

PROGRAMA ANALITICO

NOMBRE DE LA MATERIA	: ENZIMOLOGIA
CLAVE	: NUA 430
DEPARTAMENTO	: NUTRICION Y ALIMENTOS
NO.HORAS DE TEORIA	: 3 HORAS
NO.HORAS DE PRACTICA	: 2 HORAS
NO. DE CREDITOS	: 8
CARRERA EN LA QUE SE IMPARTE	: I.C.T.A.
PRERREQUISITO	: BIOQUIMICA

DESCRIPCION DEL CURSO

El curso de enzimología es teórico-práctico. La parte teórica esta formada por diez temas generales en los cuales se da a conocer las características generales de las enzimas, su importancia, clasificación y nomenclatura. Se describen y analizan las propiedades de las enzimas, haciendo énfasis en la relación estructura-función catalítica. Se estudian los conceptos generales de cinética enzimática y se revisan los diferentes métodos gráficos-matemáticos para el análisis cinético de las reacciones enzimáticas. Asimismo, se describen y analizan detalladamente los efectos de los principales factores químicos y fisicoquímicos (inhibidores, efectores, temperatura y pH) sobre la actividad enzimática. Se estudian las bases enzimáticas de la regulación metabólica y también, los fundamentos fisicoquímicos de los métodos utilizados para aislar, purificar y caracterizar enzimas. Además, se revisa la participación o aplicación en algunos procesos de importancia económica (analítico-diagnóstica, biotecnológica-industrial), poniendo atención especial en las tendencias actuales de la tecnología de las enzimas y sus perspectivas y su importancia en la industria alimenticia.

OBJETIVO GENERAL

El alumno comprenderá el concepto de enzima, su clasificación, nomenclatura, las bases estructurales del mecanismo de acción de las enzimas y tendrá la capacidad de analizar matemáticamente los datos cinéticos de las indicaciones catalizadas por estas moléculas, así, podrá explicar los efectos de la concentración de las enzimas, concentraciones del ligandos, temperatura y pH sobre la velocidad de la reacción. Además podrá aplicar estos conocimientos en los diferentes ámbitos del análisis enzimático y/o las aplicaciones prácticas de enzimas. Teniendo la capacidad para desarrollar, proponer e implementar metodologías o procedimientos alternativos en control de calidad, desarrollo de procesos y nuevos productos en la industria alimentaria.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Al concluir el curso el alumno:

- Conocerá con detalle las propiedades generales de la enzimas
- Comprenderá las bases estructurales de la catálisis enzimática, reconociendo la participación en la misma, de las coenzimas y cofactores.
- Conocerá los diferentes métodos analíticos utilizados en la determinación de la actividad enzimática.
- Definirá la unidad de actividad enzimática de acuerdo a la metodología analítica utilizada y/o a las convenciones internacionales.
- Comprenderá la deducción de la ecuación de Michaelis-Menten y el significado de la K_m y V_{max} .
- Reconocerá y discutirá las ventajas y desventajas de los principales métodos gráficos en la cinética enzimática.
- Reconocerá y evaluará los efectos de inhibidores, temperatura y pH sobre la actividad enzimática.
- Juzgará el papel de las enzimas en la regulación de los procesos metabólicos.
- Conocerá los fundamentos bioquímicos de los métodos de obtención, purificación y caracterización de enzimas.
- Será capaz de diseñar y evaluar un proceso de purificación de enzimas.
- Tendrá una visión amplia y clara de las aplicaciones de la enzimología en algunos procesos de importancia económica y sus perspectivas de desarrollo.
- Conocerá las principales enzimas aplicadas en la industria alimenticia.

TEMARIO

I. INTRODUCCION

- 1.- Origen de la enzimología
- 2.- Conceptos
- 3.- Características generales de las enzimas
 - 3.1 Papel de las proteínas en los organismos
 - 3.2 Estructura de las proteínas
 - 3.3 Organización estructural de las enzimas
- 4.- La importancia de la enzimología

II. CLASIFICACION Y NOMENCLATURA DE LAS ENZIMAS

- 1.- Bases para denominar y dificultades para nombrarlas
- 2.- Grupos de enzimas
 - 2.1 Oxidoreductasas
 - 2.2 Transferasas
 - 2.3 Hidrolasas
 - 2.4 Liasas
 - 2.5 Isomerasas
 - 2.6 Ligasas

III-PROPIEDADES GENERALES Y MECANISMOS DE ACCION

- 1.-Propiedades generales de las enzimas.
- 2.-¿Cómo funcionan las enzimas?
 - 2.1 Equilibrio químico y actividad enzimática.
 - 2.2 Anatomía del sitio activo : residuos de unión y catalíticos.
 - 2.3 Catálisis de ácido-base.
 - 2.4 Catálisis covalente
 - 2.5 Efecto de proximidad y orientación
 - 2.6 Mecanismos de reacción de algunas enzimas
 - 2.7 Contribución de las coenzimas y cofactores a la catálisis.

IV -CINETICA ENZIMATICA

1.-Introducción y conceptos generales

Principio de acción de masas: molecularidad y orden de una reacción.

Unidades de las constantes de velocidad y magnitud de una reacción química.

Curvas de progreso de las reacciones enzimáticas.

definición de la velocidad inicial.

Métodos analíticos para la determinación de la actividad enzimática.

Definición de las unidades de actividad enzimática.

2.-Dependencia de la velocidad de reacción enzimática sobre la construcción de sustrato.

La ecuación de Michaelis-Menten:

Deducción a partir de la hipótesis del equilibrio rápido

Deducción a partir de la hipótesis del estado estacionario.

Derivación de las ecuaciones complicadas del estado estacionario.

Bases mecánicas de la ecuación de Michaelis-Menten:

Significado de la K_m

Significado de la $V_{m\acute{a}x}$: (kct. número de recambio y duración del ciclo catalítico).

Significado y utilidad de la relación k_{cat}/k_m .

Extracción gráfica de la K_m y $V_{m\acute{a}x}$.

Ecuación de Linewenver-Burk

Ecuación de Eadie-Hofster

Ecuación de Hanes-Woolf

Ecuación de Eisenthal y Cornish-Bowden (gráfica lineal directa).

3.- Comportamiento cinético de enzimas alostéricas modelos matemáticos de cooperatividad:

La ecuación de Hill

Ecuación de Adair

El modelo MWC para efectos homotrópicos.

Modelo MWC para efectos heterotrópicos

El modelo KNF

Otros modelos de cooperatividad.

V-MODIFICADORES DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.

- 1.-Efectos del pH sobre la estabilidad y actividad enzimática.
 - 1.1 Modelos simples de los efectos de pH
 - 1.2 Ionización de la enzima.
 - 1.3 Ionización del complejo ES
 - 1.4 Ionización de E y del complejo ES
 - 1.5 Ionización del sustrato.
- 2.- Efecto de la temperatura sobre la estabilidad y actividad de las enzimas.
 - 2.1 Ecuación de Arrhenius
 - 2.2 Relación entre la constante de velocidad y la energía de activación
 - 2.3 Definición de la temperatura óptima y la homogeneidad del sistema
 - 2.4 Factores estructurales responsables de la termoestabilidad enzimática
- 3.-Inhibidores de la actividad enzimática
 - 3.1 Inhibición irreversible
 - 3.2 Inhibición reversible
 - 3.3. Inhibición competitiva
 - 3.4 Inhibición no competitiva e inhibición mixta
 - 3.5 Inhibición incompetitiva
 - 3.6 Determinación y significado de las constantes de inhibición (Gráficos de Dixon)

VI COFACTORES ENZIMÁTICOS

- 1.-Naturaleza de los cofactores
- 2.-Coenzimas en reacciones catalizadas por enzimas
- 3.-Grupos prostéticos en reacciones catalizadas por enzimas
- 4.-Papel de otros compuestos orgánicos
- 5.-Iones inorgánicos en reacciones catalizadas por enzimas
- 6.-Asociación apoenzima-cofactor

VII ENZIMAS INMOVILIZADAS

- 1.-Métodos de inmovilización
 - 1.1 Inmovilización por inclusión
 - 1.2 Fijación de enzimas sobre soporte sólido
 - 1.3 Caso particular de enzimas con coenzima
 - 1.4 Inmovilización de las células
- 2.-Propiedades de las enzimas inmovilizadas
 - 2.1 Medición de la actividad
 - 2.2 Influencia de las condiciones de operación
 - 2.3 Fenómenos de difusión
 - 2.4 Impedimento estérico
- 3.-Aplicación de las enzimas inmovilizadas
 - 3.1 Aplicación analítica
 - 3.2 Cromatografía de afinidad
 - 3.3 Aplicaciones terapéuticas
 - 3.4 Aplicaciones en la industria alimentaria
 - 3.5 Tendencias actuales y perspectivas

VIII PURIFICACION

- 1.-Aislamiento y purificación de las enzimas
 - 1.1 Consideraciones iniciales
 - 1.2 La necesidad de la purificación
 - 1.3 La selección del material
 - 1.4 Secuencia de los pasos de la purificación
 - 1.5 Precauciones generales en el manejo de las enzimas
 - 1.6 Métodos de extracción
 - 1.7 Procedimientos de purificación
 - 1.7.1 Métodos de separación basados en la precipitación selectiva
 - 1.7.2 Métodos de separación dependientes del tamaño molecular
 - 1.7.3 Métodos de separación dependientes de la carga eléctrica neta
 - 1.7.4 Procedimientos derivados de la actividad biológica
 - 1.7.5 Criterios bioquímicos de pureza
 - 1.8 Determinación del grado de purificación y rendimiento del proceso
 - 1.8.1 Diseño de las tablas de evaluación y principales parámetros
 - 1.8.2 Estimación y significado del factor de purificación
 - 1.8.3 Evaluación del rendimiento del proceso

IX USO INDUSTRIAL DE LAS ENZIMAS

- 1.1 Ventajas del empleo de enzimas
- 1.2 Fuentes comerciales de preparaciones enzimáticas
 - 1.2.1 Enzimas de origen animal
 - 1.2.2 Enzimas de origen vegetal
 - 1.2.3 Enzimas de origen microbiano
- 1.3 Principales enzimas de importancia económica
 - 1.3.1 Carbohidrasas (amilasas, amiloglucosidasa, dextranasa, lactasa, E-glucanasa, celulasa, pululanasa, invertasa, hemicelulasa, pectinasa) Lipasas, proteasas, glucosa oxidasa, catalasa, otras enzimas
 - 1.3.2 Análisis químico mediante reacciones con enzimas
 - 1.3.2.1 Análisis convencional
 - 1.3.2.2 Análisis con enzimas inmovilizadas en electrodos o absorbidas en papel
- 1.4 Tendencias actuales y perspectivas en la aplicación práctica de enzimas
 - 1.4.1 Enzimas inmovilizadas
 - 1.4.2 Enzimas en solventes apolares limitados de agua

X PRINCIPALES ENZIMAS DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

- 1.1 ENZIMAS ENDOGENAS DE LOS ALIMENTOS
Amilasas, pectinasas, lipasas, catépsinas, lipooxigenasas, fenolasas.
- 1.2 Industria láctea
- 1.3 Industria panificadora

- 1.4 Almidones modificados, jarabes de maiz que contienen glucosa y maltosa, glucosa, fructosa y dextrosa
 - 1.5 Industria fruticola. Frutas y sus productos.
 - 1.6 Industria vitivinicola
 - 1.7 Bebidas alcohòlicas destiladas
 - 1.8 Cerveza
 - 1.9 Carne y alimentos protèicos
- 1.10 Actividad de enzimas como indice de calidad en alimentos

PROCEDIMIENTOS DE ENSEÑANZA APRENDIZAJE

Se seguiràn diversas tècnicas que incluyen:
 Presentaciòn oral, estudios independientes, descubrimiento, investigaciòn, soluciòn de problemas, trabajos individuales, seminario y la enseñanza en grupo.

EVALUACION

Se realizará de acuerdo a :

Exámenes teóricos, escritos u orales	60 %
Investigaciones (tareas o consultas)	10
Seminario	10
Laboratorio	20

La asistencia a prácticas es obligatoria para poder recibir la calificación.

PRACTICAS

La parte práctica del curso incluye 8 sesiones de laboratorio entre las cuales se encuentran :

- 1.- Curvas de progreso y definición de unidades de actividad
- 2.- Efecto de la concentración del sustrato sobre la velocidad de la reacción.
- 3.- Efecto de la concentración de la enzima sobre la velocidad de la reacción
- 4.- Métodos gráficos para el análisis cinético enzimático
- 5.- Curvas de inhibición enzimática
- 6.- Efecto cinético de inhibidores enzimáticos
- 7.- Efecto del pH sobre la actividad enzimática
- 8.- Efecto del pH sobre la cinética enzimática
- 9.- Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática
- 10.- Energía de activación y catálisis enzimática
- 11.- Enzimas de importancia económica (primera parte)
- 12.- Enzimas de importancia económica (segunda parte)

BIBLIOGRAFIA BASICA

Horton, R.H., Morán, L.A., Ochs, R.S., Rawn, J.D. Bioquímica
1a. Ed. Prentice-Hall Hispanoamericana, México (1995)

Rawn, J.D. Bioquímica 1a. Edición, MacGraw-Hill Interamericana,
Madrid (1989)

Seguel, I.H. Biochemical Calculations 2a. Ed., John Wiley, New
York (1976)

Neillands J.B., Stumpf P.K. Principios de Enzimología 2a. Ed.
John Wiley & Sons Madrid (1967)

Gutfreund H. Introducción al estudio de las enzimas 1a. Ed.
Ed. Omega, Barcelona (1968)

Bernhard, S.A. Estructura y función de las enzimas 1a. Ed
Ed. Blume, Madrid (1977)

Wiseman A. Manual de Biotecnología de las Enzimas Ed. Acribia
Zaragoza, España (1985)

Scriban Renè Biotecnología 2a. Ed. El Manual Moderno, México
(1985)

BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTARIA

Kuchel, P.W. y Ralston, G.E. Bioquímica General 1a. Edición.
Ed. McGraw-Hill, Interamericana. México (1994).

Vorstellung, O. Enzimología Trabajos Dirigidos 1a. Ed., Ed. Omega,
Barcelona (1977).

Shultz, G.E. y Shriver, R.H. Principles of Protein Structure
Ed. Springer-Verlag. New York (1979).

Fernst, A. Enzyme Structure and Mechanism Ed. W.H. Freeman & Co.,
San Francisco (1980).

Christensen, H.N. y Palmer, G.A. Cinética Enzimática Ed. Reverté,
Barcelona (1980).

Sewel Irwin Enzyme Kinetics John Wiley New York (1993).

Escamilla, E. y Piña, M. Purificación de proteínas: En Mensaje
Bioquímico Vol. II pp. 64-101 Editado Fac. Medicina UNAM. México
(1979).

García, M., Jofre, A. y Hamabata, A. Consideraciones y Técnicas
sobre la purificación de proteínas: En Mensaje Bioquímico
Vol. VII pp. 49-93 Editado Fac. Medicina UNAM. México (1984).

Whitaker, John R. Principles of Enzymology for the Food
Science Ed. Marcel Dekker. New York (1972).

Reed, Gerald Enzymes in Food Processing 2a. Ed., Ed. Academic
Press. New York (1975).

Fox, P.F. Food Enzymology Ed. Elsevier Applied Science. New
York (1991).

PROGRAMA ELABORADO POR: M.C. Juanita González