

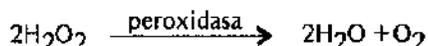
ACCION DE UNA ENZIMA PRESENTE EN TEJIDOS VEGETALES Y ANIMALES (1)

Por. F. Uribe, J. Moreno, D. Aldana,
N. Pineda, O. Arboleda (2)

INTRODUCCION

Las enzimas son proteínas específicas que actúan como catalizadores de las reacciones bioquímicas en todos los seres vivos. La actividad enzimática puede comprobarse experimentalmente mediante la identificación y cuantificación de los productos formados en las reacciones que ellas regulan. La acción de estos compuestos proteicos en una reacción es afectada por la variación de factores físicos y químicos tales como la temperatura, la concentración de la enzima y del sustrato, el pH, etc.

En esta práctica se diseñan experimentos utilizando un catalizador inorgánico (MnO_2) y otro orgánico (peroxidasa). Esta última se encuentra tanto en tejidos vegetales como animales y actúa sobre el peróxido de hidrógeno o agua oxigenada (H_2O_2). Este peróxido es un producto de la actividad celular y al acumularse en exceso intoxica la célula por lo cual debe ser degradado por una enzima específica. La reacción en la cual interviene la peroxidasa se representa de la siguiente manera:



Esta reacción puede visualizarse por la formación de burbujas, las cuales se producen debido al desprendimiento de oxígeno. La cantidad de burbujas es directamente proporcional a la intensidad de la reacción y puede utilizarse como una medida de ella.

A. OBJETIVOS

Con esta práctica se pretende que el estudiante:

1. Estudie el efecto de una enzima (peroxidasa) presente en animales y vegetales.

(1) Tomado del Manual de Laboratorio de Biología Grat, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

(2) Profesores Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

2. Compare la acción de la peroxidasa (catalizador orgánico) y del MnO_2 (catalizador inorgánico) sobre el mismo sustrato (agua oxigenada).
3. Estudie el efecto de la temperatura en la intensidad de la reacción.
4. Aprece la actividad catalítica por medio del desprendimiento de burbujas y la producción de calor.

B. MATERIALES

Tubos de ensayo de 17 x 150 mm
Escobillones
Gradillas
Lápiz de cera
Parrillas eléctricas
Beakers de 1000 ml
Pinzas de madera
Licuadora o morteros
Cucharas cafeteras
Pipetas de 5 ml
Termómetros
Relojes
Cuchillas
Hielo
Dióxido de manganeso (MnO_2)
Agua oxigenada (H_2O_2)
Hígado fresco
Papas
Papel milimetrado

C. PROCEDIMIENTO

1. *Acción de un catalizador inorgánico sobre el H_2O_2*
Marque tres tubos de ensayo con los números 1, 2 y 3. Agréguele a cada uno una pequeña cantidad de MnO_2

aproximadamente igual (lo que pueda tomar con la punta de una cuchilla o de un bisturí) y proceda de la siguiente manera:

Nota: conserve, en una gradilla, todos los tubos que utilice en esta práctica, para efectuar comparaciones.

- Tome el tubo 1 por su parte inferior y adiciónale 2 ml de agua oxigenada. Observe la intensidad de la reacción para que compare con los dos tubos siguientes. ¿Qué papel desempeña el MnO_2 en la reacción? ¿Y el agua oxigenada? ¿Hubo desprendimiento de calor?
- Utilizando unas pinzas coloque el tubo 2 al Baño de María durante 10 minutos. Retírelo, déjelo enfriar y agréguele 2 ml de agua oxigenada. Observe la reacción y compárela con la anterior. ¿Se presentó con mayor o menor intensidad? ¿La temperatura afectó al catalizador?
- Coloque el tubo 3 en un beaker con hielo durante 10 minutos. Retírelo e inmediatamente agréguele 2 ml de agua oxigenada. Compare la reacción con las anteriores. ¿Qué efecto tuvo la disminución de la temperatura sobre la acción del MnO_2 ? Explique.

2. Acción de un catalizador de origen animal sobre el H_2O_2

Marque cuatro tubos de ensayo con los números 1, 2, 3 y 4 y proceda de la siguiente manera:

- Tome el tubo 1 por la parte inferior, agréguele un pequeño pedazo de hígado y luego 2 ml de agua oxigenada. Observe la intensidad de la reacción. ¿Qué papel desempeña el hígado en ella? ¿Cuál es la naturaleza química de la sustancia que cataliza esta reacción? ¿Hubo desprendimiento de calor?
- Tome un pedazo de hígado similar al anterior, agréguelo al tubo 2 y colóquelo al Baño de María durante 10 minutos. Retírelo, déjelo enfriar y adiciónale 2 ml de agua oxigenada. ¿Se presenta reacción? ¿Cómo explica este resultado? Compare con el resultado obtenido en los numerales 1b y 2a. Anote sus conclusiones.
- Tome el tubo 3, agréguele otro pedazo de hígado en la misma cantidad anterior y colóquelo en un beaker con hielo durante 10 minutos. Retírelo e inmediatamente adiciónale 2 ml de agua oxigenada. ¿Ocurre reacción? ¿Cómo es su intensidad con relación a la producida en los tubos de los numerales 1c y 2a? ¿Qué efec-

to tiene la disminución de la temperatura sobre el catalizador? ¿Cree usted que si el agua oxigenada se agregara después de dejar que el hígado vuelva a la temperatura ambiental, la intensidad de la reacción sería como la del tubo del numeral 2a?. Explique esta última respuesta.

- Tome el tubo 4, agréguele media cucharada cafetera de macerado de hígado y luego 2 ml de agua oxigenada. ¿Es esta reacción mayor o menor en intensidad a la del tubo del numeral 2a? ¿Por qué?

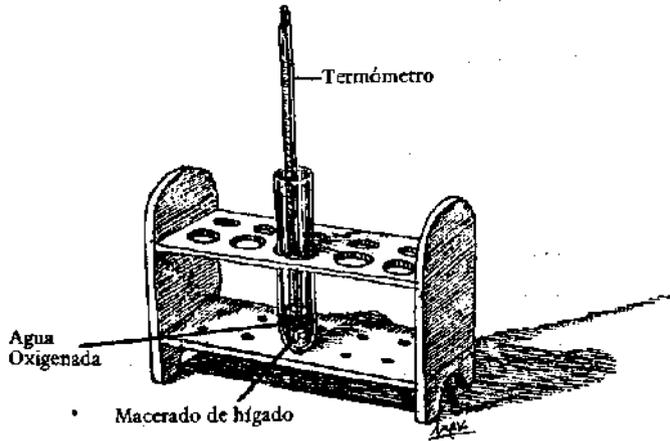
3. Acción de un catalizador de origen vegetal sobre el H_2O_2

Marque cuatro tubos de ensayo con los números 1, 2, 3 y 4 y proceda de la siguiente manera:

- Tome el tubo 1 por la parte inferior, agréguele un pequeño pedazo de papa y luego 2 ml de agua oxigenada. Observe la intensidad de la reacción. ¿Qué papel desempeña la papa en ella? ¿Cuál es la naturaleza química de la sustancia que cataliza esta reacción? ¿Hubo desprendimiento de calor? Explique su respuesta.
- Tome un pedazo de papa similar al anterior, agréguelo al tubo 2 y colóquelo al Baño de María durante 10 minutos. Retírelo, déjelo enfriar y adiciónale 2 ml de agua oxigenada. ¿Se presenta reacción? ¿Este resultado se explica igual que el del tubo del numeral 2b? ¿Por qué? Anote sus conclusiones.
- Tome el tubo 3, agréguele otro pedazo de papa en cantidad similar a la anterior y colóquelo en un beaker con hielo durante 10 minutos. Retírelo e inmediatamente adiciónale 2 ml de agua oxigenada. ¿Ocurre reacción? ¿Cómo es su intensidad con relación a la producida en los tubos de los numerales 1c y 2a? ¿Qué efecto tiene la disminución de la temperatura sobre el catalizador? Deje el tubo en reposo por unos 5 minutos y observe de nuevo la reacción. ¿Qué ocurrió? ¿Qué explicación tiene este hecho?
- Tome el tubo 4, agréguele media cucharada cafetera de macerado de papa y luego 2 ml de agua oxigenada. ¿Es esta reacción mayor o menor en intensidad a la del tubo del numeral 3a? ¿Esta respuesta puede explicarse de manera similar a la que se dió para el tubo del numeral 2d? ¿Por qué?

Al terminar esta parte de la práctica lave inmediatamente los tubos de ensayo, con un escobillón y con abundante agua, para evitar que se manchen.

4. *Medición de la acción de una enzima en términos de la producción de calor.*



3 1/2
4
4 1/2
5

Elabore una gráfica en papel milimetrado colocando en la ordenada la temperatura y en la abscisa el tiempo, con el objeto de visualizar claramente el curso de la reacción. ¿Cómo varió la temperatura en esta experiencia? ¿Cómo explica estos resultados? Si después de los 5 minutos se agregara la misma cantidad inicial de agua oxigenada, ¿esperaría obtener una gráfica igual? Explique su respuesta.

Lave el tubo de ensayo utilizado para que no se manche.

D. PREGUNTAS

- ¿Qué cambios pueden sufrir, en relación con la estructura química y el número inicial de moléculas, el sustrato y la enzima en una reacción enzimática?
- ¿En toda reacción enzimática hay liberación de energía en forma de calor? Explique.
- Si usted hace reaccionar agua oxigenada con peroxidasa y espera hasta que termine la reacción, ¿cómo comprobaría que la enzima no ha sufrido alteración catalítica?
- ¿En cuál organela celular se sintetizan las proteínas?
- ¿Las enzimas naturales actúan únicamente en el interior de las células?
- Desde el punto de vista enzimático, ¿qué diferencia existe entre la leche cruda y la pasteurizada?
- ¿Cómo explicaría el hecho de que la ptialina de la saliva actúe sobre el almidón en la boca pero no en el estómago?
- ¿Qué otros factores, además de la temperatura y el pH, influyen en la actividad de una enzima?
- Cite cinco enzimas con los sustratos respectivos sobre los cuales actúan.

Montaje para medir el calor liberado en una reacción enzimática

Haga el montaje que se indica en la figura, procediendo de la siguiente manera: a un tubo de ensayo, colocado en una gradilla, agréguele media cucharada cafetera de macerado de hígado y tome su temperatura (el termómetro debe colocarse dentro del tubo de tal forma que la escala de lectura quede visible sobre la pared del tubo en la cual está apoyado). Adiciónese al tubo 2 ml de agua oxigenada y empiece a observar, cada 30 segundos, las variaciones de temperatura que tengan lugar. Anote esas temperaturas en la tabla que aparece a continuación:

Tiempo en minutos	Temperaturas
0
1/2
1
1 1/2
2
2 1/2
3

BIBLIOGRAFIA

- Baker, J. J.W., Allen, G. E. 1972. *Materia, energía y vida*. México, Fondo Educativo Interamericano, 225 p.
- B.S.C.S., adaptación de la versión verde. 1970. *Biología; el hombre y su ambiente*. Medellín, edit. Norma, p.30 - 31. vol. II.
- Bonner, J., Galston, A.W. 1967. *Principios de Fisiología Vegetal*. 5a. ed. Madrid, Edic. Aguilar, 485 p.
- Consejo Nacional para la enseñanza de la Biología. 1972. *Investigaciones de laboratorio y de campo*. 3a. ed. México, C.E.C.S.A., 304 p.
- Lehninger, A.L. 1973. *Bioquímica*. Barcelona, Edic. Omega, 887 p.