

Actividad Práctica 1 – Enzimas

1) Objetivos:

- Analizar la acción de algunas enzimas.

2) Materiales y sustancias/soluciones:

3) Factores de riesgo y medidas de seguridad:

4) Procedimiento:

- *Hidrólisis enzimática de la sacarosa:*

- 1) Colocar 50 mL de solución de sacarosa al 5 % en un matraz Erlenmeyer de 100 mL. Agregar 10 mL de extracto crudo de invertasa.

Preparación de extracto crudo de invertasa: colocar 10 g de levadura instantánea en 50 mL de agua tibia, luego de su disolución y filtrar. El filtrado contiene invertasa y catalasa, entre otros compuestos.

- 2) Calentar en baño de agua a una temperatura de 30 °C a 35 °C por 35 minutos.

- 3) Identificar el producto obtenido.

- *Hidrólisis enzimática del almidón:*

- 1) Colocar 50 mL de solución de almidón al 1 % en un matraz Erlenmeyer de 100 mL. Agregar 20 mL de extracto crudo de amilasa.

Preparación de extracto crudo de amilasa: procesar bien con agua destilada un boniato pequeño y filtrar. El filtrado contiene amilasa, entre otros compuestos.

- 2) Calentar en baño de agua a una temperatura de 30 °C a 35 °C por 20 minutos.

- 3) Extraer 2 mL de solución, colocarla en un tubo de ensayo y realizar el ensayo con solución de Lugol. Si se observa una coloración azulada continuar el proceso de hidrólisis otros 20 minutos y repetir entonces el ensayo.

- *Descomposición del peróxido de hidrógeno:*

- 1) Colocar en un tubo de ensayo 5 mL de peróxido de hidrógeno 30 volúmenes. Agregar un trozo de hígado crudo pequeño. Observar.
- 2) Escribir la ecuación que representa el proceso ocurrido.

Analizando los aspectos termodinámicos de la acción enzimática

a) Introducir en un calorímetro 10,00 mL de peróxido de hidrógeno al 3 % (10 volúmenes). Tapar y anotar la temperatura inicial.

b) Colocar 2 trozos pequeños de hígado tapando de nuevo rápidamente.

c) Medir y anotar la temperatura cada 30 segundos durante aproximadamente 5 minutos.

Construir una gráfica con estos datos.

tiempo (minutos)	t (°C)	tiempo (minutos)	t (°C)
0,0		2,5	
0,5		3,0	
1,0		3,5	
1,5		4,0	
2,0		4,5	

Actividad Práctica 2 – Factores que afectan la actividad enzimática

Guía para fundamento teórico:

- a) ¿Qué es una enzima?
- b) ¿Cómo modifica la rapidez de reacción?
- c) ¿Cómo actúa la enzima peroxidasa o catalasa? ¿Qué función cumple en las células? Busca información sobre sus niveles estructurales.
- d) ¿Qué factores afectan la actividad enzimática?

1) Objetivos:

- Estudiar la influencia de la temperatura, el pH y la concentración de enzima en el poder de la catalasa para descomponer el peróxido de hidrógeno.

2) Materiales y sustancias/soluciones:

3) Factores de riesgo y medidas de seguridad:

4) Procedimiento:

Preparación del homogeneizado de papa: procesar bien con agua destilada una papa pequeña y filtrar. El filtrado contiene catalasa, entre otros compuestos.

Efecto de la temperatura

- 1) Colocar 5 mL de homogeneizado de papa en una probeta de 100 mL. Agregar 5 mL de solución buffer de pH 7 y cinco gotas de detergente. Mezclar el preparado.
- 2) En una probeta de 25 mL medir 10 mL de peróxido de hidrógeno de 30 volúmenes. Colocar junto con la probeta de 100 mL en un baño de agua a 30 °C y dejar reposar por cinco minutos.
- 3) Luego de los cinco minutos verter rápidamente el peróxido de hidrógeno a la probeta con el preparado de papa. Registrar el volumen de espuma producido en dos minutos.
- 4) Repetir el procedimiento a temperaturas de 0 °C, 15 °C, 45 °C y 60 °C.

Efecto del pH

- 1) Colocar 5 mL de homogeneizado de papa en una probeta de 100 mL. Agregar 5 mL de solución buffer de pH 7 y cinco gotas de detergente. Mezclar el preparado.
- 2) En una probeta de 25 mL medir 10 mL de peróxido de hidrógeno de 30 vol. Verter rápidamente el peróxido de hidrógeno a la probeta con el preparado de papa.

- 3) Registrar el volumen de espuma producido en dos minutos.
- 4) Repetir el procedimiento utilizando:
 - 5 mL de HCl 0,5 M (pH final aproximado de 1),
 - 5 mL de buffer de pH 4,
 - 5 mL de buffer de pH 10 y
 - 5 mL de NaOH 0,5 M (pH final aproximado de 13) en lugar de la solución buffer de pH 7.

Efecto de la concentración de enzima

- 1) Colocar 5 mL de homogeneizado de papa en una probeta de 100 mL. Agregar 5 mL de solución buffer de pH 7 y cinco gotas de detergente. Mezclar el preparado.
- 2) En una probeta de 25 mL medir 10 mL de peróxido de hidrógeno de 30 vol. Verter rápidamente el peróxido de hidrógeno a la probeta con el preparado de papa.
- 3) Registrar el volumen de espuma producido en dos minutos.
- 4) Repetir el procedimiento utilizando:
 - 1 mL de homogeneizado y 9 mL de buffer,
 - 2 mL de homogeneizado y 8 mL de buffer,
 - 3 mL de homogeneizado y 7 mL de buffer y
 - 4 mL de homogeneizado y 6 mL de buffer.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1) Presentar los resultados de volumen de espuma producido en las diferentes condiciones en una tabla de datos. Graficar dichos valores en tres gráficos:
 - i. temperatura versus volumen,
 - ii. pH versus volumen y
 - iii. concentración de enzima versus volumen.
- 2) ¿Qué conclusiones se puede extraer acerca del efecto que tiene cada factor estudiado sobre la actividad enzimática de la catalasa? ¿A qué valores se dan los resultados óptimos?

Créditos:

✓ **Referencias bibliográficas:**

- *Actividad 1:* Gurin, M. (2019). *Práctico 7. Hidrólisis de la sacarosa*. ITS Paysandú. / Gurin, M. (2019). *Práctico 8. Hidrólisis del almidón*. ITS Paysandú / Rodríguez, P. (2003). *Investigación de la catalasa*. CeRP del Norte. Área Ciencias de la Naturaleza.
- *Actividad 2:* Gurin, M. (2019). *Práctico 13. Factores que afectan la actividad enzimática*. ITS Paysandú.



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-Compartir Igual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)