	GUÍA DE TRABAJO PRÁCTICO - EXPERIMENTAL Talleres y Laboratorios de Docencia ITM	Código	FGL 029
		Versión	02
		Fecha	08-10-2018

1. IDENTIFICACIÓN DE LA GUÍA

Nombre de la guía:	Determinación de la Actividad Enzimática
Código de la guía (No.):	005
Taller(es) o Laboratorio(s) aplicable(s):	Ingeniería Biomédica H-204
Tiempo de trabajo práctico estimado:	2 Horas
Asignatura(s) aplicable(s):	Bioquímica Médica I
Programa(s) Académico(s) / Facultad(es):	Ingeniería Biomédica / Ciencias Exactas y aplicadas

COMPETENCIAS	CONTENIDO TEMÁTICO	INDICADOR DE LOGRO
Identificar el papel de las enzimas en las reacciones biológicas.	Las enzimas y su importancia como catalizadores biológicos.	Explica el mecanismo de acción de las enzimas.
Identificar los factores que afectan la cinética de reacciones catalizadas por enzimas.	Cinética enzimática.	Identifica a las enzimas como proteínas y a partir de allí describe su comportamiento.
Analizar el efecto del PH y la temperatura en la cinética de reacciones catalizadas por enzimas.	Factores que influyen en las reacciones enzimáticas. Efecto del PH y la temperatura en la catálisis enzimática.	Experimenta las condiciones bajo las cuales, las enzimas disminuyen o pierden su actividad biológica.


2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1 Conceptos Básicos Previos:

Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones químicas en los seres vivos, es decir, son biomoléculas que sin consumirse en una reacción aumentan notablemente su velocidad. No hacen factibles las reacciones imposibles, sino que solamente aceleran las que espontáneamente podrían producirse.

Las propiedades de las enzimas derivan del hecho de ser proteínas. Como proteínas, poseen una conformación natural más estable que las demás conformaciones posibles. Así que cambios en su estructura suelen ir asociados con cambios en la actividad catalítica. Los factores que influyen de manera más directa sobre la actividad de un enzima son la temperatura y el pH.

En esta práctica se medirá la actividad enzimática de una enzima llamada **catalasa**, bajo diferentes concentraciones de enzima, distintos valores de pH y distintas temperaturas. La catalasa cataliza la reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno. El peróxido de hidrógeno es uno de los productos derivados del metabolismo celular, pero dada su toxicidad sobre las células, es transformado enseguida por la enzima catalasa en dos productos no tóxicos:

 Institución Universitaria	GUÍA DE TRABAJO PRÁCTICO - EXPERIMENTAL Talleres y Laboratorios de Docencia ITM	Código	FGL 029
		Versión	02
		Fecha	08-10-2018

Catalasa



3. OBJETIVO(S)

- Explicar el mecanismo de acción de las enzimas.
- Identificar a las enzimas como proteínas y a partir de allí describe su comportamiento.
- Experimentar las condiciones bajo las cuales, las enzimas disminuyen o pierden su actividad biológica.

4. RECURSOS REQUERIDOS

4.1 Instalaciones

- Laboratorio de Ingeniería Biomédica H-204, Campus Robledo


4.2 Equipos y herramientas

- 9 tubos de ensayo
- Gradilla para tubos de ensayo
- Baño María

4.3 Materiales y Reactivos

- Bata de laboratorio (**Estudiante**)
- Guantes (**Estudiante**)
- Homogenado de hígado (**Estudiante**)
- Papa rallada (**Estudiante**)
- Agua destilada
- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)
- Hielo (o un congelador)
- HCl 3M
- NaOH 3M

5. PROCEDIMIENTO O METODOLOGÍA PARA EL DESARROLLO Y PARÁMETROS PARA ELABORACIÓN DEL INFORME

	GUÍA DE TRABAJO PRÁCTICO - EXPERIMENTAL Talleres y Laboratorios de Docencia ITM	Código	FGL 029
		Versión	02
		Fecha	08-10-2018

5.1 Efecto de la Concentración de Catalasa

Procedimiento:

- a) Rotule 3 tubos de ensayo.
- b) Ponga 3ml de cada homogenizado en los tubos de la siguiente manera:
 - a. Hígado
 - b. Papa
 - c. Agua destilada
- c) Haga una marca hasta donde llega cada homogenizado.
- d) Añada 3ml de peróxido de hidrógeno en cada tubo de ensayo.
- e) Observe la reacción en cada tubo y describa los resultados en la siguiente tabla.

Califique la velocidad de reacción de 0-5 (0 = no hay reacción, 1 = reacción lenta... 5 = reacción muy rápida).

Tabla 1. Resultados homogenizado con peróxido de hidrógeno		
Tubo	Cantidad de burbujas	Velocidad de Reacción
A		
B		
C		

1. ¿En qué tubo se produjo más gas?
2. ¿Qué gas se está produciendo?
3. ¿Qué sugieren los resultados acerca del contenido de catalasa en cada tubo?
4. Explique por qué la catalasa solo actúa sobre el peróxido de hidrógeno
5. ¿Por qué se prepararon los Homogenizados de hígado y papa? ¿Por qué no se añadió el peróxido directamente a los tejidos sin macerarlos?
6. ¿La catalasa se consumió o puede usarse para una nueva reacción?

5.2 Efecto de la Temperatura en la Acción Enzimática


Procedimiento:

- a) Rotule 3 tubos de ensayo y caliente un baño de agua hasta 80°C y otro hasta 37°C.
- b) Añada 3ml de hígado homogenizado a cada tubo.
- c) Ponga cada tubo en una condición de temperatura diferente, así:

Tubo A: 80°C por 5 minutos

Tubo B: 37°C por 5 minutos

Tubo C: En hielo o congelador por 30 minutos

	GUÍA DE TRABAJO PRÁCTICO - EXPERIMENTAL Talleres y Laboratorios de Docencia ITM	Código	FGL 029
		Versión	02
		Fecha	08-10-2018

d) Añada 3ml de peróxido de hidrógeno al tubo A. Observe los resultados y el tiempo que tarda en producirse las burbujas. Tome el tiempo inicial al añadir el peróxido y el tiempo cuando empiece a producirse las burbujas.

e) Repita el procedimiento con los tubos B y C. Tabule sus resultados.

Califique la velocidad de reacción de 0-5 (0 = no hay reacción, 1 = reacción lenta... 5 = reacción muy rápida).

Tabla 2. Efecto de la temperatura en la acción enzimática		
Tubo	Temperatura	Velocidad de Reacción
A		
B		
C		

1. Grafique como cambia la actividad enzimática al cambiar la temperatura (Velocidad de reacción vs Temperatura).
2. ¿Cuál es la relación entre la temperatura y la actividad enzimática? ¿Cuál es la explicación bioquímica de los resultados observados en los tubos A y C?
3. ¿Qué efecto podría tener una fiebre alta prolongada sobre el funcionamiento de las enzimas?

5.3 Efecto del PH en la Acción Enzimática

Procedimiento:

a) Rotule 3 tubos de ensayo.

b) Añada 3ml de hígado homogenado a cada tubo:

Tubo A: Adicione 3ml de HCl 3M (pH: 3)

Tubo B: Adicione 3ml de NaOH 3M (pH: 10)

Tubo C: Adicione 3ml de agua destilada (pH: 7)


c) Agite suavemente hasta mezclar.

d) Añada 3ml de peróxido de hidrógeno a cada tubo.

e) Observe y anote las reacciones.

Califique la velocidad de reacción de 0-5 (0 = no hay reacción, 1 = reacción lenta... 5 = reacción muy rápida).

Tabla 3. Efecto del pH en la acción enzimática		
Tubo	pH	Velocidad de Reacción
A		

 Institución Universitaria	GUÍA DE TRABAJO PRÁCTICO - EXPERIMENTAL Talleres y Laboratorios de Docencia ITM	Código	FGL 029
		Versión	02
		Fecha	08-10-2018

B		
C		

1. Grafique como cambia la actividad enzimática al cambiar el PH (Velocidad de reacción vs pH).
2. ¿Cuál es la relación entre el pH y la actividad enzimática? ¿Cuál es la explicación bioquímica de los resultados observados en los tubos A y B?
3. Las enzimas del estómago funcionan mejor con un pH de 2. ¿Cómo afectaría un pH de 4 en el estómago a la digestión?
4. Las enzimas pancreáticas tienen un PH óptimo básico ya que actúan en el intestino. En el caso de un crecimiento bacteriano que disminuya el PH intestinal ¿Qué ocurriría durante la digestión?

6. DISPOSICIÓN DE RESIDUOS

Para la presente práctica se manipularán muestras biológicas y reactivos como ácido clorhídrico (corrosivo), hidróxido de sodio (corrosivo) y peróxido de hidrógeno (comburente y corrosivo), por esta razón es necesario que los estudiantes permanezcan durante los procedimientos con los elementos de protección personal, tales como, gafas, guantes, tapabocas y bata antifluidos.

El material plástico y los guantes empleados durante la práctica deben descartarse en el recipiente rojo etiquetado como “riesgo biológico”. Los fragmentos del órgano sobrantes, deben disponerse en una bolsa roja, para que el personal del laboratorio proceda congelarlos, hasta el día que la empresa encargada lo retire del ITM.

7. BIBLIOGRAFÍA

Collen Smith. Bioquímica Básica de Marks: Un enfoque clínico. Segunda edición. Edit: McGraw Hill-Interamericana. 2006.

Christopher C Mathews. Bioquímica. Tercera edición. Edit: Pearson. 2002.

David L Nelson. Lehninger, Principios de Bioquímica. Segunda edición. 2002

Karp, Gerald. Biología Celular y Molecular. Quinta edición. Edit: Mc Graw Hill. 2009

PubMed; Scopus; Science Direct; Springer; IEEE.

Elaborado por:	Sarah Röthlisberger
Revisado por:	Diana Orrego Metaute
Versión:	2
Fecha:	26/01/2017