

Una práctica para biología de C.O.U.

Actividad enzimática y temperatura Estudio de los resultados

Vicente FRANCH MENEU *

Objetivos



Presentamos aquí una práctica adecuada al nivel del C.O.U., programada para una hora de duración y realizable con el material común de cualquier laboratorio escolar.

La exposición de la técnica utilizada se complementa con un estudio de los resultados obtenidos por los alumnos de nuestro instituto, que nos ayudará a valorar el grado de precisión que puede esperarse en la experimentación y nos ofrecerá un medio para evaluar la destreza instrumental de los alumnos o de grupos de alumnos.

Con esta práctica se pretenden dos objetivos docentes: 1º) demostrar la variación de la actividad de un enzima en función de la temperatura, y 2º) ilustrar de modo práctico la realización de medidas cuantitativas para el estudio de las características bioquímicas o fisiológicas de los seres vivos. Este segundo objetivo es de gran interés; casi todas las prácticas que podemos encontrar en las publicaciones para bachillerato y C.O.U. tiene el defecto de centrarse en el aspecto cualitativo de las experiencias, lo que puede llevar a los alumnos a considerar la experimentación biológica como un campo meramente descriptivo, faltarle de interés por la cuantificación, al contrario de lo que ocurre en el riguroso control de las experiencias físico-químicas.

El guión multicopiado de la práctica se entregó a cada uno de los 44 alumnos del instituto que eligieron como optativa la biología de C.O.U. Estos a su vez se agruparon en 13 equipos de 3-4 componentes para realizar la experiencia. Reproducimos a continuación el guión.

Guión de la práctica

Biología COU Seminario de Ciencias Naturales
Fecha Instituto Monelos

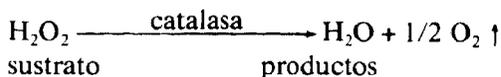
Efecto de la temperatura en la actividad enzimática

Fundamento

Los enzimas son moléculas proteicas que actúan como catalizadores de las reacciones bioquímicas.

El efecto de la temperatura sobre la actividad de los enzimas es doble: por un parte, un incremento de temperatura aumenta la velocidad de cualquier reacción química, y esto ocurre también con las enzimáticas; por otra parte, como los enzimas son proteínas, cuando la temperatura se eleva por encima de unos valores críticos, se produce la desnaturalización por desorganización de su estructura terciaria y consecuente pérdida de la actividad enzimática.

Nosotros vamos a trabajar con un enzima que se encuentra en muchos tejidos animales y vegetales, localizado en los orgánulos celulares denominados peroxisomas: *la catalasa*. La catalasa actúa específicamente sobre el agua oxigenada, descomponiéndola en agua y oxígeno:



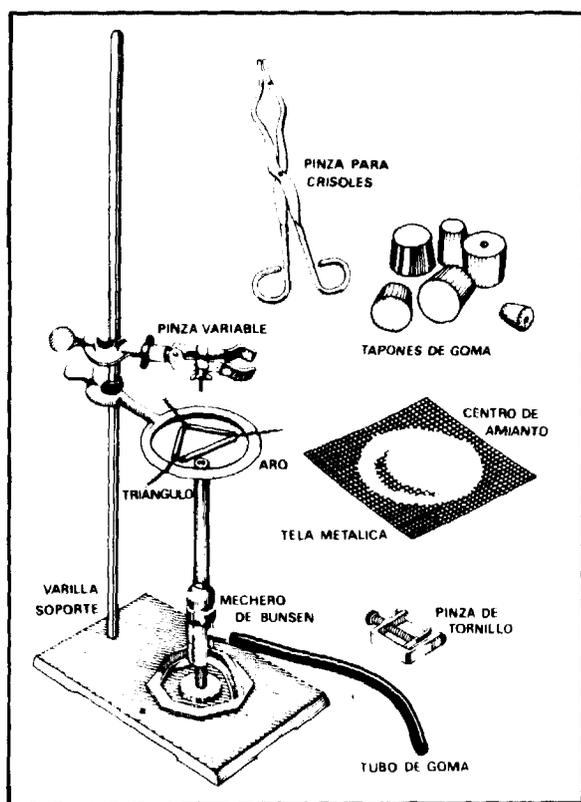
* Catedrático de ciencias naturales del Instituto de Bachillerato de Monelos, La Coruña.

Vamos a estudiar el efecto de la temperatura sobre la actividad catalasa de la patata y determinaremos su temperatura óptima. Para ello utilizaremos distintas muestras de tubérculo de patata del mismo peso (1 gramo). De esta forma, todos los datos obtenidos vendrán referidos a 1 g. de tejido.

La actividad enzimática para cada temperatura la determinaremos midiendo el volumen de O₂ desprendido en un cierto tiempo de reacción.

Material

Agua oxigenada al 5%, hielo, tubos de ensayo, vaso de precipitados de 300 cc, escalpelo o navaja, patata, regla graduada, termómetro, trípode y rejilla de amianto, mechero de gas o alcohol, pinzas curvas, cronómetro, balanza.



Método

1. Llenar dos tubos de ensayo hasta la mitad.
2. Poner unos 150 cc de agua oxigenada en un vaso de precipitados y añadir unos cubitos de hielo hasta que el nivel del agua llegue a unos 2 cms del borde del vaso. Introducir los tubos con agua normal en el vaso.
3. Con el escalpelo cortar cuatro trozos de patata de forma prismática de las siguientes medidas: 0'5 x 0'5 x 3'5 cm. Como la densidad de la patata es de 1'15 g/cc, estos trozos pesarán 1 gramo. Introducir los trozos en los tubos con agua. Se puede comprobar y ajustar el peso utilizando la balanza.

4. Pasado un cierto tiempo (unos 5 min.), se llena otro tubo de ensayo hasta el borde del mismo H₂O₂ del vaso. Tapanlo con el dedo índice, invertirlo e introducirlo en el agua oxigenada de manera que el tubo quede totalmente lleno, sin aire.

5. Se extrae uno de los trozos de patata y, con las pinzas curvas, se introduce en el tubo invertido levantándolo un poco. Empezar a contar el tiempo a partir de este momento. Ahora se mide la temperatura del agua con el termómetro y se anota en el apartado *Resultados* de la TABLA DE DATOS.

6. Al cabo de cierto tiempo (2 minutos, por ejemplo) medir con una regla la longitud del tubo ocupada por el gas (h). Anotar este dato en la tabla. A continuación se puede vaciar el tubo y desecar este trozo de patata.

7. Llenar de nuevo el tubo con agua oxigenada tomada del mismo vaso de precipitados. Repetir la operación 4.

8. Colocar el vaso sobre la rejilla de amianto en el trípode y calentar con el mechero hasta unos 15°C. En este momento se retira el mechero y se repiten las operaciones 5 y 6 con otro trozo de patata. Anotar la altura del gas (h) obtenida a esta temperatura en la TABLA DE DATOS.

9. Repetir estas operaciones con el tercer trozo de patata pero esta vez a 35°C. Anotar el resultado en la tabla.

10. Hacer lo mismo a 65°C con el cuarto trozo.

11. Calcular el volumen de oxígeno desprendido en cada experiencia. Para ello medir el radio interior del tubo de ensayo (r) y calcular su sección (S). $S = \pi r^2$.

El volumen (V) se calcula multiplicando la sección por la altura. $V = S \cdot h$. Dar el resultado en cc. Anotar estos valores y los tiempos de reacción en la TABLA DE DATOS.

(NOTA: las temperaturas que se indican son sólo sugerencias. Se puede trabajar a otras temperaturas que parezcan más interesantes con tal de que sean inferiores a 80°C).

Resultados 1. TABLA DE DATOS

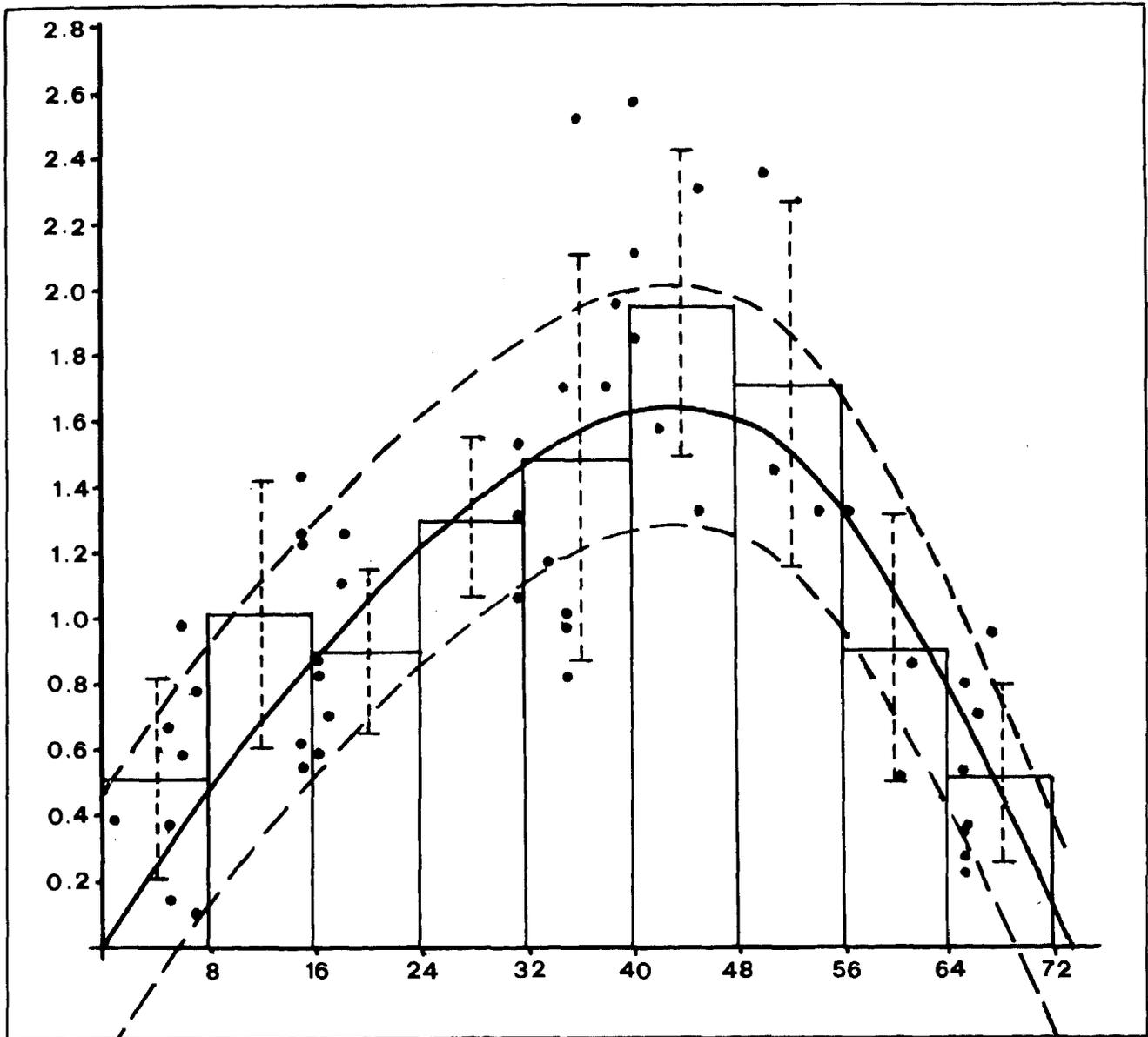
diámetro del tubo/2 = radio (r)=			$S = \pi r^2 =$	
Temp (°C)	h (cm)	V=S.h Vol (cm ³)	Tpo (min)	Actividad (cm ³ /minuto)

2. Con estos datos (Temperatura-Actividad) construye una gráfica:

Actividad
cm³/min.
de O₂ desprendido



Temperatura °C



3. ¿Cuál es la *temperatura óptima* de actividad del enzima catalasa de la patata?

4. Comenta brevemente los resultados e intenta dar una explicación razonada de la forma de la curva.

Observaciones al desarrollo de la práctica

Los primeros diez minutos de la clase se emplean en repartir los guiones indicando a los alumnos que lean detenidamente el apartado de *Fundamento*. Se complementa con una breve explicación de su contenido y de algunos aspectos teóricos relacionados con el tema: concepto de enzima, sus propiedades (especificidad, desnaturalización, etc.), concepto de actividad enzimática,...

El desarrollo de las experiencias debe ser coordinado por el profesor resolviendo dudas, ilustrando la técnica a utilizar y puntualizando algunos aspectos.

Han de tenerse en cuenta algunas consideraciones:

1. La dilución del agua oxigenada con el hielo no influye significativamente en los resultados de la actividad enzimática, pues trabajamos a niveles de saturación del enzima¹. Sin embargo, no es conveniente utilizar agua oxigenada muy diluida, por ejemplo la expedida en farmacias, ni muy concentrada, porque produce irritación de la piel. Una buena concentración es la indicada en el guión: 5%.

¹ LEHNINGER, A.L., *Bioquímica*. Barcelona, Editorial Omega, 1972. p. 168.

TABLA I

Intervalo	0-7,5	8-15,5	16-23,5	24-31,5	32-39,5	40-47,5	48-55,5	56-63,5	64-72
	<u>T</u> <u>A</u>								
1	0,39	15 1,23	16 0,58	30 1,52	33 1,17	40 2,57	50 2,35	56 1,32	65 0,22
5	0,67	15 0,62	16 0,82	30 1,06	35 1,01	40 2,11	51 1,45	60 0,50	65 0,35
5	0,15	15 1,43	16 0,87	30 1,30	35 1,70	40 1,85	54 1,32	61 0,86	65 0,26
5	0,38	15 0,55	17 0,70		35 0,97	42 1,57			65 0,52
6	0,98	15 1,25	18 1,11		35 0,82	45 2,31			65 0,80
6	0,59		18 1,26		36 2,52	45 1,32			65 0,35
7	0,10				38 1,70				66 0,70
7	0,78				39 1,96				67 0,95
N=	8	5	6	3	8	6	3	3	8
$\sum_A =$	4,04	5,08	5,34	3,82	11,85	11,73	5,12	2,68	4,15
$M = \sum_A / N =$	0,505	1,016	0,890	1,293	1,481	1,955	1,706	0,893	0,518
s =	0,30	0,40	0,25	0,23	0,62	0,47	0,56	0,41	0,27
Media ponderada de las desviaciones (\bar{s}) = 0,389. Número total de datos (N _i) = 50									

T: temperatura en °C. A: actividad en c.c./minuto. N: número de datos. s: desviaciones típicas

2. Los trozos de patata deben cortarse en forma prismática de las dimensiones indicadas para que puedan introducirse fácilmente en el tubo invertido y, a la vez, para que la superficie de los trozos en contacto con el H_2O_2 sea semejante. El ajuste final del peso de cada pedazo conviene realizarlo con la balanza, si el laboratorio dispone de una balanza para cada equipo de alumnos. En caso contrario basta con la aproximación geométrica.

3. La temperatura de cada prueba debe anotarse en la mitad del tiempo de reacción. Entre el principio y el final de cada experiencia la temperatura suele bajar o subir unos 2 grados.

4. Es conveniente comprobar que los alumnos realizan bien los cálculos en el apartado *Resultados*. Es frecuente que al calcular la sección del tubo utilicen el valor del diámetro en lugar del radio; suelen olvidar dividir por dos.

Resultados y comentario

En el desarrollo de la práctica cada equipo ha obtenido cuatro resultados a distintas temperaturas (realmente, dos de los equipos sólo pudieron obtener tres datos). En total contamos con una muestra de 50 valores. Los resultados encontrados por nuestros alumnos se indican en la tabla I. Para el análisis estadístico hemos agrupado los datos en nueve intervalos de temperatura. En la figura 1 representamos gráficamente los valores: las columnas señalan la actividad enzimática media para cada intervalo de temperaturas, y las barras verticales la desviación típica de los valores de actividad para cada intervalo. La curva se ha dibujado de forma que aparezcan 25 puntos por encima de ella y 25 por debajo; es una representación gráfica indicativa obtenida a partir de la nube de puntos. Las curvas de trazo interrumpido están dibujadas a una distancia de una desviación típica media de la curva. Esta desviación típica se obtiene calculando la media ponderada de las desviaciones típicas de los intervalos. La temperatura óptima del encima se sitúa en los $42^\circ C$, siendo aceptables valores comprendidos entre 37 y $48^\circ C$.

Nos interesaba saber el grado de dispersión que presentan estos resultados y por tanto su significación. Así podemos valorar la destreza instrumental de los alumnos. La nube de puntos señala claramente que existe una relación curvilínea entre estas dos variables: temperatura y actividad del enzima catalasa. Para valorar la cuantía de esta relación hemos calculado el coeficiente de correlación de los valores de la actividad enzimática para las distintas temperaturas; es el llamado coeficiente η_{yx} (y = actividad, x = temperatura) por

razón de correlaciones². Los valores del coeficiente η pueden variar desde 0 (relación nula) hasta 1 (relación perfecta), considerándose valores mayores de 0'80 como altos, alrededor de 0'50 como moderados y menores de 0'30 como pequeños. En nuestro caso el valor de η_{yx} es 0'807. Este valor, además, es altamente significativo —es decir, que la relación hallada no se debe al azar—, como se comprueba aplicando un contraste de significación adecuado³. $F = 9'56$, que interpretado según la tabla de distribución F de Snedecor ($F = 9'56 > 2'97$), nos indica que la razón de correlación calculada es muy significativa, por encima del 1%.

Evidentemente, aunque los resultados de los alumnos presentan una notable dispersión, que no sería aceptable en trabajos de investigación, podemos hacer algunas afirmaciones:

1. El nivel de destreza instrumental de nuestro grupo de alumnos es aceptable, como demuestra el alto grado de correlación encontrado entre las dos variables.

2. El diseño de la experiencia expuesto en el guión, con las observaciones del profesor, permite a los alumnos obtener resultados significativos en orden a cumplir los objetivos de la práctica.

3. Para valorar la destreza de un equipo de 3-4 alumnos podemos basarnos relativamente en los resultados estudiados con esta muestra de 50 datos. Por ejemplo, si los resultados de un determinado equipo se apartan mucho de la curva diseñada a partir de la nube de puntos (supongamos unos $0'50 \text{ cm}^3/\text{min}$), significa que han cometido errores técnicos importantes.

4. La realización de esta práctica en años sucesivos o en otros centros nos permitirá aumentar el número de datos y por tanto contrastar estos resultados. También podemos realizar una comparación de las destrezas técnicas de grupos de alumnos, por ejemplo entre años o entre centros distintos. Pensamos que de esta forma, o con métodos similares, se ofrece una técnica que permite la autoevaluación de los profesores en el terreno de las clases prácticas.



² DOWNIE, N.M. y HEAT, R.W. *Métodos estadísticos aplicados*. Madrid Editorial del Castillo, 1971. pp. 130-134.

³ *Ibíd.* p. 254.

arte en imágenes



Cada ejemplar de la colección
"Arte en Imágenes" consta de 12
diapositivas, recogidas en una carpeta en forma de libro
(de 12,5 x 18 cm.), con texto explicativo.

- | | |
|----------------------------------|-----------------------------------|
| 1. Velázquez, I: Retratos reales | 17. Chillida, I: Metal |
| 2. Goya, I: Retratos reales | 18. Picasso, II: 1906-1916 |
| 3. Zurbarán | 19. Solana |
| 4. Miró | 20. Gaudí |
| 5. Alonso Cano, I: Escultura. | 21. Arquitectura |
| 6. Salzillo | hispano-musulmana, I: Córdoba |
| 7. Berruguete | 22. Chillida, II: Madera, |
| 8. Martínez Montañés | alabastro, collages |
| 9. Picasso, I: (1881-1906) | 23. Zabaleta |
| 10. Escultura románica, I: | 24. Arquitectura del Renacimiento |
| Santiago de Compostela | 25. Arquitectura románica: |
| 11. Velázquez, II: | Camino de Santiago |
| Temas mitológicos | 26. Juan Gris |
| 12. El Greco, I: Museo del Prado | 27. Gargallo |
| 13. Arquitectura asturiana | 28. Fortuny |
| 14. Arquitectura neoclásica | 29. Dalí |
| 15. Prehistoria: | 30. Miguel Millares, I |
| Construcciones megalíticas | 31. Miguel Millares, II |
| 16. Cerámica española, I: | 32. Sorolla |
| Del neolítico al siglo I | 33. Canogar |
- Precio de cada
ejemplar: 250 Ptas.

**Edita: Servicio de Publicaciones del Ministerio
de Educación y Ciencia**



Venta en:

Planta baja del Ministerio de Educación y Ciencia. Alcalá, 34. Madrid-14. Paseo del Prado, 28. Madrid-14.
Edificio del Servicio de Publicaciones. Ciudad Universitaria, s/n. Madrid-3. Teléfono: 449 67 22.