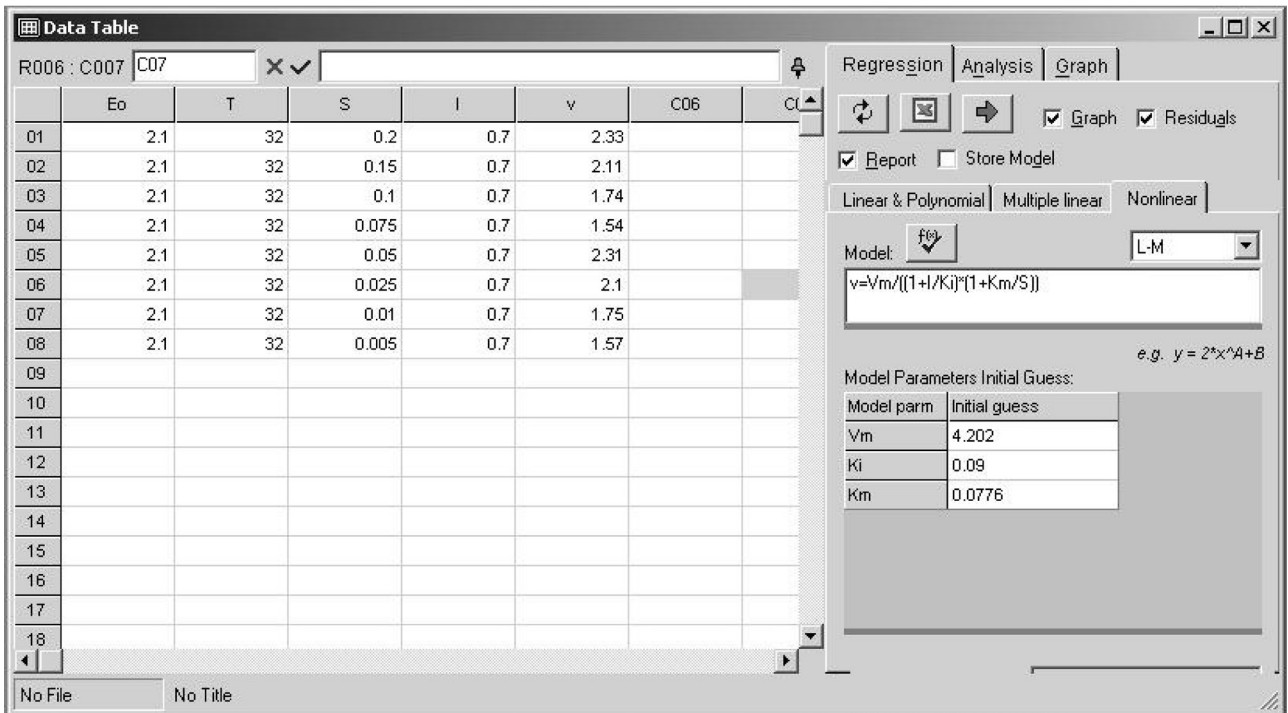


Tabla 7 - Especificación de la regresión no-lineal de la inhibición no-competitiva

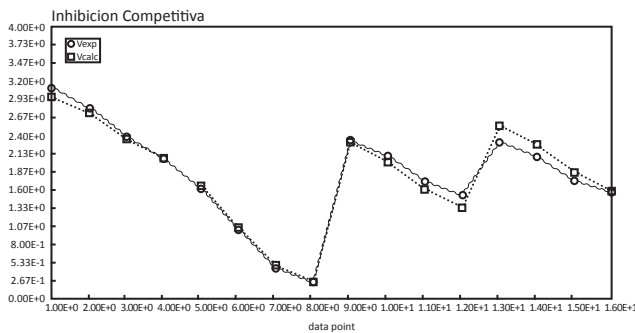


Fig. 9 - Valores de V experimental y V calculado de la inhibición competitiva

En la Fig. 9 se muestran gráficamente los valores de V experimental y V calculado para los 16 puntos de datos de regresión no-lineal en el uso de la inhibición competitiva.

En la Tabla 7 se muestran los 16 puntos de dato a 32°C con el modelo de inhibición no-competitiva y los valores iniciales para los parámetros del modelo V_{max} , K_M y K_I .

En la Tabla 8 se muestran los resultados de la regresión no-lineal de la inhibición no-competitiva.

En la Fig. 10 se muestran gráficamente los valores de V experimental y V calculado para los 16 puntos de datos de la regresión no-lineal de la inhibición no-competitiva.

En la Tabla 9 se muestran los 16 puntos de dato a 32°C con el modelo de inhibición incompetitiva y los valores iniciales para los parámetros del modelo, V_{max} , K_M y K_I .

En la Tabla 10 se muestra el reporte de resultados de la regresión no-lineal de la inhibición incompetitiva.

En la Fig. 11 se muestran gráficamente los valores de V experimental y V calculado para los 16 puntos de dato de la regresión no-lineal de la inhibición incompetitiva.

En la Tabla 11 se muestran los 16 puntos de dato a 32°C con el modelo de inhibición por sustrato y los valores iniciales para los parámetros del modelo, V_{max} , K_M y K_S .

POLYMATH Report
Nonlinear Regression (L-M)

Model: $v = Vm / ((1 + I/Ki) * (1 + Km/S))$

Variable	Initial guess	Value	95% confidence
Vm	4.202	4.311182	0.510483
Ki	0.08	1.729478	0.4270925
Km	0.0776	0.0825999	0.0220255

Nonlinear regression settings

Max # iterations = 64

Precision

R ²	0.9728794
R ² adj	0.9802454
Rmsd	0.0242178
variance	0.0115496

General

Sample size	16
Model vars	3
Indep vars	2
Iterations	8

Source data points and calculated data points

	I	S	V	V calc	Delta V
1	0	0.2	3.11	3.051085	0.0589151
2	0	0.15	2.81	2.780213	0.0297872
3	0	0.1	2.4	2.360999	0.0390012
4	0	0.075	2.06	2.051642	0.0083578
5	0	0.05	1.64	1.625635	0.0143648
6	0	0.025	1.04	1.001669	0.0383306
7	0	0.01	0.467	0.4655708	0.0014292
8	0	0.005	0.256	0.2460723	0.0099277
9	0.7	0.2	2.33	2.171983	0.1580172
10	0.7	0.15	2.11	1.979156	0.1308436
11	0.7	0.1	1.74	1.68073	0.0592704
12	0.7	0.075	1.54	1.460507	0.0794928
13	0.4	0.2	2.31	2.477971	-0.1679708
14	0.4	0.15	2.1	2.257979	-0.1579791
15	0.4	0.1	1.75	1.91751	-0.16751
16	0.4	0.075	1.57	1.666263	-0.0962628

Tabla 8 - Resultados de la regresión no-lineal de la inhibición no-competitiva

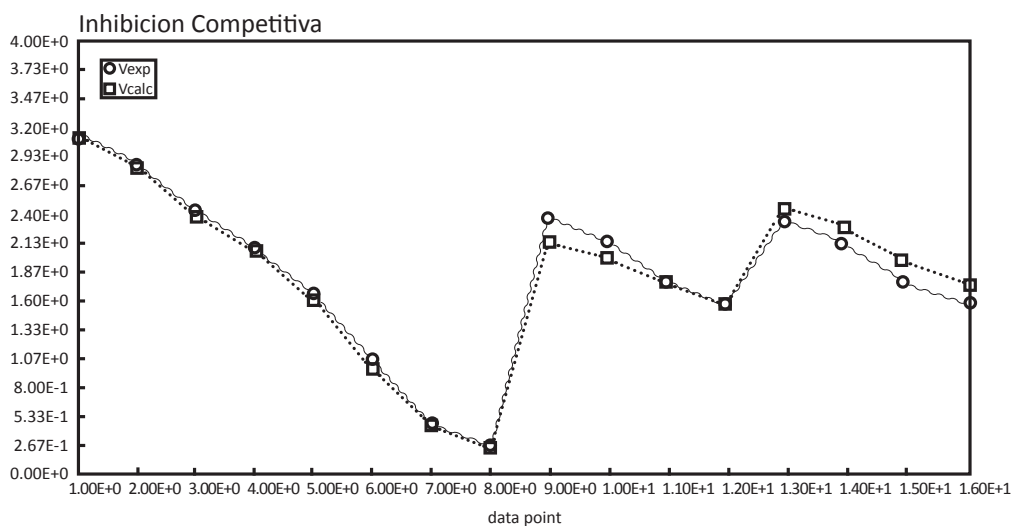


Fig. 10 - Valores de V experimental y V calculado de la inhibición no-competitiva

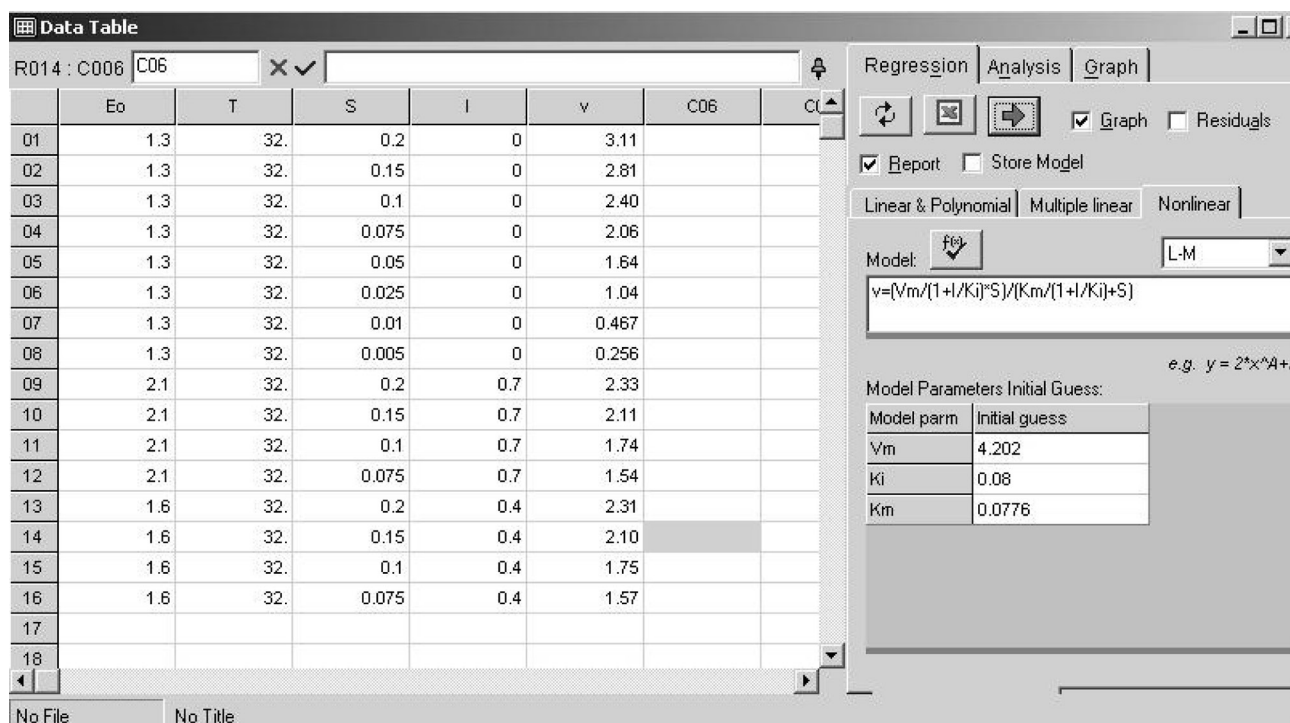


Tabla 9 - Especificación de la regresión no-lineal de la inhibición incompetitiva

POLYMATH Report
Nonlinear Regression (L-M)

Model: $v = Vm / ((1 + Ki * S) / (Km / (1 + Ki) + S))$

Variable	Initial guess	Value	95% confidence
Vm	4.202	4.472716	0.6736843
Ki	0.08	1.042316	0.3463368
Km	0.0776	0.0907836	0.0294688

Nonlinear regression settings

Max # iterations = 64

Precision

R ²	0.9783838
R ² adj	0.9750582
Rmsd	0.0272123
variance	0.0145823

General

Sample size	16
Model vars	3
Indep vars	2
Iterations	8

Tabla 10 - Resultados de la regresión no-lineal de la inhibición incompetitiva

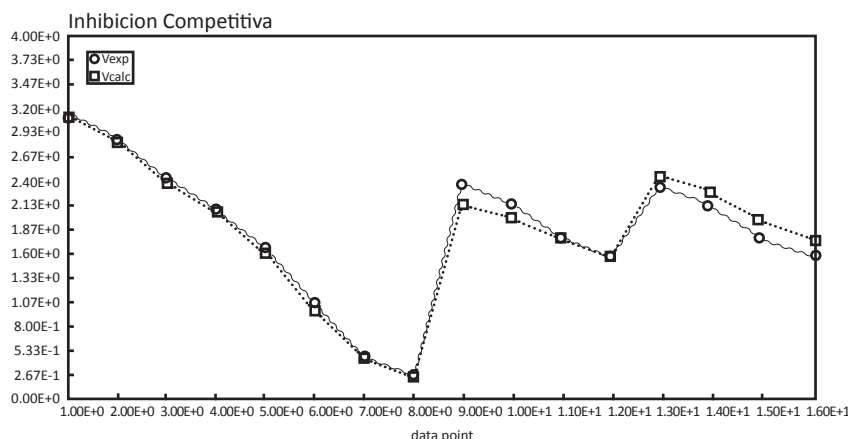


Fig. 11 - Valores de V experimental y V calculado de la inhibición incompetitiva

	Eo	T	S	I	v	C06
01	1.3	32.	0.2	0	3.11	
02	1.3	32.	0.15	0	2.81	
03	1.3	32.	0.1	0	2.40	
04	1.3	32.	0.075	0	2.06	
05	1.3	32.	0.05	0	1.64	
06	1.3	32.	0.025	0	1.04	
07	1.3	32.	0.01	0	0.467	
08	1.3	32.	0.005	0	0.256	
09	2.1	32.	0.2	0.7	2.33	
10	2.1	32.	0.15	0.7	2.11	
11	2.1	32.	0.1	0.7	1.74	
12	2.1	32.	0.075	0.7	1.54	
13	1.6	32.	0.2	0.4	2.31	
14	1.6	32.	0.15	0.4	2.10	
15	1.6	32.	0.1	0.4	1.75	
16	1.6	32.	0.075	0.4	1.57	
17						
18						

Data Table

R008 : C006 C06

Regression Analysis Graph

Report Store Model

Linear & Polynomial Multiple linear Nonlinear

Model: L-M

$v = V_m * S / (K_m + S + S^2 / K_s)$

e.g. $y = 2 * x^A + B$

Model Parameters Initial Guess:

Model parm	Initial guess
V_m	4.202
K_m	0.0776
K_s	0.08

Tabla 11 - Especificación de la regresión no-lineal de la inhibición por sustrato

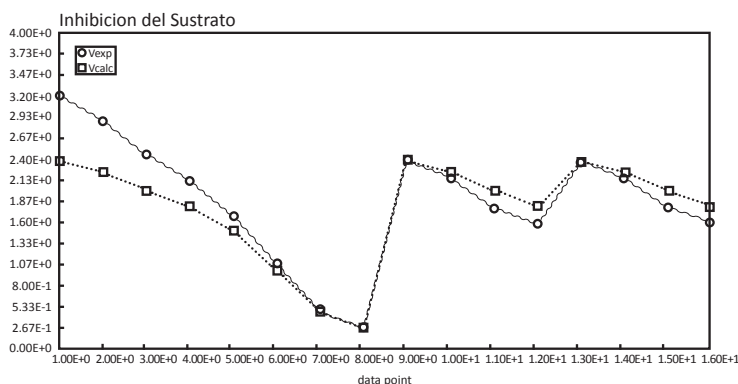
En la Fig. 12 se muestran gráficamente los valores de V experimental y V calculado para los 16 puntos de datos de la regresión no-lineal de la inhibición por sustrato.

En la Tabla 13 se indican los valores del coeficiente de correlación R^2 y de la varianza para los

cuatro modelos de inhibición considerados.

CONCLUSIONES

A partir de los valores calculados de R^2 y de la varianza se puede concluir que el modelo propuesto para el tipo de inhibición no-competitivo es



Tipo de Inhibición	R ²	Varianza
Competitiva	0.9780849	0.014784
No-competitiva	0.9828794	0.0115496
Incompetitiva	0.9783838	0.0145823
Por sustrato	0.8251878	0.1179284

Tabla 13 - Valores del coeficiente de correlación R² y varianza para los modelos considerados

el que mejor ajusta los datos experimentales.

Se puede apreciar también que el software de cálculo Polymath es una herramienta de suma utilidad para resolver regresiones lineales y no-lineales.

Estas regresiones realizadas en forma manual consumen un tiempo de cálculo importante. En este trabajo se buscó fundamentalmente transmitir al lector conocimiento sobre el uso del programa en cuestión determinando modelos de inhibición enzi-

mática y obteniendo el valor de sus parámetros.

REFERENCIAS

Cutlip & Sacham, "Problem Solving in Chemical and Biochemical Engineering with Polymath, Excel and Matlab", Prentice Hall International Series, NYC, 2009.

Lehninger, Nelson & Cox, "Principles of Biochemistry", Editorial Omega, Barcelona, 2009.