

El tema de la catalasa en los diferentes niveles de enseñanza aprendizaje

Ismael Soto López

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

issolo2003@yahoo.com.mx

Lidia Meléndez Balbuena

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Imbalbuena@hotmail.com

Abraham Jiménez Hernández

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

alukar3@hotmail.com

Resumen

El tema de la catalasa y su acción como enzima antioxidante en tejidos vegetales y animales tiene como finalidad dar a conocer a los docentes el cómo impartirlo en los diferentes niveles de enseñanza escalando en el conocimiento de cada etapa de formación académica. Así en nivel de secundaria la experiencia al observar una reacción tan evidente como el contacto de la enzima propia de los tejidos vivos con el peróxido de hidrogeno y la formación de un burbujeo de oxígeno les permite a los alumnos por medio de la experimentación y la observación construir su propio conocimiento. A nivel de Preparatoria O Bachillerato además de la experiencia anterior ya se puede escalar en el conocimiento para introducir conceptos avanzados como (Enzima, Sustrato y Cofactor). A nivel Profesional el escalamiento será introducir conceptos como cinética enzimática, cofactores metálicos, sustratos oxidados, e implicaciones clínicas. Todo esto como parte de la preparación profesional para su desempeño frente a la sociedad. A

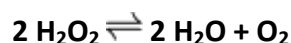
nivel posgrado el conocimiento de estos principios enzima-sustrato podrá ser aplicado de manera práctica a determinación en campos profesionales como la toxicología, al poder determinar pesticidas en semillas de siembra o de consumo, en el área clínica para pruebas de sida, elisa, identificación de microorganismos, pruebas de luminiscencia, etc. Como conclusión se ha podido observar como un mismo tema se puede impartir, escalando en el conocimiento tomando los conocimientos previos en cada caso hasta llegar a las aplicaciones prácticas lo cual se puede traducir como un conocimiento significativo.

Palabras clave: Muestrear; Enzima; análisis; calcinación; catalasa; enzima; cofactor enzimático; porfirina; Oxígeno; Enseñanza-Aprendizaje; Hígado; Peroxidasas

Introducción

El proceso de enseñanza-aprendizaje de las ciencias no debería de tener dificultad si se explicara de manera sencilla y con un lenguaje claro, es por esto que en este trabajo se propone establecer una estrategia con una temática definida y de esta manera comenzar a escalar en el conocimiento a partir de una experiencia práctica sencilla y así avanzar, según el grado de escolaridad hacia los siguientes niveles mayores del conocimiento, puntualizando y detallando dicho fenómeno en sus aspectos específicos con la profundidad según sea el nivel de conocimiento y las necesidades del educando. La temática propuesta en esta ocasión es el estudio de la actividad química y biológica de una de las enzimas más conocidas y estudiadas como lo es la catalasa.

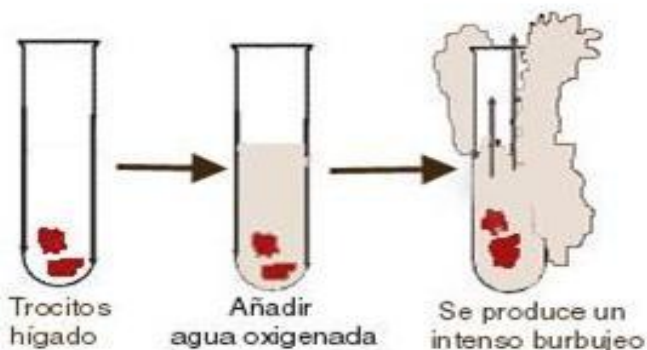
La catalasa es una **enzima** perteneciente a la categoría de las oxidoreductasas que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) hacia oxígeno y agua. Esta enzima utiliza como cofactor un grupo porfirínico de hierro.



El peróxido de hidrógeno es un residuo del metabolismo celular de muchos organismos vivos y tiene entre otras funciones la de proteger contra microorganismos patógenos, principalmente anaerobios, aunque dada su toxicidad, ésta debe transformarse a compuestos no peligrosos. Esta función de descomposición la lleva a cabo esta enzima que cataliza la descomposición hacia oxígeno y agua. Además la catalasa se utiliza en muy diversos procesos de tipo industrial, de diagnóstico químico, clínico, veterinario, agropecuario, etc. Se puede ver en la industria textil para la eliminación de peróxidos del blanqueado de telas, así como en casos detallados de limpieza de lentes de contacto que hayan sido esterilizados con agua oxigenada o en diagnósticos clínicos como la prueba de Elisa, o en la denominada acatalasemia, que es la ausencia congénita de catalasa en sangre (conocida como enfermedad de Takahara caracterizada por fuertes infecciones gangrenosas en encías causantes de destrucción de los maxilares), determinación de la actividad microbiana como el caso de *penicillium* y otras bacterias anaerobias que al estar en contacto del oxígeno producido por la reacción tiene efecto bactericida

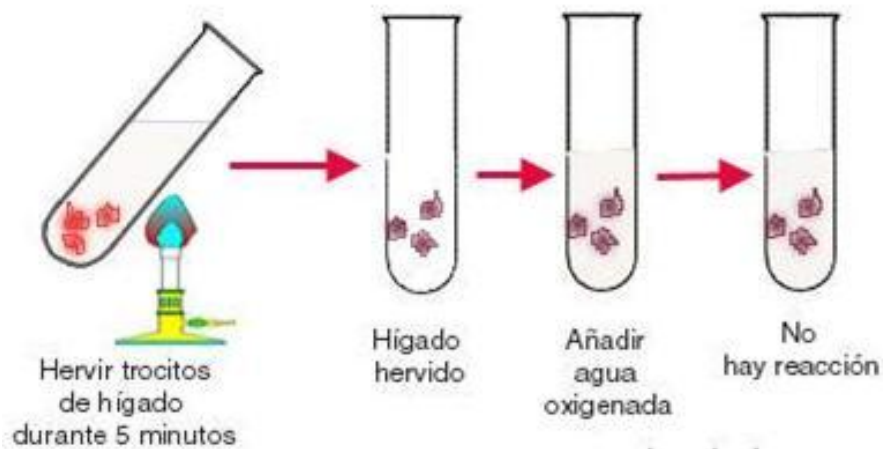
La presencia de la enzima catalasa en los tejidos de los organismos, se puede demostrar en un sencillo experimento de laboratorio. Tomamos un trocito de hígado, y lo colocamos en el fondo de un tubo de ensayo. Luego añadimos 5 ml de agua oxigenada (que es lo mismo que peróxido de hidrógeno). Inmediatamente observaremos un intenso burbujeo, que se debe al desprendimiento de oxígeno de la reacción catalizada por la enzima catalasa.

Este sencillo experimento puede repetirse con distintos tejidos animales y vegetales, en los cuales encontraremos diferentes intensidades de burbujeo, dependiendo de la cantidad de catalasa presente en el tejido. Se puede comprobar la presencia del oxígeno acercando un trozo de madera encendida o como una brasa que se intensificará en una flama.



Todas las enzimas son proteínas. Por lo tanto, todas las enzimas sufren desnaturalización frente al calor. Esto quiere decir que cuando la

temperatura es muy elevada, la enzima pierde su estructura terciaria, por lo tanto su sitio activo también se desnaturaliza, y ya no puede cumplir su función. Este hecho se puede demostrar repitiendo el experimento anterior, pero habiendo hervido previamente los trocitos de hígado. Cuando añadimos el agua oxigenada, no se observa el burbujeo.



La determinación de presencia o ausencia de catalasa resulta útil en el área de bacteriología, para diferenciar colonias de estreptococos, que son catalasa negativos, de estafilococos o micrococcos, que son bacterias que contienen catalasa.

También se utiliza para diferenciar los géneros *Bacillus* (catalasa positivo) de *Clostridium* (catalasa negativo).

Para realizar la prueba de la catalasa, se toma una colonia aislada del cultivo bacteriano y se coloca sobre un portaobjetos. Sobre ella se deja caer una gota de peróxido de hidrógeno. Si el resultado es positivo, se observará la formación de burbujas.

Si el cultivo bacteriano fue realizado en agar sangre, hay que tener precaución de no llevar un trozo de agar con el asa cuando se levanta la colonia, porque de esta manera se pueden dar resultados falso positivos.

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.

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:

La catalasa, que se encuentra en animales y protistas; la 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 como:

- 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).

ESTRATEGIAS:

Es así que se puede escalar en el conocimiento del tema si como estrategia de enseñanza-aprendizaje se aprovecha esta información ya que según el nivel de escolaridad se aporta cierto grado de información.

a). Así, para nivel básico como en secundaria se podrían explicar conceptos como: Enzima, proteína, reacción química, presencia de minerales, producción de oxígeno, combustión, oxidación, etc., el experimento básico con tejidos de origen animal (hígado, sangre, músculo, etc.) o vegetal (rábano, col, apio, manzana, etc.), que al ponerlos en contacto con el peróxido de hidrógeno observen la reacción de descomposición.

b). Para nivel medio, la misma reacción puede dar origen a explicaciones más detalladas como los conceptos: catalizador, enzima, proteínas y su clasificación, cofactores enzimáticos, complejo enzima-sustrato, factores que afectan la actividad enzimática: pH y temperatura, midiendo la cantidad de oxígeno desprendido conforme se va descomponiendo el peróxido de hidrógeno.

c). Para nivel profesional en escuelas y facultades de carreras de Química, biología, ingeniería química, alimentos, enfermería o medicina, se sugiere abordar temas como son: proteínas y su clasificación, enzimas, cofactores y su clasificación, complejo enzima-sustrato, porfirinas y su clasificación, diferencias entre el grupo Hemo y las porfirinas, las funciones de los metales en sistemas biológicos, factores que afectan la cinética de reacción enzimática, cálculo de presión de oxígeno producido durante la reacción utilizando un Interfaz de Vernier para computadora. A continuación se sugiere un experimento ampliamente reportado en internet:

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.

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 de hidrógeno ya no se produce más O_2 .

Experimento 2:

OBJETIVOS

En este experimento:

- Se 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 a diferentes concentraciones de la enzima.
- Se 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 .
- Se medirá la producción de oxígeno gaseoso a medida que se destruye el peróxido de hidrógeno por la acción de la enzima catalasa a varias temperaturas.
- Se medirá y comparará la velocidad inicial de reacción para la enzima a cada temperatura.
- Se medirá la producción de oxígeno gaseoso a medida que el peróxido de hidrógeno se destruye por la acción de la enzima catalasa a distintos valores de pH.
- Se medirá y comparará la velocidad inicial de reacción para la enzima a cada valor de pH. 1 2 3 4.

MATERIALES

computador Vaso de precipitado de 600 mL

Interfaz de Vernier para computador Suspensión de enzima

Logger Pro Cuatro tubos de ensayo de 18 X 150 mm Sensor de presión de gas de Vernier hielo

Tapón horadado, Solución amortiguadora de pH

Probeta de 10 mL Gradilla para tubos de ensayo

Vaso de precipitado de 250 mL de agua termómetro

3% H₂O₂ 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 Computadores del Logger Pro.

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. Acción Enzimática: Actividad de la Catalasa Ciencias con lo mejor de Vernier 3 - 3

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. 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 Pka, 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 Pka.

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 fórmula de la línea del mejor ajuste.

c. Registre la pendiente de la línea, m , como la velocidad de la actividad enzimática. 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.

Experimento: Ciencias con lo mejor de Vernier

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	T 50 – 55
---------	-----------	-----------	-----------

14. Agregue 3 ml de 3% H₂O₂ y 3 ml de agua a cada tubo de ensayo, construir una tabla

Etiqueta de tubo de ensayo Volumen de 3% H₂O₂ (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): Acción Enzimática: Actividad de la Catalasa

Ciencias con lo mejor de Vernier 3 - 5

- 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.

Tabla 3

pH solución amortiguadora Volumen de 3% H₂O₂ (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 pasos 7 – 11.

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

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

DATOS

Tabla 2

Etiqueta de tubo de ensayo Pendiente o rapidez (kPa/min)

1 gota	pH 2	0 – 5 °C	: _____ °C
2 gotas	pH 4	20 – 25 °C	: _____ °C
3 gotas	pH 7	30 – 35 °C	: _____ °C
4 gotas	pH 10	50 – 55 °C	: _____ °C

Experimento 3

Ciencias con lo mejor de Vernier

PROCESAMIENTO DE DATOS

Gráfico de la concentración de enzima

1. 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. 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. 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 H₂O₂?
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 ambientes. 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 vegetal, animal y protista. Acción Enzimática: Actividad de la Catalasa

Ciencias con lo mejor de Vernier 3 - 7

2. Presumiblemente a mayores concentraciones de H₂O₂, debe aumentar la probabilidad que una molécula de enzima pueda colisionar con H₂O₂. Si fuera así, la concentración de H₂O₂ pudiera alterar la velocidad de producción de oxígeno. Diseñe un conjunto de experimentos para investigar cómo diferentes concentraciones del substrato 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.

Bibliografía

- Arellano, M. J. Y Lazo I.S. (1999). Evaluación del logro de las competencias básicas en el laboratorio de química general, *Educ. Quim.*, 10(1) 49, 1999.
- Barberá, O Y Valdés. P. (1996). El trabajo práctico en la enseñanza de las ciencias: una revisión. *Enseñanza de las ciencias*. 14 (3). pp. 365-379.
- Barrera Morales M.F.(2002). "Modelos Epistémicos" Cooperativa Editorial Magisterio. México.
- Bloom, Benjamin,(1980) "Taxonomy of Learning" Mc. Graw-Hill New Yorck
- Brumblay, U. Ray.(1986). Análisis Cualitativo. *El tutor del estudiante*. Ed. CECSA, pp. 123- 139.

- Caamaño, A. (1992). “Los trabajos prácticos en ciencias experimentales. Una reflexión sobre sus objetivos y una propuesta para su diversificación. *Aula de innovación educativa*, 9, pp. 61-68.
- Escudero E., T.(1995). La evaluación de las actividades científicas. *Alambique. Didácticas de las ciencias experimentales. Graó Educación*. No. 4.año 11. Barcelona, pp. 34.
- Frade, Laura (2008) “Desarrollo de Competencias en Educación Desde Preescolar Hasta Bachillerato” *Mediación de Calidad México*, pp 34, 37.
- G. Rayner-Canham, *Química Inorgánica Descriptiva*, 2ª Ed. Prentice Hall 2000.
- G.E. Rodgers. *Química Inorgánica. Introducción a la Química de coordinación, del estado sólido y descriptiva*. McGraw Hill. 1995.
- Hodson, D. (1994). “Hacia un enfoque más crítico del trabajo en el laboratorio”. *Enseñanza de las ciencias*, 12(3), pp. 299-313.
- R.H. Petrucci, W.S. Harwood y F.G. Herring. *Química General*. 8ª ed. Prentice Hall. 2003
- Pimienta Prieto J. H.(2012) “Estrategias de Enseñanza-Aprendizaje Basadas en Competencias. Pearson Educación, México