

Aplicación de las herramientas informáticas en el tratamiento de la información científica

Mauricio Restrepo Gallego¹

Application of the computer tools in the treatment of the scientific information

Resumen

Con la realización de un ejercicio sencillo de análisis de cinética enzimática, se ilustra el empleo de las herramientas informáticas, en este caso Microsoft Excel, para hacer un tratamiento ágil y confiable de la información en un proceso científico. Se hace una presentación teórica de este tema particular de Bioquímica y se indica paso a paso el procedimiento para llegar a obtener los resultados deseados sin incurrir en profundizaciones científicas y de programación.

Palabras clave: Informática. Software. Estadística. Cinética enzimática. Bioquímica. Estimación lineal.

Abstract

By making a simple exercise of enzymatic kinetic analysis, we show the use of computer tools (Microsoft Excel in this case) for an agile and reliable treatment of the information in a scientific process. A theoretical presentation on this particular topic is made, and the procedure is shown step by step, in order to illustrate the desired results, without getting into scientific and programming schemes.

Key Words: Informatics. Software. Statistics. Enzymatic kinetics. Biochemistry. Lineal estimation.

Introducción

Las herramientas informáticas pasaron de ser complejas cadenas de programación para el análisis y gestión de la información a ambientes totalmente amigables y de fácil acceso a usuarios con formación básica en el manejo de software. De hecho, hay actualmente numerosos paquetes que permiten un tratamiento ágil de los datos de tal forma que su análisis y la emisión de conclusiones sobre ellos se hacen más rápido y con mayor confiabilidad que tiempos atrás.

Sin embargo, no es necesario contar con software especializado —y por lo general muy costoso— para el tratamiento de paquetes de datos en medio de un proceso investigativo; suites integradas como Microsoft® Office® cuentan con una aplicación muy conocida, Excel, que a simple vista puede

ser una hoja electrónica para almacenar datos en filas y columnas sin mayores tratamientos analíticos, pero que con una mirada más exhaustiva a sus herramientas se convierte en un potente medio para analizar la información.

Empleando un caso de estudio de Bioquímica: la Cinética Enzimática, se explicará el empleo de algunas funciones incorporadas en Excel para el tratamiento estadístico y matemático de los datos.

El caso para analizar

Al estudiar el comportamiento de la enzima invertasa en una investigación sobre agentes inhibidores de la inversión de la sacarosa en productos de confitería, se encontró la siguiente relación de datos entre la concentración del sustrato

¹ Ingeniero de Alimentos – Corporación Universitaria Lasallista, Especialista en Pedagogía y Psicología, profesor del Programa de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingenierías. Director del Grupo de Investigaciones Alimentarias GRIAL. Corporación Universitaria Lasallista

Correspondencia: Mauricio Restrepo Gallego, email: marestrepo@lasallista.edu.co

Fecha de recibo: 07/10/2004; fecha de aprobación: 06/12/2004

([S] (medida en micromoles por litro) y la velocidad inicial de acción de la enzima (V_o , medida en micromoles por litro por minuto). Para proceder a estudiar los efectos de los inhibidores es necesario determinar la velocidad máxima (V_{max}) y la constante de Michaelis (K_M) de la enzima.

[S] (mM)	V_o (mM/min)
50	10
100	19
160	29
190	33
290	46
400	58
800	83
1000	90

Un poco de teoría enzimática

Sin pretender una presentación profunda de enzimología, se describe el método a seguir en un análisis normal de estos casos.

En el estudio de la cinética enzimática se han hecho numerosos aportes, uno de los más representativos es el realizado por los bioquímicos Leonor Michaelis y Maud Menten en 1913, el cual

consistió en desarrollar una ecuación matemática que expresaba la forma hiperbólica general de la curva V_o vs [S].

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

En donde:

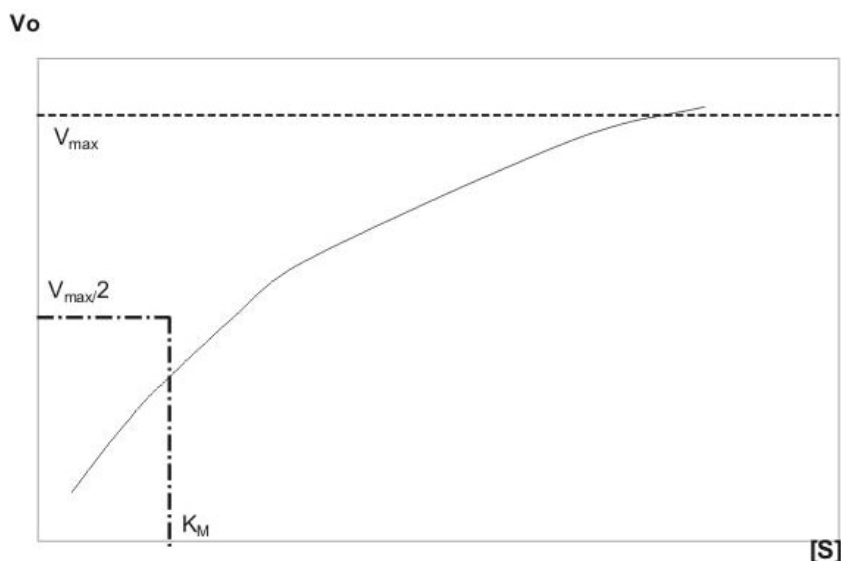
V_o = Velocidad inicial a una concentración de sustrato determinada

[S] = Concentración del sustrato

V_{max} = Velocidad máxima del proceso enzimático

K_M = Constante de Michaelis (Valor específico para cada enzima en determinadas condiciones que equivale a la concentración de sustrato que produce una velocidad inicial igual a la mitad de la velocidad máxima)

La determinación de los valores de K_M y V_{max} son importantes en un análisis de cinética enzimática porque permiten caracterizar e identificar enzimas y proponer acciones para su inhibición o para evitarla e incluso para aprovecharla en procesos no conocidos. Esto se debe hacer mediante la interpretación de la gráfica V_o vs [S] que da como resultado una hipérbola.



Gráfica 1. Curva de Michaelis-Menten

La asíntota horizontal de la hipérbola se corta en un punto del eje vertical que corresponde a la velocidad máxima (V_{\max}) y una vez “determinado” este valor se ubica su mitad, se proyecta hacia la hipérbola y al hacer intersección con el eje horizontal se encuentra el valor de K_M .

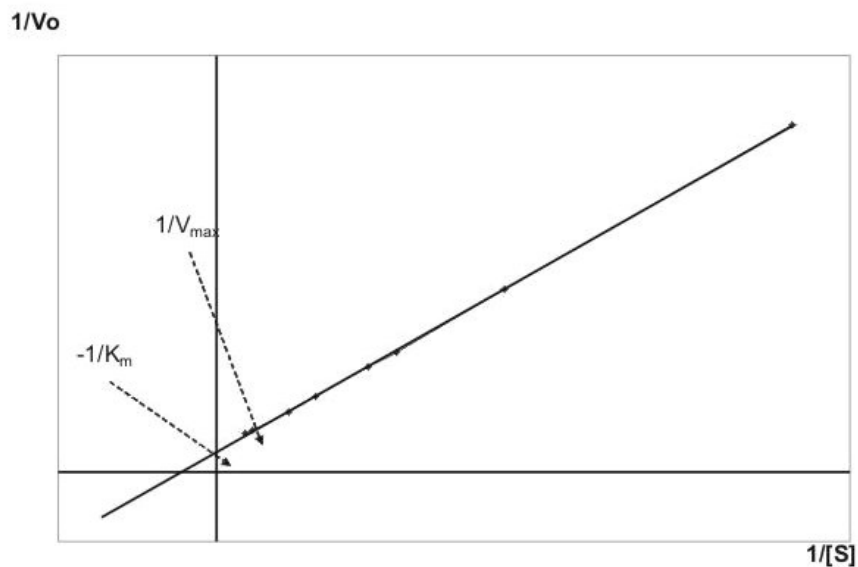
Este método, aunque válido, presenta una incertidumbre muy alta por la subjetividad con que se ubica la asíntota de la velocidad máxima.

Un método posterior al de Michaelis-Menten fue el desarrollado por los Hans Lineweaver y Dean

Burk en 1934 en el cual invierten la ecuación y el resultado es:

$$\frac{1}{V_o} = \left(\frac{K_M}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{V_{\max}}$$

Cuando se grafica $1/V_o$ vs $1/[S]$ se encuentra una línea recta que por extrapolación corta al eje vertical en un punto correspondiente a $1/V_{\max}$ y al eje horizontal en un punto correspondiente a $-1/K_M$.



Gráfica 2. Método de Lineweaver-Burk

Si bien este método permite una lectura más confiable de la gráfica, situaciones como el correcto trazado de los datos y la extrapolación hasta el corte con los ejes pueden ser una tarea igualmente subjetiva. Por lo tanto, los resultados no alcanzan a ser completamente correctos.

La función ESTIMACIÓN LINEAL de Excel

En su librería de funciones programadas, Microsoft Excel cuenta con diferentes opciones para análisis matemáticos, lógicos, de bases de datos y estadísticos. En este caso se utiliza la función ESTIMACIÓN LINEAL para obtener los valores que plantea el ejercicio.

Una vez se llama esta función aparece la pantalla con los respectivos argumentos para utilizarla.

Conocido_y: Representa los valores que se tienen de la variable “y” en este caso $1/V_o$.

Conocido_x: Representa los valores que se tienen de la variable “x” en este caso $1/[S]$.

Constante: (Toma valores de VERDADERO o FALSO). Permite forzar el intercepto en el eje en cero o dejar que el sistema la calcule normalmente.

Estadística: (Toma valores de VERDADERO o FALSO). Permite el cálculo de constantes de regresión adicionales.

Ahora que se conoce la estructura de la función se procede a emplearla para el caso que se está estudiando:

Así quedan los datos del ejercicio empezando en la celda **A1**:

	A	B
1	[S] (mM)	V _o (mM/min)
2	50	10
3	100	19
4	160	29
5	190	33
6	290	46
7	400	58
8	800	83
9	1000	90

Si se desea pueden graficarse estos datos, aunque empleando la función ESTIMACION LINEAL no se requiere de ningún análisis gráfico.

El análisis de Lineweaver-Burk plantea la necesidad de trabajar con los valores inversos, es decir (1/V_o y 1/[S]). Para tal efecto se escribe en la celda **D2** la siguiente fórmula:

$$=1/A2$$

De esta forma se calculará automáticamente el valor inverso del primer dato de V_o. Luego se copia esta fórmula en el rango comprendido entre las casillas **A2** y **E9**. Los datos deben tener esta apariencia:

	A	B	C	D	E
1	[S] (mM)	V _o (mM/min)		1/[S]	1/V _o
2	50	10		0,02	0,1
3	100	19		0,01	0,052631579
4	160	29		0,00625	0,034482759
5	190	33		0,005263158	0,03030303
6	290	46		0,003448276	0,02173913
7	400	58		0,0025	0,017241379
8	800	83		0,00125	0,012048193
9	1000	90		0,001	0,011111111

Una vez listas las tablas de datos se procede a emplear la función ESTIMACION LINEAL, teniendo en cuenta que arrojará los siguientes datos:

m: Es la pendiente de la recta

b: Es el intercepto con el eje **y**

Significa que el análisis de estimación lineal arroja una ecuación de la siguiente forma:

$$y = mx + b \text{ (Línea recta)}$$

Que traducida a las variables del caso es:

$$1/V_o = m \cdot 1/[S] + b$$

El valor de $1/V_{max}$ corresponde al intercepto con el eje **y** en este caso es **b**:

$$\begin{aligned} 1/V_{max} &= b \\ V_{max} &= 1/b \end{aligned}$$

El valor de $-1/K_M$ corresponde al intercepto con el eje **x** y se obtiene despejando de la ecuación:

$$\begin{aligned} 1/[S] &= (1/V_o - b)/m \\ 1/[K_M] &= -b/m \\ -1/K_M &= b/m \\ K_M &= m/b \end{aligned}$$

Prepare las celdas como se indica en la tabla:

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	[S] (μM)	V_o ($\mu\text{M}/\text{min}$)		1/[S]	$1/V_o$		m	b
2	50	10		0,02	0,1			
3	100	19		0,01	0,052631579			
4	160	29		0,00625	0,034482759		Vmax =	
5	190	33		0,005263158	0,03030303		Km =	
6	290	46		0,003448276	0,02173913			
7	400	58		0,0025	0,017241379			
8	800	83		0,00125	0,012048193			
9	1000	90		0,001	0,011111111			

Posicione el puntero en la celda **G2** y luego haga click en **Insertar** y luego **Función**. Se abrirá una ventana para seleccionar funciones programadas. En **O seleccionar una categoría** indique **Estadísticas** y luego busque la función **ESTIMACIÓN.LINEAL**; posteriormente haga click en **Aceptar**.

Aparece la ventana de los parámetros de la función; en **Conocido_y** escriba el rango de los valores de $1/V_o$ (en este caso E2:E9) y en **Conocido_x** los valores de 1/[S] (en este caso D2:D9). Las casillas **Constante** y **Estadística** déjelas en blanco. Haga click en aceptar.

En la celda **G2** aparece el valor **4,69700191** que corresponde a la pendiente. Seleccione las casillas **G2** y **H2**, presione **F2** y luego **Ctrl+Shift+Enter**; aparece en la celda **H2** el valor **0,00575781** que corresponde al intercepto con el eje **y**.

Como ya se había deducido que la V_{max} es igual a $1/b$ y K_M es igual a m/b , en la celda **H4** escriba:

$$=1/H2$$

Y en la celda **H5** escriba:

$$=G2/H2$$

El resultado final debe verse así:

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	[S] (mM)	V_o (mM/min)		1/[S]	$1/V_o$		m	b
2	50	10		0,02	0,1		4,69700191	0,00575781
3	100	19		0,01	0,052631579			
4	160	29		0,00625	0,034482759		Vmax =	173,677137
5	190	33		0,005263158	0,03030303		Km =	815,761842
6	290	46		0,003448276	0,02173913			
7	400	58		0,0025	0,017241379			
8	800	83		0,00125	0,012048193			
9	1000	90		0,001	0,011111111			

Si alguien se toma el trabajo de resolver el ejercicio empleando los métodos gráficos encontrará que este resultado es el más aproximado a la realidad y, lo más importante, no tiene interpretaciones subjetivas.

Conclusiones

Si bien parece un poco complicado por ser un tema específico de un área como la Bioquímica, el centro del ejercicio es el empleo de la ESTIMACIÓN LINEAL como función programada dentro

del software que permite un tratamiento rápido de la información una vez se adquiere práctica. De otro lado, es interesante ver como una hoja electrónica, que siempre se ha visto asociada a información financiera y contable, puede brindar herramientas para tratar la información científica de una manera versátil y confiable.

Bibliografía

BOYER, Rodney. Conceptos de Bioquímica. México: Internacional Thomson Editores; 2000. 694 p.