

Acción Enzimática: Actividad de la Catalasa

Muchos organismos pueden descomponer el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por la acción de las enzimas. Las enzimas son proteínas globulares responsables de la mayor parte de la actividad química de los organismos vivos. Actúan como *catalizadores*, que son sustancias que aceleran las reacciones químicas sin ser destruidas o alteradas durante el proceso. Las enzimas son extremadamente eficientes y se pueden utilizar una y otra vez repetidamente. Una enzima puede catalizar miles de reacciones en cada segundo. Tanto los valores de pH como de la temperatura a los que trabaja la enzima son extraordinariamente importantes. La mayoría de los organismos tienen un intervalo de temperatura preferente en el cual sobreviven y sus enzimas funcionan mejor dentro de dicho intervalo de temperatura. Si el ambiente donde se encuentra la enzima es demasiado ácido o demasiado básico, la enzima puede *desnaturalizarse* de forma irreversible o transformarse de modo que su forma no le permita más realizar su funcionamiento apropiado.

El H_2O_2 es tóxico para la mayoría de los organismos vivos. Muchos organismos son capaces de destruir el H_2O_2 mediante la acción de enzimas antes de que pueda realizar mucho daño. El H_2O_2 se convierte en oxígeno y agua según la siguiente reacción:

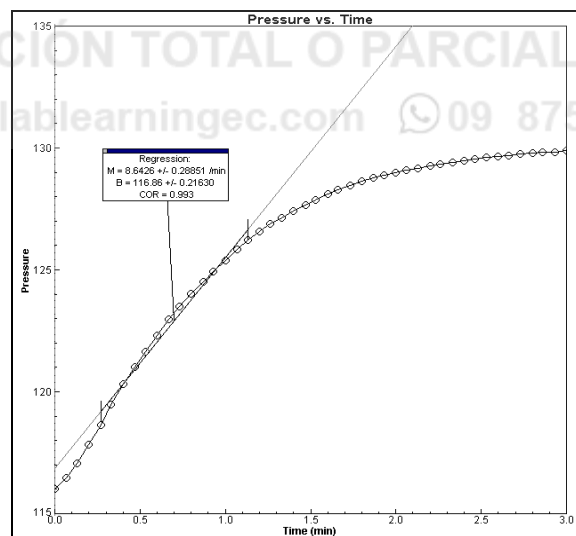


Aunque esta reacción ocurre espontáneamente, las enzimas incrementan la velocidad de reacción de forma considerable. Se conoce que al menos dos enzimas diferentes catalizan esta reacción: a) *catalasa*, que se encuentra en animales y protistas; b) *peroxidasa*, que se encuentra en las plantas. Mucho se puede aprender sobre las enzimas mediante el estudio de la rapidez de reacciones catalizadas por enzimas. La rapidez de una reacción puede estudiarse de muy diversas formas:

- Midiendo la presión de los productos que aparecen (en este caso, O_2)
- Midiendo la velocidad de desaparición del sustrato (en este caso, H_2O_2)
- Midiendo la velocidad de aparición del producto (en este caso, O_2 que se desprende como gas)

En este experimento se medirá la rapidez de la actividad de la enzima bajo diferentes condiciones como: distintas concentraciones de la enzima, distintos valores de pH y distintas temperaturas. Se puede medir la presión del oxígeno gaseoso formado mientras el H_2O_2 se destruye. Si se obtiene un gráfico, éste debe ser similar al que se muestra en la figura a la derecha.

Al inicio de la reacción no existe aún un producto de la misma, por lo que la presión es igual a la atmosférica. Después de un corto tiempo se acumula oxígeno a una velocidad bastante constante. La pendiente de la curva en este periodo inicial es constante y se denomina *velocidad inicial*. A medida que se destruye el peróxido, queda menos para reaccionar y el O_2 se produce a menor velocidad. Cuando se termina el peróxido ya no se produce más O_2 .



OBJETIVOS

En este experimento usted

- Usará un computador y el sensor de presión de gas para medir la producción de oxígeno gaseoso a medida que el peróxido de hidrógeno se destruye por la acción de la enzima catalasa o peroxidasa a diferentes concentraciones de la enzima.
- Medirá y comparará la velocidad inicial de reacción para esta enzima cuando se utilizan distintas concentraciones de la enzima que reacciona con H_2O_2 .
- Medirá la producción de oxígeno gaseoso a medida que se destruye el peróxido de hidrógeno por la acción de la enzima catalasa o peroxidasa a varias temperaturas.
- Medirá y comparará la velocidad inicial de reacción para la enzima a cada temperatura.
- Medirá la producción de oxígeno gaseoso a medida que el peróxido de hidrógeno se destruye por la acción de la enzima catalasa o peroxidasa a distintos valores de pH.
- Medirá y comparará la velocidad inicial de reacción para la enzima a cada valor de pH.

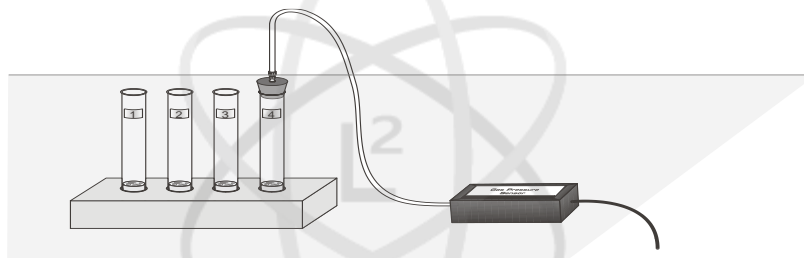


Figura 1

MATERIALES

Computador
Interfaz de Vernier para computador
LoggerPro
Sensor de presión de gas de Vernier
Tapón monohoradado
Probeta de 10 mL
Vaso de precipitado de 250 mL de agua
3% H_2O_2

Vaso de precipitado de 600 mL
Suspensión de enzima
Cuatro tubos de ensayo de 18 x 150 mm
hielo
Solución amortiguadora de pH
Gradilla para tubos de ensayo
termómetro
Tres pipetas de goteo



PROCEDIMIENTO

1. Obtenga y emplee guantes.
2. Conecte el sensor de presión de gas a la interfaz para computador. Prepare el computador para la recolección de datos abriendo el archivo "06B Enzima (Presión)" de la carpeta *Biología con Vernier* del LoggerPro.
3. Conecte el tubo plástico a la válvula en el sensor de presión de gas.

Parte I Ensayo del Efecto de la concentración de la Enzima

4. Coloque cuatro tubos de ensayo en la gradilla y etiquételos como 1, 2, 3, y 4. Llene parcialmente un vaso de precipitado con agua corriente para usarlo en el Paso 5.
5. Añada 3 mL de agua y 3 mL de H₂O₂ al 3% a cada tubo.
6. Usando una pipeta de goteo limpia, añada 1 gota de suspensión de enzima al Tubo de Ensayo 1. **Nota:** Asegúrese que la enzima no caiga por los lados del tubo de ensayo.

| Tabla 1 | | |
|----------------------------|--|----------------------|
| Etiqueta de Tubo de Ensayo | Volumen de 3% H ₂ O ₂ (mL) | Volumen de agua (mL) |
| 1 | 3 | 3 |
| 2 | 3 | 3 |
| 3 | 3 | 3 |
| 4 | 3 | 3 |

7. Coloque el tapón en el tubo de ensayo y agítelo bien para lograr la mezcla completa del contenido. Debe comenzar la reacción. El próximo paso debe realizarse lo más pronto posible.
8. Conecte el extremo libre del tubo de plástico al conector en el tapón de goma según se muestra en la Figura 3. Haga clic en el botón *Iniciar toma de datos*  para comenzar la adquisición de datos. La toma de datos terminará en 3 minutos.
9. Si la presión excede el valor 130 kPa, la presión dentro del tubo será demasiado alta y el tapón saltará destapando el tubo. Desconecte el tubo plástico del sensor de presión de gas si la presión excede el valor de 130 kPa.
10. Una vez terminada la adquisición de datos, desconecte el conector del tubo plástico del tapón de goma. Retire dicho tapón del tubo de ensayo y deseche el contenido en un vaso de precipitado de desperdicios.
11. Encuentre la velocidad de la actividad enzimática:
 - a. Mueva el puntero del mouse hasta el lugar donde los datos comienzan a aumentar su valor. Mantenga presionado el botón del mouse. Arrastre el puntero del mouse hasta el punto donde los valores de la presión no aumenten más y suelte dicho botón.
 - b. Haga clic en el botón *Ajuste Lineal* , para realizar la regresión lineal. Aparecerá una caja flotante con la formula de la línea del mejor ajuste.
 - c. Registre la pendiente de la línea, *m*, como la velocidad de la actividad enzimática en la Tabla 4.
 - d. Cierre la caja flotante de la regresión lineal.
12. Encuentre la velocidad de la actividad Enzimática para los tubos de ensayo 2 – 4:
 - a. Agregue 2 gotas de la solución de enzima al tubo de ensayo 2. Repita los pasos 7 – 11.
 - b. Agregue 3 gotas de la solución de enzima al tubo de ensayo 3. Repita los pasos 7 – 11.
 - c. Agregue 4 gotas de la solución de enzima al tubo de ensayo 4. Repita los pasos 7 – 11.

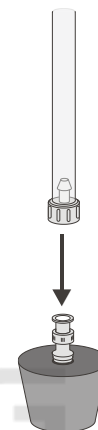


Figura 2

Experimento 3

Parte II Ensayo del efecto de la Temperatura

13. Coloque cuatro tubos de ensayo limpios en la gradilla y etiquételos T 0–5, T 20–25, T 30–35 y T 50–55.
14. Agregue 3 mL de 3% H₂O₂ y 3 mL de agua a cada tubo de ensayo, como se muestra en la Tabla 2.

| Etiqueta de tubo de ensayo | Volumen de 3% H ₂ O ₂ (mL) | Volumen de agua |
|----------------------------|--|-----------------|
| T 0 – 5 | 3 | 3 |
| T 20 – 25 (temp. ambiente) | 3 | 3 |
| T 30 – 35 | 3 | 3 |
| T 50 – 55 | 3 | 3 |

15. Mida la actividad Enzimática a 0 – 5°C:
 - a. Prepare un baño de agua a la temperatura correspondiente al intervalo de 0 – 5°C colocando agua y hielo en un vaso de precipitado de 600 mL. Asegure que la temperatura permanece en dicho rango a lo largo del ensayo.
 - b. Coloque el tubo de ensayo T 0 – 5 en el baño de agua fría hasta que la temperatura de la mezcla alcance una temperatura dentro del intervalo de 0 – 5°C. Registre el valor real de la temperatura del contenido del tubo de ensayo en el espacio en blanco en la Tabla 4.
 - c. Agregue 2 gotas de solución enzimática al tubo de ensayo T 0 – 5. Repita los pasos 7 – 11.
16. Mida la actividad Enzimática a 30 – 35°C:
 - a. Prepare un baño de agua a la temperatura correspondiente al intervalo de 30 – 35°C colocando agua caliente en un vaso de precipitado de 600 mL. Asegure que la temperatura permanece en dicho rango a lo largo del ensayo.
 - b. Coloque el tubo de ensayo T 30 – 35 en el baño de agua caliente hasta que la temperatura de la mezcla alcance una temperatura entre 30 – 35°C. Registre el valor real de la temperatura del contenido del tubo de ensayo en el espacio en blanco en la Tabla 4.
 - c. Agregue 2 gotas de solución enzimática al tubo de ensayo T 30 – 35. Repita los pasos 7 – 11.
17. Mida la actividad Enzimática a 50 – 55°C:
 - a. Prepare un baño de agua a la temperatura correspondiente al intervalo de 50 – 55°C colocando agua muy caliente en un vaso de precipitado de 600 mL (el agua corriente de la tubería caliente servirá probablemente). Asegure que la temperatura permanece en dicho rango a lo largo del ensayo.
 - b. Coloque el tubo de ensayo T 50 – 55 en el baño de agua muy caliente hasta que la temperatura de la mezcla alcance la temperatura del intervalo 50 – 55°C. Registre el valor real de la temperatura del contenido del tubo de ensayo en el espacio en blanco en la Tabla 4.
 - c. Agregue 2 gotas de solución enzimática al tubo de ensayo T 50 – 55. Repita los pasos 7 – 11.
18. Mida la actividad enzimática a 20 – 25°C (temperatura ambiente):

- a. Registre la temperatura del tubo de ensayo T 20 – 25 en la Tabla 4.
- b. En el tubo con la etiqueta T 20 – 25, agregue 2 gotas de solución enzimática. Repita los pasos 7 – 11.

Parte III Ensayo del Efecto del pH

19. Coloque tres tubos de ensayo limpios en la gradilla y etiquételos con los siguientes datos: pH 4, pH 7 y pH 10.
20. Agregue 3 mL de 3% H₂O₂ y 3 mL de cada solución amortiguadora de pH a cada tubo de ensayo, como se ilustra en la Tabla 3.

| pH solución amortiguadora | Volumen de 3% H ₂ O ₂ (mL) | Volumen de solución amortiguadora (mL) |
|---------------------------|--|--|
| pH 4 | 3 | 3 |
| pH 7 | 3 | 3 |
| pH 10 | 3 | 3 |

21. En el tubo con la etiqueta pH 4, agregue 2 gotas de solución enzimática. Repita los 7 – 11.
22. En el tubo con la etiqueta pH 7, agregue 2 gotas de solución enzimática. Repita los 7 – 11.
23. En el tubo con la etiqueta pH 10, agregue 2 gotas de solución enzimática. Repita los 7 – 11.

DATOS

| Etiqueta de tubo de ensayo | Pendiente o rapidez (kPa/min) |
|----------------------------|-------------------------------|
| 1 gota | |
| 2 gotas | |
| 3 gotas | |
| 4 gotas | |
| 0 – 5°C: _____ °C | |
| 20 – 25°C: _____ °C | |
| 30 – 35°C: _____ °C | |
| 50 – 55°C: _____ °C | |
| pH 4 | |
| pH 7 | |
| pH 10 | |

PROCESAMIENTO DE DATOS

Gráfico de la concentración de enzima

1. En la página 2 del archivo de este experimento, genere el gráfico de la velocidad de la actividad enzimática vs. Concentración de enzima. Los valores de velocidad se deben graficar en el eje vertical (eje y) y el número de gotas de enzima en el eje horizontal (eje x). Los valores de la velocidad son los mismos que los valores de las pendientes en la Tabla 4.

Gráfico de Temperatura

2. En la página 3 del archivo de este experimento, genere el gráfico de la velocidad de la actividad enzimática vs. Temperatura. Los valores de velocidad se deben graficar en el eje vertical (eje y) y los de temperatura en el eje horizontal (eje x). Los valores de la velocidad son los mismos que los valores de las pendientes en la Tabla 4.

Gráfico del pH

3. En la página 4 del archivo de este experimento, genere el gráfico de la velocidad de la actividad enzimática vs. pH. Los valores de velocidad se deben graficar en el eje vertical (eje y) y el pH en el eje horizontal (eje x). Los valores de la velocidad son los mismos que los valores de las pendientes en la Tabla 4.

PREGUNTAS

Parte I Efecto de la Concentración de Enzima

1. ¿Qué efecto hace el cambio en la concentración de la enzima en la velocidad de descomposición del H_2O_2 ?
2. ¿Qué cree usted que pasará con la velocidad de reacción si la concentración de enzima se aumenta a 5 gotas? Prediga cuál debería ser la velocidad de reacción para 5 gotas.

Parte II Efecto de la Temperatura

3. ¿A qué temperatura es máxima la velocidad de la actividad enzimática? ¿Mínima? Explique.
4. ¿Cómo afecta el cambio de temperatura a la velocidad de la actividad enzimática? ¿Concuerda esto con el patrón que usted anticipó?
5. ¿Por qué la actividad enzimática disminuye a temperaturas elevadas?

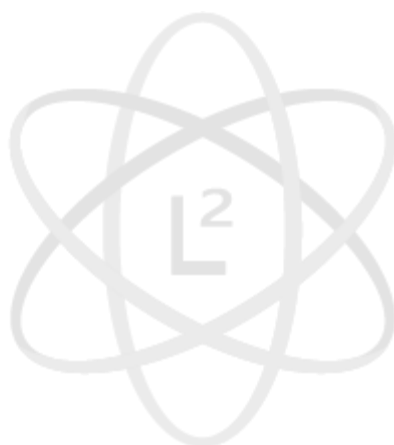
Parte III Efecto del pH

6. ¿A qué valor de pH es máxima la velocidad de la actividad enzimática? ¿Mínima?
7. ¿Cómo afectan los cambios de pH a la velocidad de la actividad enzimática? ¿Concuerda esto con el patrón que usted anticipó?

EXTENSIONES

1. Diferentes organismos a menudo viven en muy diferentes habitats. Diseñe una serie de experimentos para investigar cómo los diferentes tipos de organismos pueden afectar a la velocidad de la actividad enzimática. Considere ensayos con planta, animal y protista.

2. Presumiblemente a mayores concentraciones de H_2O_2 , debe aumentar la probabilidad que una molécula de enzima pueda colisionar con H_2O_2 . Si fuera así, la concentración de H_2O_2 pudiera alterar la velocidad de producción de oxígeno. Diseñe un conjunto de experimentos para investigar cómo diferentes concentraciones del sustrato peróxido de hidrógeno pudieran afectar la velocidad de la actividad enzimática.
3. Diseñe un experimento para determinar el efecto de hervir la catalasa sobre la velocidad de la reacción.
4. Explique cómo los factores ambientales afectan la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas.



LAB LEARNING

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

✉ info@lablearningec.com 🌐 www.lablearningec.com 📞 09 8752 1674