

ENZIMAS

II- FISIOLÓGÍA CELULAR

.....

I.3.- La nutrición celular.

.....

Metabolismo celular:

.....

- Catálisis enzimática. Estudio de las **enzimas**:
- Estructura enzimática, cofactores y coenzimas. Papel e importancia biológica de los principales coenzimas: ATP, NAD, NADP y FAD.
- Regulación actividad enzimática
- Clasificación de las enzimas.

Actividad enzimática[\[1\]](#).

Cinética de la actividad enzimática.

Enzimas, introducción; Propiedades de las enzimas; mecanismo de las reacciones enzimáticas.

Coenzimas y Cofactores: coenzimas y vitaminas

Factores que afectan a la actividad enzimática: T^a , pH e inhibidores y tipos de inhibición y La concentración del sustrato y fig. 16.15

Efectos del pH y de la T^a en la actividad enzimática. Alosteroismo.

Clasificación de las enzimas.

DEFINICIÓN

Una de las funciones de las proteínas es actuar como enzimas. Las enzimas constituyen la clase de proteínas más amplia y más altamente especializadas. El término enzima (palabra femenina) significa "**levadura**" porque muchos de los conocimientos que se tienen actualmente sobre las enzimas se han obtenido del estudio de las levaduras (hongos que producen la transformación del azúcar en alcohol). Las enzimas **catalizan todos los miles de reacciones metabólicas** que se dan en las células de todos los seres vivos.

Metabolismo: conjunto de reacciones que se dan en los seres vivos

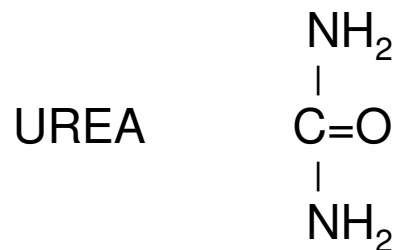
Anabolismo: conjunto de reacciones de síntesis, son generalmente de reducción que requieren energía.

Catabolismo: conjunto de reacciones de degradación, generalmente son reacciones de oxidación que liberan energía.

Las enzimas hacen que las reacciones se **produzcan a gran velocidad (o a una velocidad adecuada para la vida)**, a **temperatura relativamente baja** y **con un rendimiento próximo al 100%**, y además **se recuperan íntegros** después de las reacciones. En realidad, **un catalizador lo único que hace es aumentar la velocidad de la reacción**, pero en el caso de los seres vivos se puede decir que desencadena la reacción porque si no existiera la velocidad de reacción sería tan pequeña que la vida no sería posible.

Desde hace muchos siglos, se han utilizado las propiedades de las enzimas para la producción de alcohol o para la fabricación de queso. Pero durante mucho tiempo estuvo extendida la **teoría del vitalismo** (principio postulado por **Luis Pasteur** en 1850), según la cual hacía falta un ser vivo para conseguir un producto orgánico. Por fin, **Eduard BUCHNER** en 1897 consiguió extraer de las células de levadura las enzimas que catalizan la formación de alcohol, demostrando de esta manera que **pueden actuar independientemente de la estructura celular**.

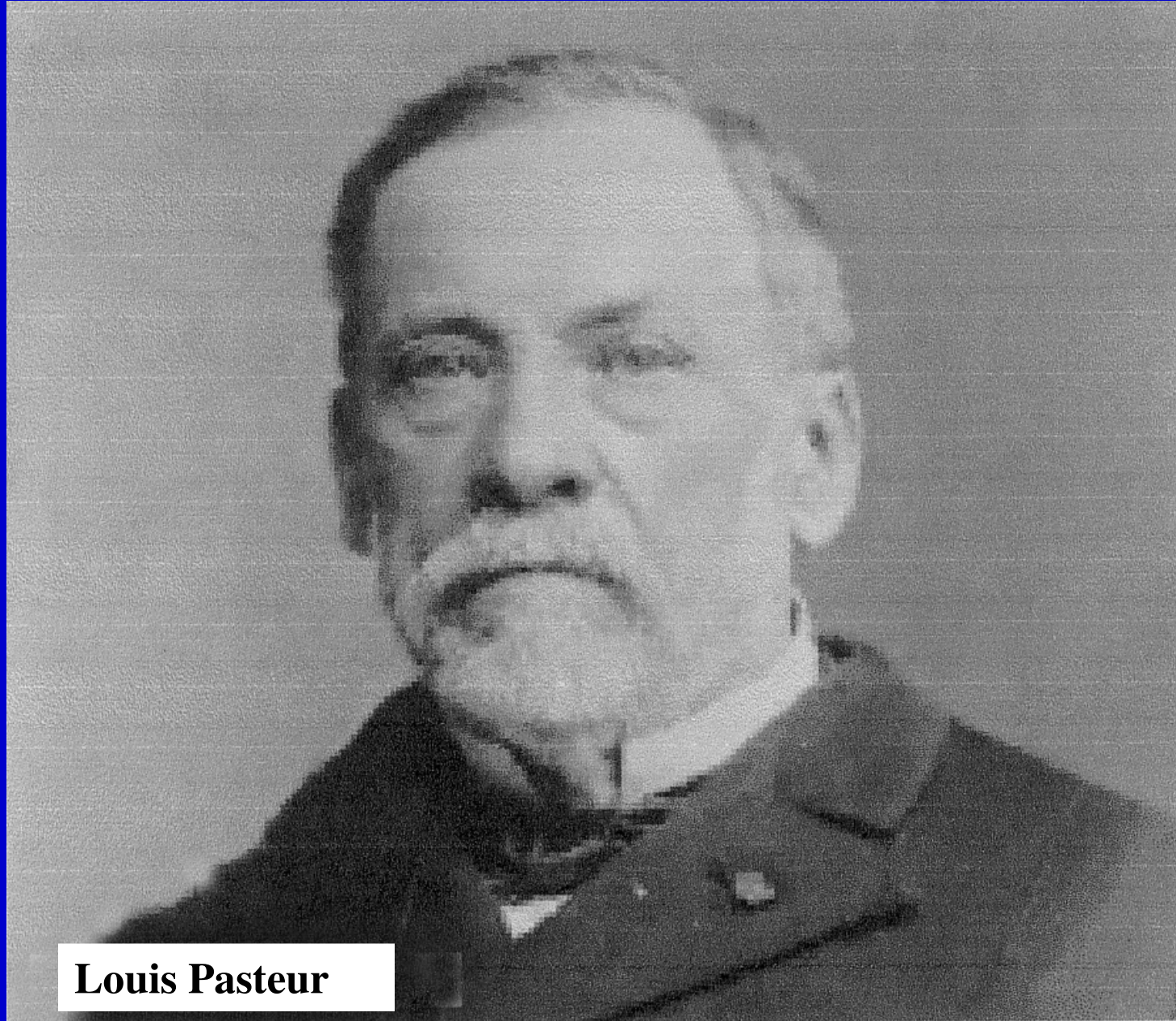
El primer enzima que se aisló en forma cristalina fue la **ureasa** (lo consiguió **James Sumner** en 1926), que cataliza la hidrólisis de la urea en amoníaco y CO_2 .



Actualmente, se conocen alrededor de 1500 enzimas, y muchos de ellos se han aislado de forma cristalina.

Louis Pasteur (1822-1895) químico de profesión fue profesor en Dijon, Estrasburgo, Lille y, posteriormente, en París. Sus trabajos experimentales se iniciaron con estudios de **isomería óptica** en los cristales de ácido tartárico, según desviaran el plano de la luz polarizada hacia la derecha (dextrógiros) o hacia la izquierda (levógiros) (1847 a 1857). Instalado en Estrasburgo, le preocuparon problemas industriales que guardaban relación con las **fermentaciones**: láctica, butírica y alcohólica, así como la generación espontánea (1857-1865); desveló **la naturaleza parasitaria de ciertas enfermedades** de los gusanos de seda (1865-1870); estudió la producción de cerveza (1871-1876) y por último se dedicó a investigar la **etiología de enfermedades infecciosas** como el **ántrax**, **cólera de las gallinas** y la **rabia**, aplicándose en la obtención de vacunas eficaces (1877-1895).

Pasteur partió de una hipótesis que creyó experimentalmente fundada, que toda fermentación estaba causada específicamente por un **microorganismo**. Una primera objeción a la que tuvo que responder fue la referente al origen de dichos seres diminutos. Desde posiciones materialistas se defendía la "generación espontánea" hipótesis que impedía decidir si los microbios presentes en una fermentación (o en los líquidos tisulares de un enfermo) eran causa o efecto del fenómeno que se quería explicar. Por eso **su demostración de la ausencia de generación espontánea**. La sustitución del modelo químico por el biológico abrió paso a la consideración de **los microbios como causas de las enfermedades**. La popularidad lograda con el éxito de la **vacuna de la rabia** (1885) provocó la creación de un **Instituto** que garantizase la continuidad de sus descubrimientos. Sus obras publicadas en diversas revistas fueron recopiladas, por su nieto, en siete volúmenes (Oeuvres de Pasteur, Paris 1922-1939) Tres de los **grandes avances de la medicina contemporánea** proceden de las aportaciones de Pasteur: la **antisepsia** de Lister que permitirá el desarrollo de la cirugía, el desarrollo de la **patología bacteriológica** y la **profilaxis de las enfermedades infecciosas**, con la creación de vacunas y sueros.



Louis Pasteur

NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN DE LOS ENZIMAS

Se nombra a los enzimas añadiendo el sufijo **-ASA** al nombre de la sustancia sobre la que actúa, que a su vez recibe el nombre de **sustrato**. Por ejemplo: **ureasa**, **arginasa**, **hidrogenasa**, **DNA polimerasa** etc.

Algunas conservan su nombre antiguo:

- **tripsina**: es un enzima proteolítico del jugo pancreático.
- **pepsina**: es un enzima proteolítico del estómago.
- **ptialina salivar**: es una amilasa

En 1964 la Unión Internacional de Bioquímica (IUB) decidió que el nombre del enzima debía reflejar no solo la **naturaleza del sustrato**, sino también el **tipo de reacción catalizada**. Esto hace que los nombres **sistemáticos** a veces sean largos por lo que a veces se sigue utilizando el nombre antiguo. Se han agrupado todos los enzimas en **6 clases principales** de acuerdo con el tipo de reacciones que catalizan. A cada enzima se le da también un número que lo identifica. Como vamos a ver la mayoría de los e. catalizan la transferencia de e^- , átomos o grupos funcionales.

1. Oxidorreductasas: como su nombre indica, **catalizan reacciones de óxido-reducción**, esto es, reacciones en las que hay transferencia de electrones.

Oxidación: pérdida de electrones o, en medios orgánicos, pérdida de átomos de hidrógeno.

Reducción: ganancia de electrones o aceptación de protones en medios orgánicos.

Por ejemplo:

- Las **deshidrogenasas**: quitan hidrógenos del sustrato y por lo tanto lo oxidan. Suelen tener como coenzima al NAD y al FAD.
- Las **hidrogenasas**: añaden hidrógenos al sustrato y por lo tanto lo reducen.
- Las **oxidasas**: captan electrones del sustrato y lo transfieren al oxígeno molecular.
- La **catalasa**: reduce al agua oxigenada (H_2O_2).

2. Transferasas: catalizan **reacciones de transferencia** de grupos funcionales de un sustrato a otro. Por ejemplo: transfieren grupos **metil**, **fosfatil**, **amino**...

Ejemplo:

SGOT: **glutamato-oxalacetato transaminasa sérica** (o **aspartato aminotransferasa**, si miramos la reacción en el otro sentido).

3. Hidrolasas: catalizan **reacciones de hidrólisis**. Rompen enlaces por adición de agua a esos enlaces. Hidrolizan enlaces **éster**, enlaces **glicosídicos**, enlaces **peptídicos**....

A este grupo pertenecen la mayoría de los enzimas digestivos, **amilasas**, **lipasas**, **ribonucleasas**, **DNAasas**, **RNAasas**, **proteasas** etc.

4. Liasas: son enzimas que catalizan **reacciones de adición a dobles enlaces** (por lo tanto los transforman en enlaces sencillos), o **bien forman dobles enlaces**.
Suelen originar la pérdida de grupos funcionales.

Por ejemplo, las **decarboxilasas** eliminan un grupo carboxilo y las **desaminasas** eliminan un grupo amino.

5. Isomerasas: catalizan **reacciones de isomerización**, es decir, reacciones cuyo resultado es una ordenación intramolecular.

Ejemplo: Isomerización de la glucosa para dar fructosa 6-P. Cataliza la **glucoisomerasa** (cataliza la transformación de glucosa en fructosa en la glucólisis)

6. Ligasas o sintetasas: catalizan la formación de enlaces entre 2 moléculas de sustrato, por lo tanto **catalizan reacciones de síntesis** (reacciones anabólicas). Utilizan la energía procedente de la ruptura de un enlace pirofosfato en la molécula de **ATP** o trifosfato de adenosina. Es decir, hidrolizan moléculas de ATP.

Ejemplo: **aminoacil RNAsintetasa** (cataliza la unión de los aa a los RNAt).

Sintasas: catalizan reacciones de síntesis en las que no se utiliza ATP.

Sintetasas: catalizan reacciones de síntesis en las que se gasta ATP.

PROPIEDADES GENERALES DE LOS ENZIMAS

Con la excepción de un pequeño grupo de moléculas de RNA catalíticos, **todos los enzimas son proteínas**, por lo tanto, la actividad biológica de los enzimas depende de su **estructura nativa**, de modo que cualquier agente (la calefacción de los enzimas, el tratamiento con bases o ácidos fuertes, etc.) capaz de **desnaturalizar** una proteína enzimática le hará **perder su actividad catalítica**. Son de masa molecular alto, entre 12000 y 1000000.

Algunos están constituidos por una o más cadenas polipeptídicas, es decir, son **proteínas puras** mientras que otros enzimas son **proteínas conjugadas**, esto es, además de las cadenas polipeptídicas poseen estructuras no proteicas necesarias para su actividad. Estas estructuras no proteicas reciben el nombre de **cofactores**.

Un cofactor puede ser un **ión metálico** o una **molécula orgánica** compleja que recibe el nombre de **coenzima**. Los cofactores, al contrario que los enzimas son estables al calor. El complejo **enzima + cofactor** recibe el nombre de **holoenzima**. Cuando el cofactor se separa, la proteína resultante (que es inactiva) recibe el nombre de **apoenzima**.

Coenzima	+	apoenzima	=	holoenzima
		o apoproteína		
(molécula		proteína		enzima
orgánica				completo
compleja)				

Los iones metálicos más importantes que intervienen como cofactores en los enzimas son:

Zn^{2+} (*anhidrasa carbónica*)

Mg^{2+} , Mn^{2+} (*fosfotransferasas*)

Fe^{2+} , Fe^{3+} (*citocromos, ferredoxina*)

Cu^{+} , Cu^{2+} (*tirosinasa, citocromo*)

K^{+} (*piruvatofosfoquinasa*)

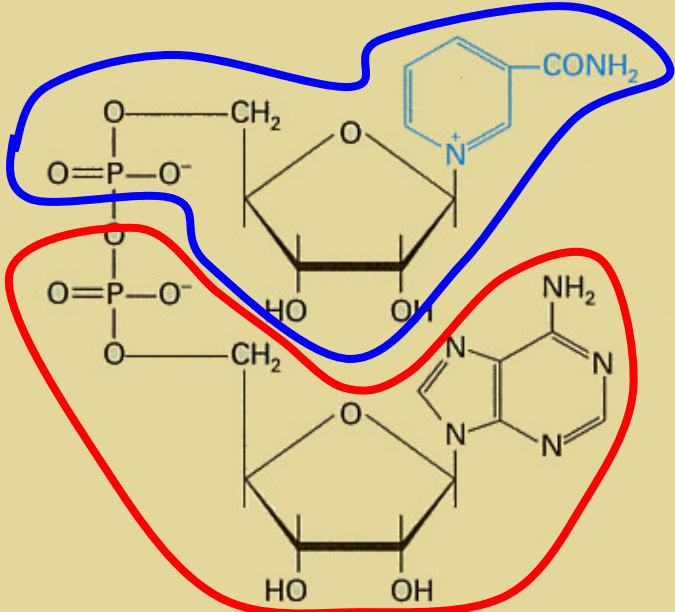
Mg^{2+} , K^{+} , Na^{+} (*ATPasa* de la **membrana plasmática**)

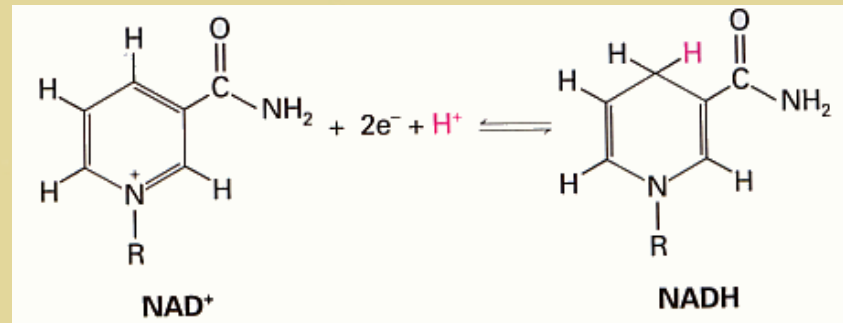
Los coenzimas actúan como transportadores transitorios de grupos funcionales específicos. **Muchas vitaminas son precursores de coenzimas.**

Los coenzimas, como se ha dicho anteriormente, transfieren o transportan electrones, átomos de hidrógeno o determinados grupos químicos. Se conocen unos 12.

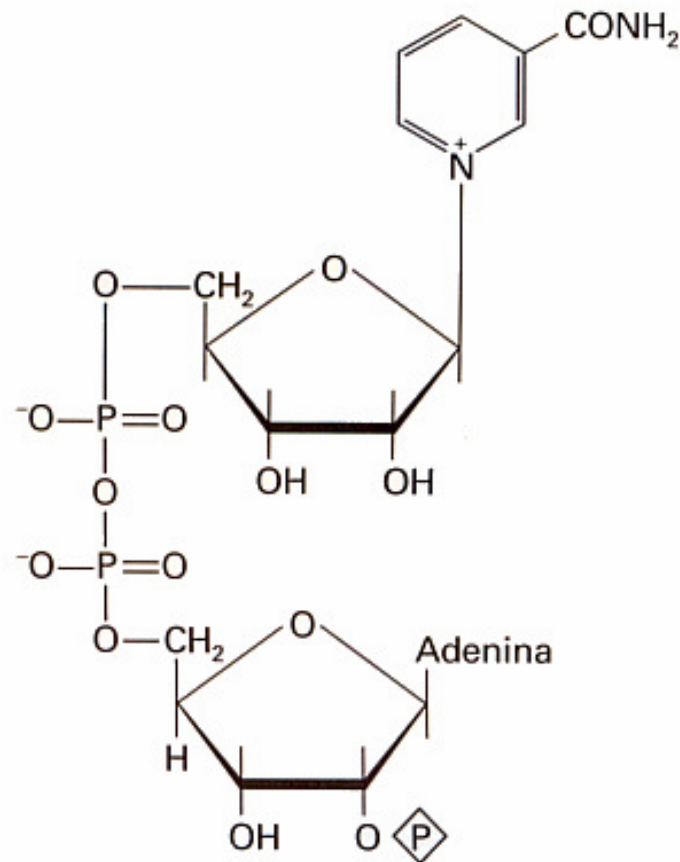
NAD⁺: es un **dinucleótido de adenina y nicotinamida** (Nicotín, Adenín, Dinucleótido).

El NAD es la forma oxidada de este coenzima. Existe una forma reducida, el **NADH + H⁺**, que se forma cuando la molécula de nicotín-amida acepta un protón. En realidad, las transferencias electrónicas son siempre de dos protones. El otro protón queda en el medio, pero como participa en las reacciones se puede escribir NADH₂ ó NADH + H⁺ (esta última forma es más correcta).

Nombre	Estructura	Función principal	Vitaminas relacionadas (porción en azul)
Dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD ⁺)		Reacciones de oxidación- reducción	Nicotinamida (niacina)



Asimismo, existe otro coenzima, el **NADP**, de fórmula similar pero con otro grupo fosfato, unido al nucleótido de adenina. También existe su forma reducida **NADPH + H⁺**.



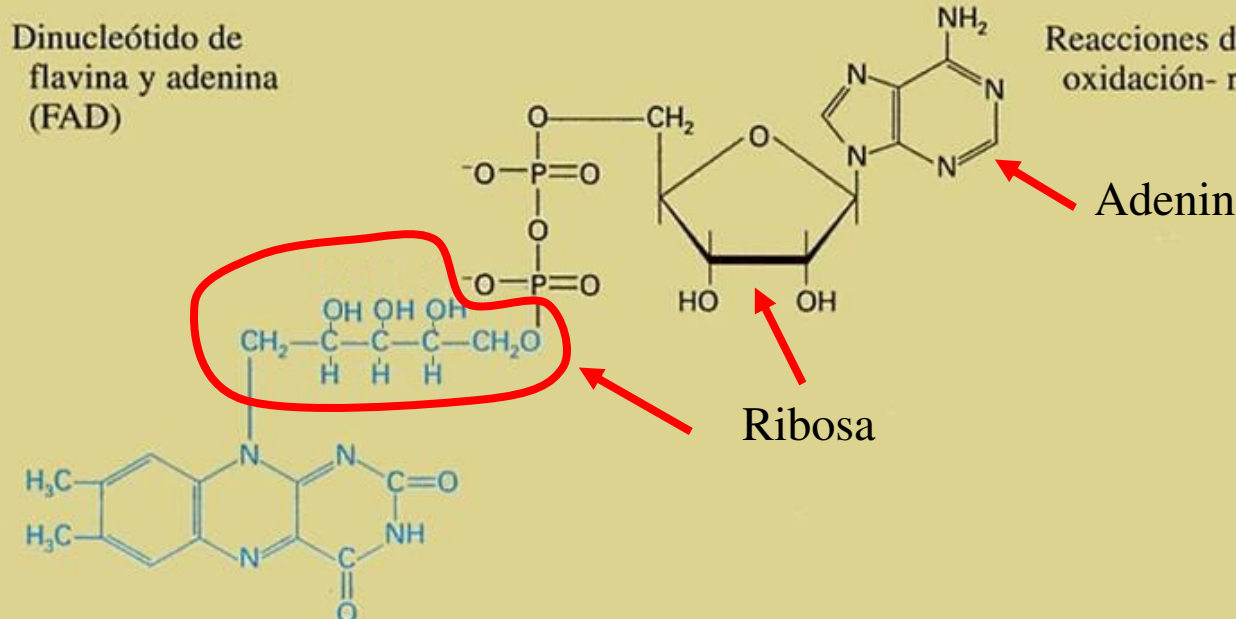
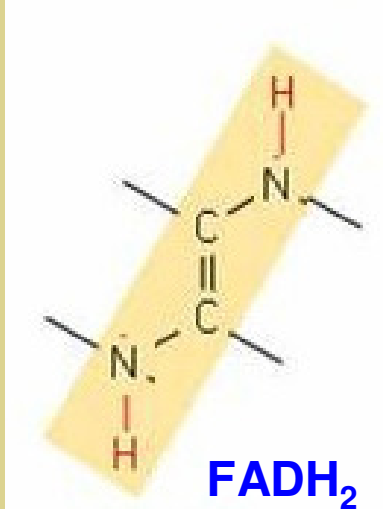
NADP⁺
Dinucleótido de
nicotinamida
y adenina
fosfato (oxidado)

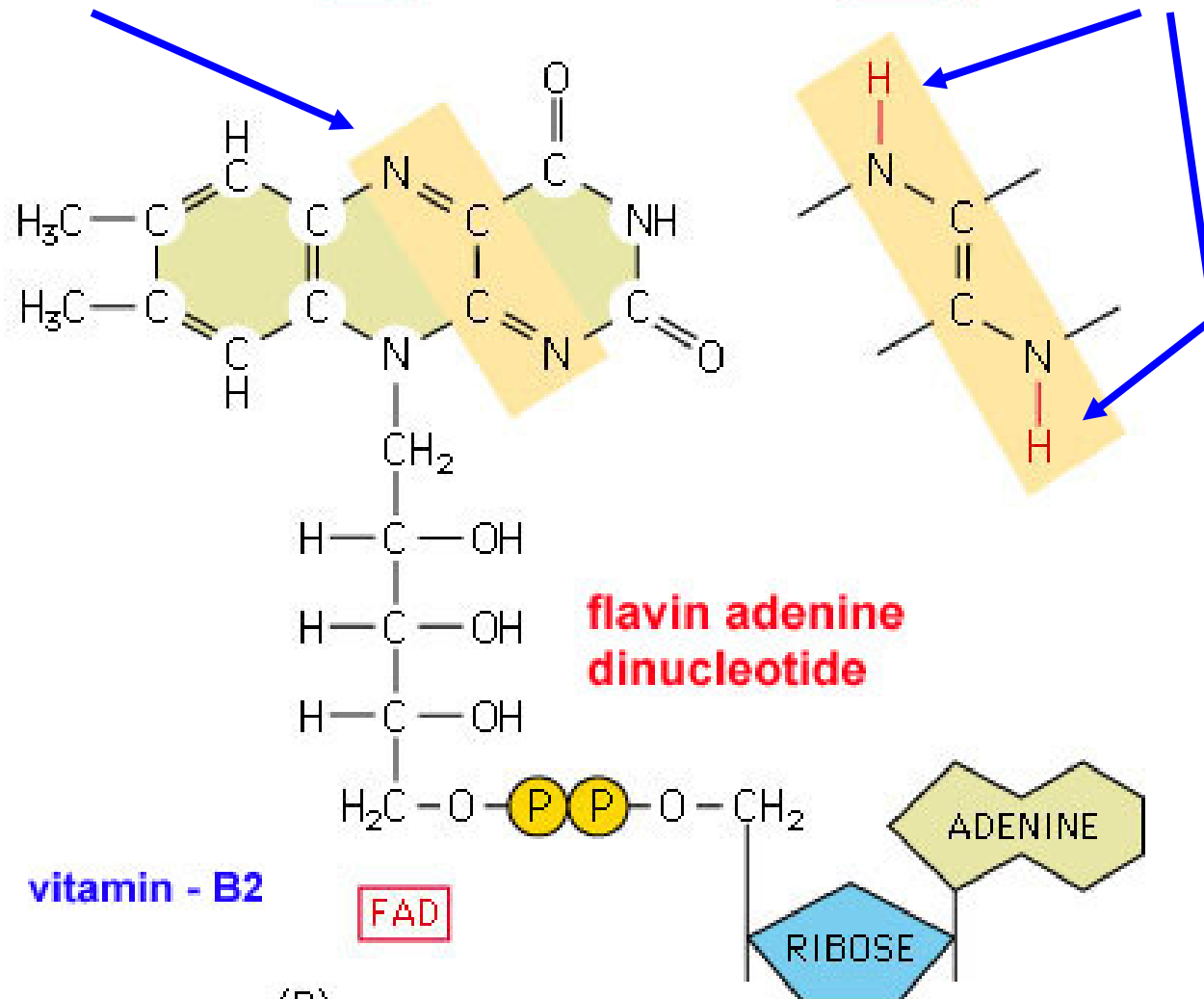
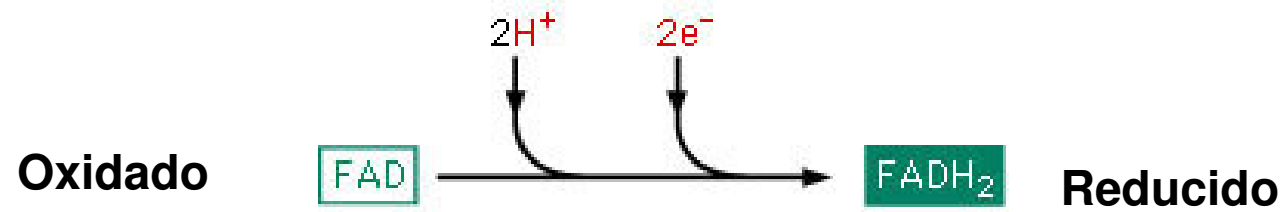
Recordad que esa P es H₂PO₃ (lo que queda del ácido fosfórico H₃PO₄ cuando se produce el enlace éster).

Ácido (H₃PO₄) + alcohol (ribosa) → éster + agua

FAD: Dinucleótido de flavina y adenina. (Flavin, Adenin, Dinucleótido).

También puede existir en forma oxidada (**FAD**) o reducida (**FADH₂**). Existe también el **FMN** o mononucleótido de flavina, sería similar, pero sin el nucleótido de adenina.

Nombre	Estructura	Función principal	Vitaminas relacionadas (porción en azul)
Dinucleótido de flavina y adenina (FAD)		Reacciones de oxidación- reducción	Riboflavina (vitamina B ₁₂) 

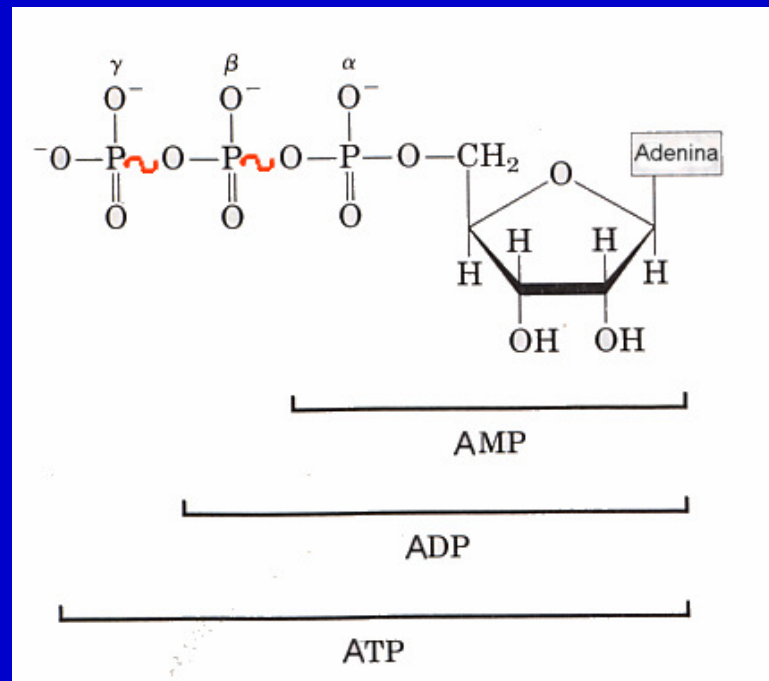


(B)

ATP: Trifosfato de adenosina (Adenosín Trifosfato).

El ATP funciona como un **transportador de grupos fosfato**, y también **de energía**, debido a que los 2 grupos fosfatos terminales están unidos al resto de la molécula por unos enlaces ricos en energía.

Generalmente, el ATP se forma por adición de un grupo fosfato al **ADP (difosfato de adenosina)**. Este enlace se forma gracias a la energía proveniente del metabolismo. De esta manera se conserva la energía, almacenada para otras funciones celulares: **biosíntesis**, **movilidad**, **crecimiento**. También existe el **AMP**, Monofosfato de adenosina (Adenosín Monofosfato).



Otros coenzimas de fórmulas más complejas son: **CoQ** y **CoA**.

Abreviaturas de los ribonucleósidos 5'-fosfato				Nombre del nucleósido
Base	Mono-	Di-	Tri-	
Adenina	AMP	ADP	ATP	Adenosina
Guanina	GMP	GDP	GTP	Guanosina
Citosina	CMP	CDP	CTP	Citidina
Uracilo	UMP	UDP	UTP	Uridina
Abreviaturas de los desoxirribonucleósidos 5'-fosfato				Timidina
Base	Mono-	Di-	Tri-	
Adenina	dAMP	dADP	dATP	
Guanina	dGMP	dGDP	dGTP	
Citosina	dCMP	dCDP	dCTP	
Timina	dTMP	dTDP	dTTP	

CATÁLISIS

Un e. proporciona un ambiente dentro del cual una reacción determinada es energeticamente favorable. La reacción enzimática tiene lugar en una zona del enzima denominada **sitio o centro activo**, a la que se une el sustrato.

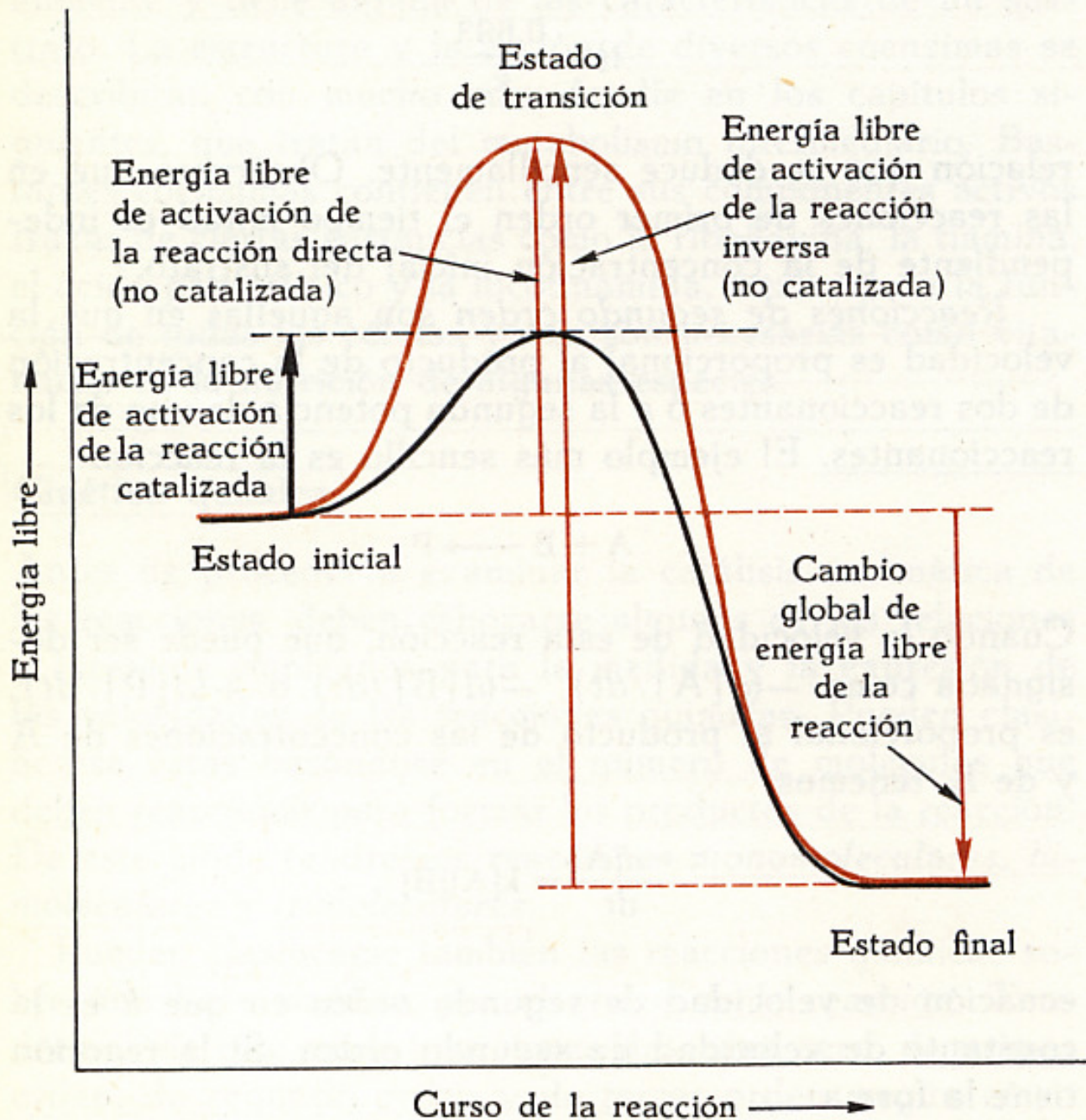
Aunque sabemos que los catalizadores no se modifican en el transcurso de la reacción, el **enzima y el sustrato tienen que interaccionar** de una manera específica para que se produzca la reacción.



Para que esta reacción se inicie se necesita que un cierto número de moléculas de sustrato haya alcanzado **un estado activado** que permita la formación de enlaces y su transformación en producto. Este estado activado se cuantifica mediante la llamada **energía de activación**, que se **define como la cantidad de energía, expresada en calorías, necesaria para que todas las moléculas de un mol alcancen el estado reactivo**.

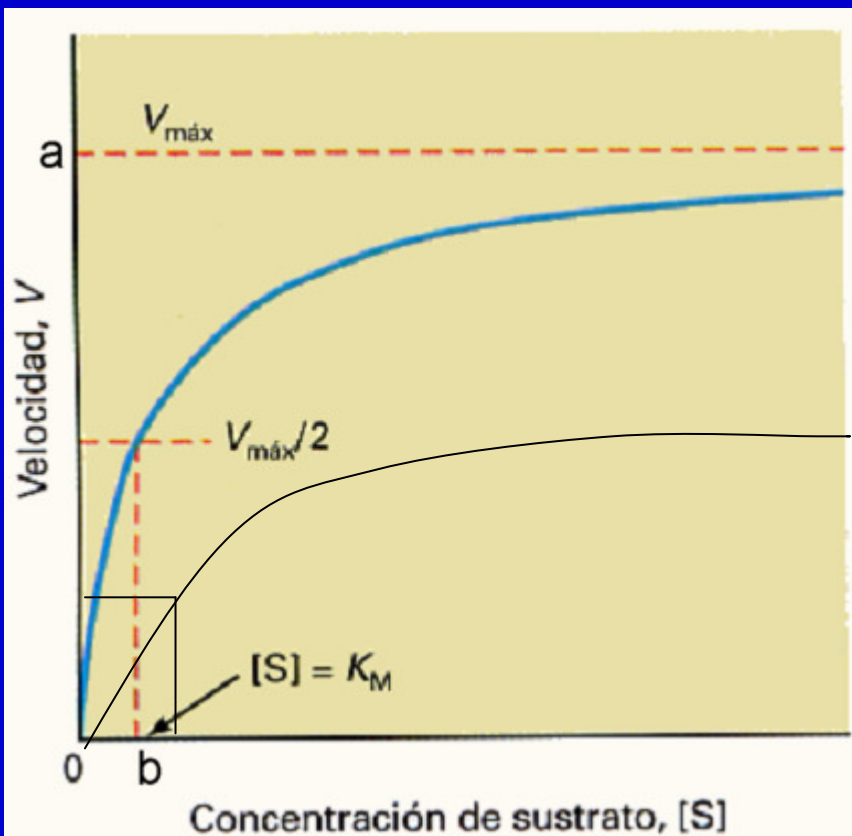
Este estado reactivo rico en energía se llama **estado de transición**. Los catalizadores biológicos (los enzimas) aumentan la velocidad de reacción porque disminuyen la energía de activación. El complejo sustrato-enzima produce un estado de transición cuya energía es menor que la del estado de transición de la reacción no catalizada.

En la mayoría de los casos, el **complejo enzima-sustrato es muy débil y solo tiene una existencia transitoria**. El complejo se forma rápidamente y se rompe algo más lentamente, liberando el enzima íntegro y el producto.



FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCION

a) Concentración del sustrato. A concentraciones bajas de sustrato, la velocidad es directamente proporcional a la concentración de sustrato. A concentraciones altas, la velocidad es constante.



La gráfica que se obtiene es una **hipérbola** cuya ecuación es: $y = ax / x+b$

Siendo:

"a" el valor máximo alcanzado por la "y"
"b" el valor de la concentración de sustrato "x" cuando "y" es la mitad de la velocidad máxima.

Por lo tanto $x = [S]$, $a = V_{\text{máx}}$, $b = K_M$

$$v = \frac{V_{\text{máx}} [S]}{K_M + [S]}$$

$$v = \frac{V_{\text{máx}} [S]}{K_M + [S]}$$

Esta es la **ecuación de Michaelis - Menten** que nos da la **velocidad** de una reacción enzimática en **función de la concentración de sustrato**. En esta ecuación $V_{\text{máx}}$ es la velocidad máxima que se puede alcanzar y K_M es una constante (**constante de Michaelis**), es la **concentración de sustrato para la cual la velocidad de reacción es la mitad de la velocidad máxima**.

La constante de Michaelis (K_M) es **una medida inversa** de la afinidad de un enzima por una sustrato. **Cuanto menor es la K_M , mayor es la afinidad del enzima por el sustrato**. En las reacciones en las que intervienen más de un sustrato, cada sustrato tiene su propia K_M característica.

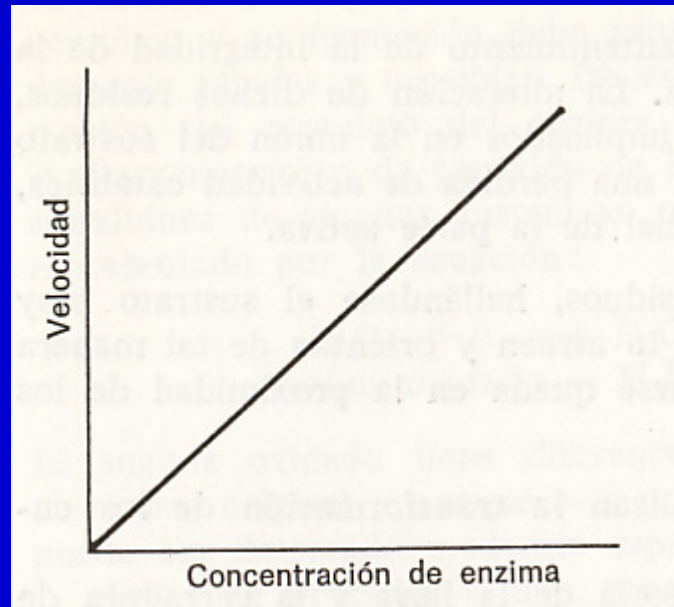


Leonor Michaelis
1875-1949



Maud Menten
1879-1960

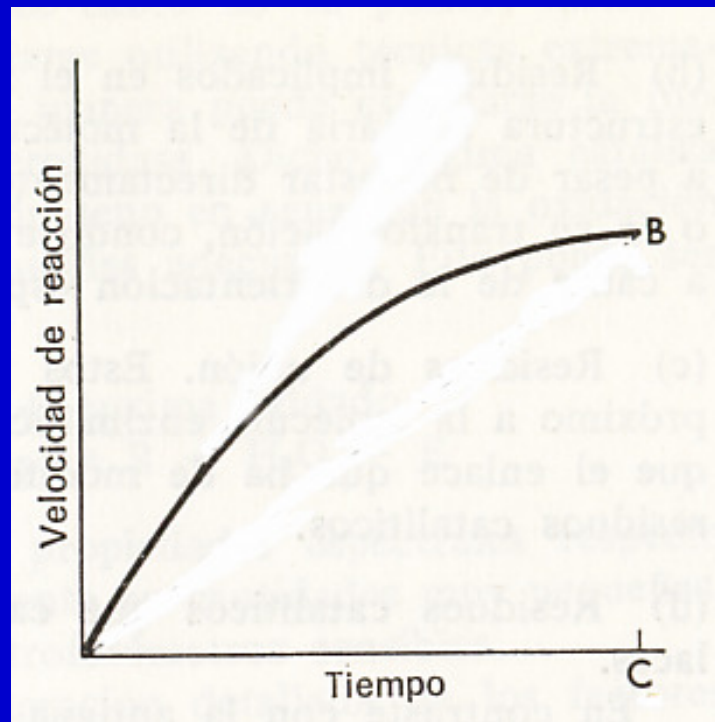
b) Concentración del enzima. La velocidad aumenta proporcionalmente a la concentración del enzima, siempre que el pH y la temperatura sean constantes y el sustrato esté en exceso.



c) Tiempo: Al **principio** de la reacción la cantidad de sustrato que se ha ido transformando es **directamente proporcional** al tiempo transcurrido, pero luego el aumento de la velocidad de reacción es menor y la curva tiende a ser paralela al eje de abscisas.

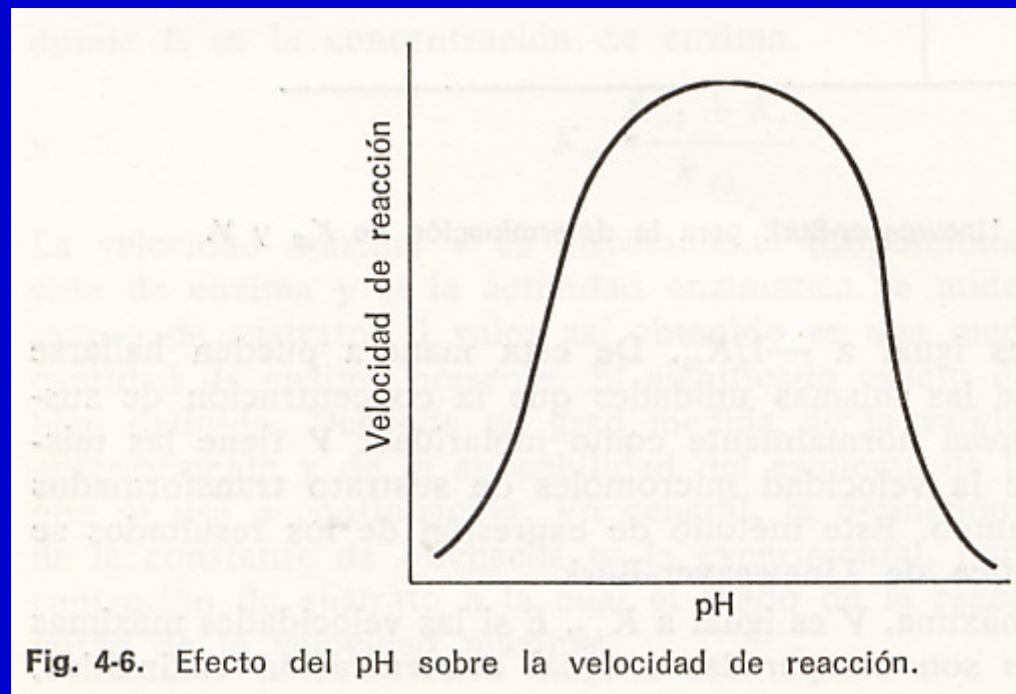
Como el sustrato consideramos que está siempre en exceso, parece que este descenso se debe a una **pérdida en la capacidad enzimática**, bien porque el enzima se **desnaturalice** al generarse calor o porque aparezcan **inhibidores**, sustancias que inhiban al enzima.

El periodo de relación lineal entre el tiempo y la velocidad puede ser menor de un minuto para algunos enzimas o de días para otros.



d) pH: influye directamente sobre la actividad del enzima, porque cada enzima tiene un pH al que es más activo. Este pH recibe el nombre de **pH óptimo**. Por encima y por debajo de ese valor, los enzimas pierden actividad y por lo tanto disminuye la velocidad de reacción.

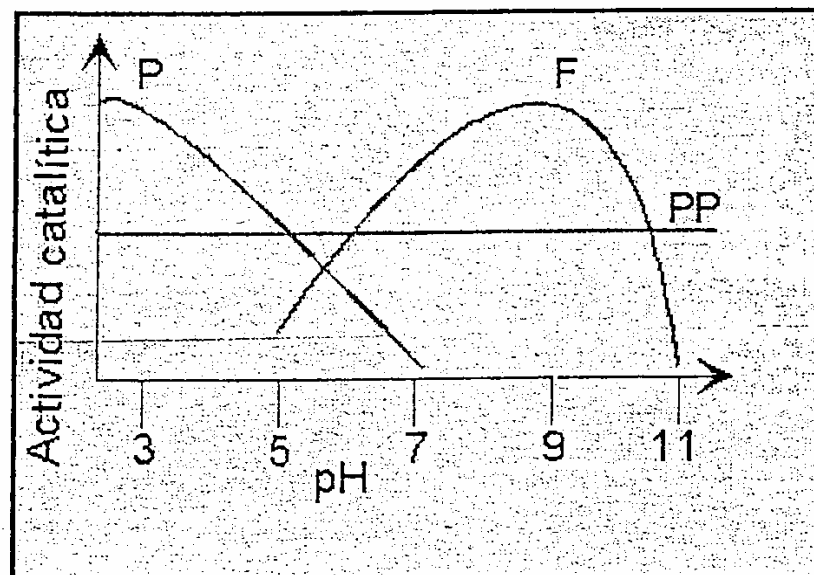
Para la mayoría de los enzimas este pH es **neutro** o **ligeramente ácido** (5 ó 6), pero algunos de ellos actúan con un pH extremo. Por ejemplo: la **pepsina** que es un enzima proteolítico que segrega las células principales de las glándulas tubulares del estómago, necesita un pH de 2 ó 3 para actuar. Este pH extremo lo proporciona el **HCl** que es segregado por las **células parietales de las glándulas tubulares** del **estómago**. Si se segrega en exceso se produce acidez de estómago.



A la vista de la gráfica, conteste a las siguientes cuestiones.

Septiembre 2005, Opción A, bloque 1

Cuestiones.



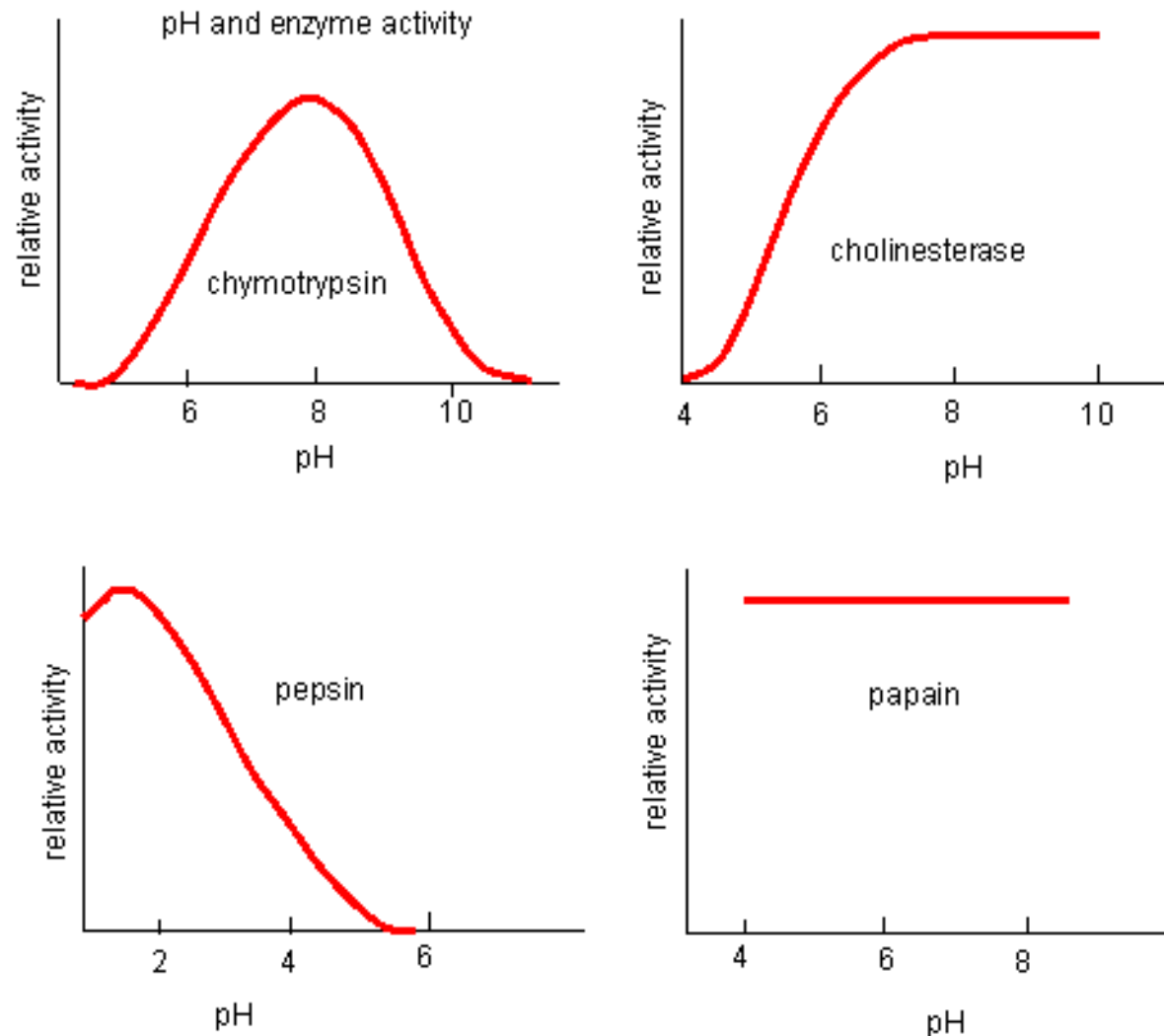
P: pepsina; F: fosfatasa alcalina; PP: papaina

a. Explique qué representa esta gráfica e indique los valores de pH para los cuales dos enzimas tienen la misma velocidad de reacción. Para valores de máxima acidez, ¿cuál es el enzima con mayor actividad catalítica?. (1,25 puntos)

b. Si el pH de la sangre fuera 7,5, indique que enzimas de las indicadas en la figura podrían presentar actividad catalítica en el plasma sanguíneo. Explique el comportamiento de cada enzima en función del pH. (1,25 puntos)

c. ¿Por qué las proteínas adoptan espontáneamente la configuración más estable?. Qué enlaces intervienen en la estabilización de los distintos niveles de complejidad de las proteínas. (1,25 puntos)

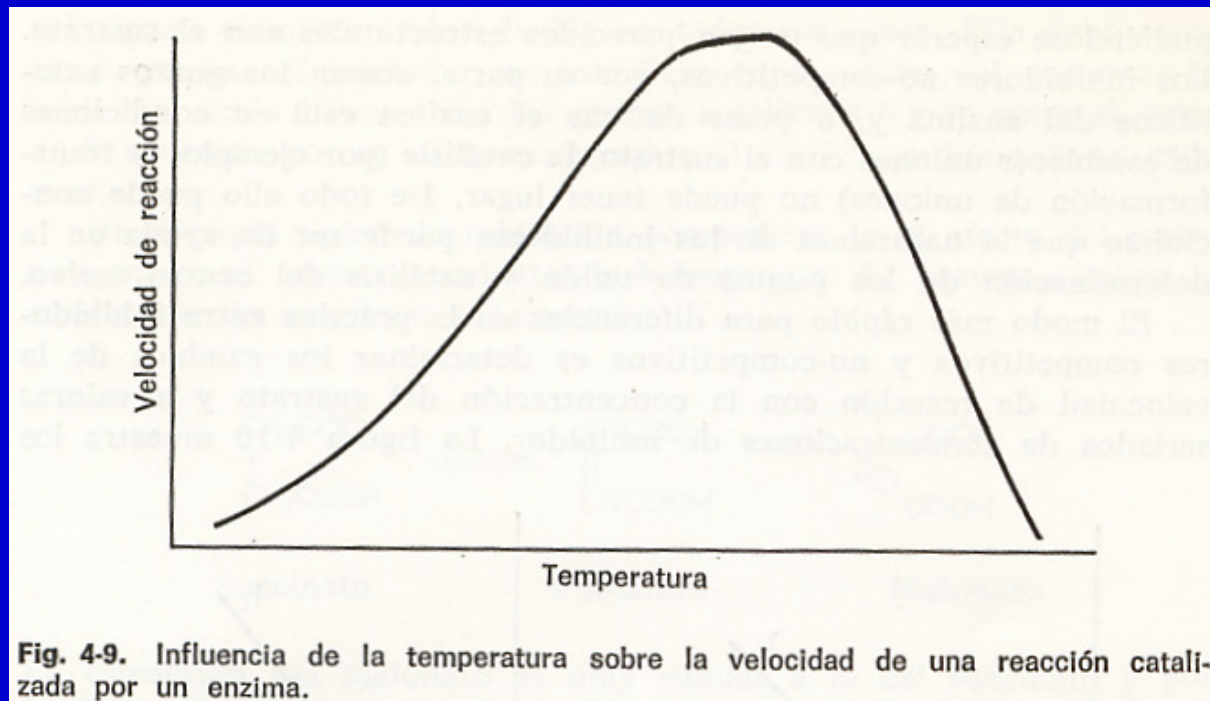
d. ¿En qué consiste la desnaturalización proteica? ¿A qué enlaces no afecta este proceso? ¿Cuáles son sus consecuencias biológicas?. (1,25 puntos)



La fosfatasa alcalina leucocitaria (AP) cataliza la hidrólisis de ésteres fosfóricos en medio alcalino, es una enzima que se encuentra en casi todos los tejidos del cuerpo, pero es mayor su presencia en el hígado, las vías biliares y los huesos. Una de las mayores fuentes de fosfatasa alcalina es el hueso, por ello en los niños y adolescentes con crecimiento óseo esta enzima está normalmente elevada.

e) Temperatura. Como ya se ha explicado, en las reacciones catalizadas enzimáticamente hay **una pérdida de energía libre**, independientemente de que el resultado de la reacción sea desprender calor (reacción exotérmica) o absorber calor (reacción endotérmica). Por ello es necesario que el sustrato alcance la energía necesaria para poder reaccionar. Por lo tanto, **inicialmente**, al aumentar la temperatura, **aumenta la velocidad**, puesto que más moléculas alcanzan la energía de activación necesaria para que se pueda dar la reacción.

Sin embargo, si la temperatura es demasiado alta, se **desnaturaliza el enzima**, pierde su estructura y su actividad catalítica. A partir de **40 °C** la mayoría de los enzimas comienzan a perder su estructura terciaria.



ESPECIFICIDAD DE SUSTRATO DEL ENZIMA

Algunos enzimas poseen una **especificidad casi absoluta** para un sustrato y no atacan ni siquiera con moléculas químicamente muy parecidas. Por ejemplo: la **aspartasa** cataliza la adición de NH_3 al doble enlace del ácido fumárico, pero no a otros ácidos no saturados.

Otros enzimas poseen una **especificidad relativamente amplia** y actúan sobre muchos sustratos, pero que tienen un rasgo estructural común. Por ejemplo: la **fosfatasa**, que es un enzima del riñón, cataliza la hidrólisis de muchos ésteres del ácido fosfórico, aunque con distintas velocidades.

Del estudio de esta especificidad de los sustratos, se dedujo la idea de que existe una complementariedad entre el sustrato y el enzima. Se dice que son como una **llave y su cerradura**, y surge el concepto de **centro activo o centro catalítico**, que es una zona del enzima a la que se une el sustrato. Esta zona está formada por aminoácidos en los que reside la especificidad del enzima. Algunos de estos **aminoácidos fijan el sustrato**, mientras que otros realizan la acción **catalítica** y hacen que el sustrato pase a producto. Según KOSHLAND (1963), un enzima constaría de 4 tipos de aminoácidos:

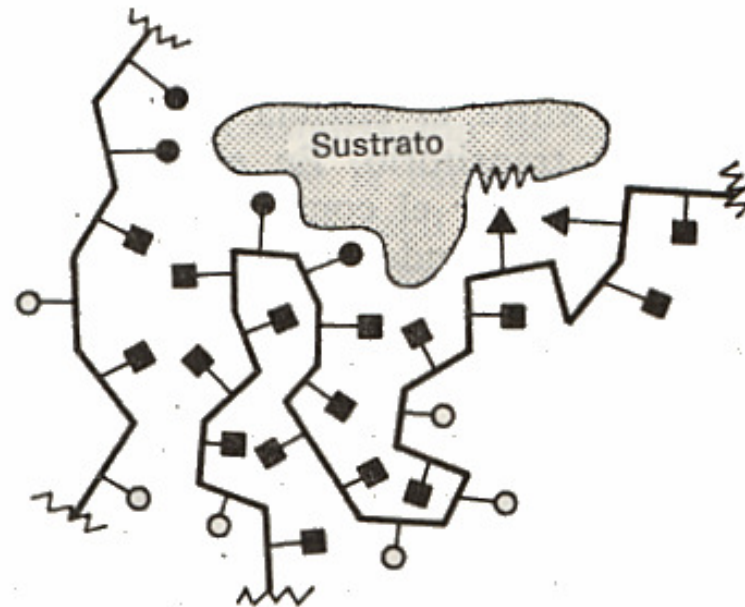
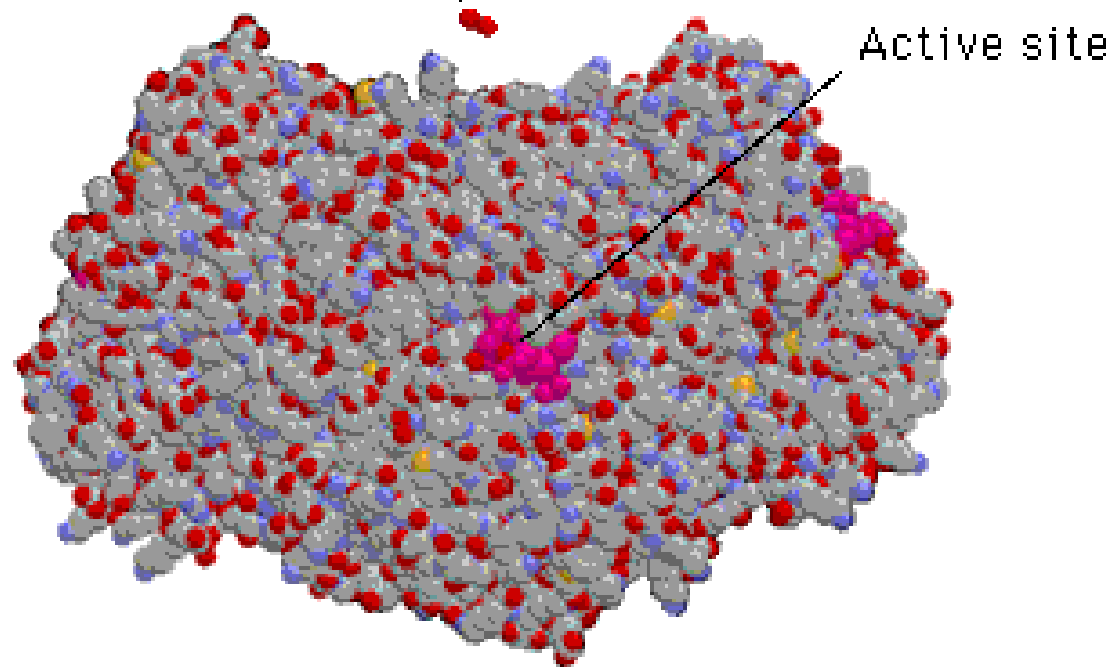


Fig. 4-1. Representación esquemática del centro activo. (Círculos negros) puntos de unión; (triángulos) puntos catalíticos que actúan sobre la unión sustrato indicada por una línea dentada; (círculos blancos) residuos no esenciales en la superficie; (cuadrados) residuos que ayudan al mantenimiento de la estructura terciaria. (Reproducido con autorización de Koshland, 1963. *Science*, 143, 1534).

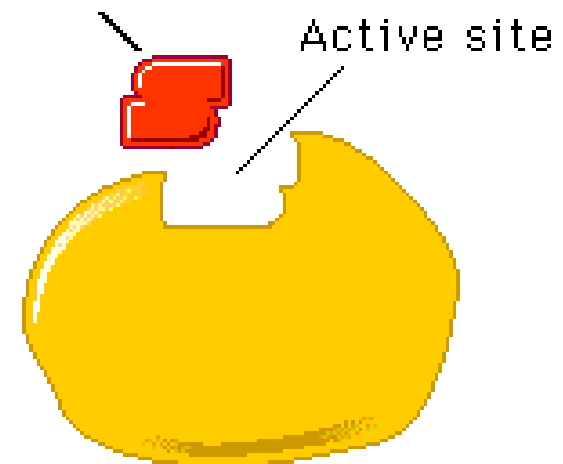
- a) **Aminoácidos no esenciales:** no contribuyen al proceso de la catálisis. En algunas circunstancias se podrían eliminar del enzima sin que éste perdiera su actividad catalítica. Se encuentran en la superficie del enzima y lejos del centro activo. ♀
- b) **Aminoácidos** implicados en el mantenimiento de la **estructura terciaria** de la proteína enzimática. Estos aminoácidos no pueden eliminarse porque se desorganizaría el centro activo. ⬛
- c) **Aminoácidos de unión.** Fijan un sustrato y lo orientan. Están situados en el centro activo. ♀
- d) **Aminoácidos catalíticos.** Realizan la reacción, es decir, transforman el sustrato en producto. ⬆

Substrate = H_2O_2



Molecular model
of catalase

Substrate



Schematic model
of an enzyme

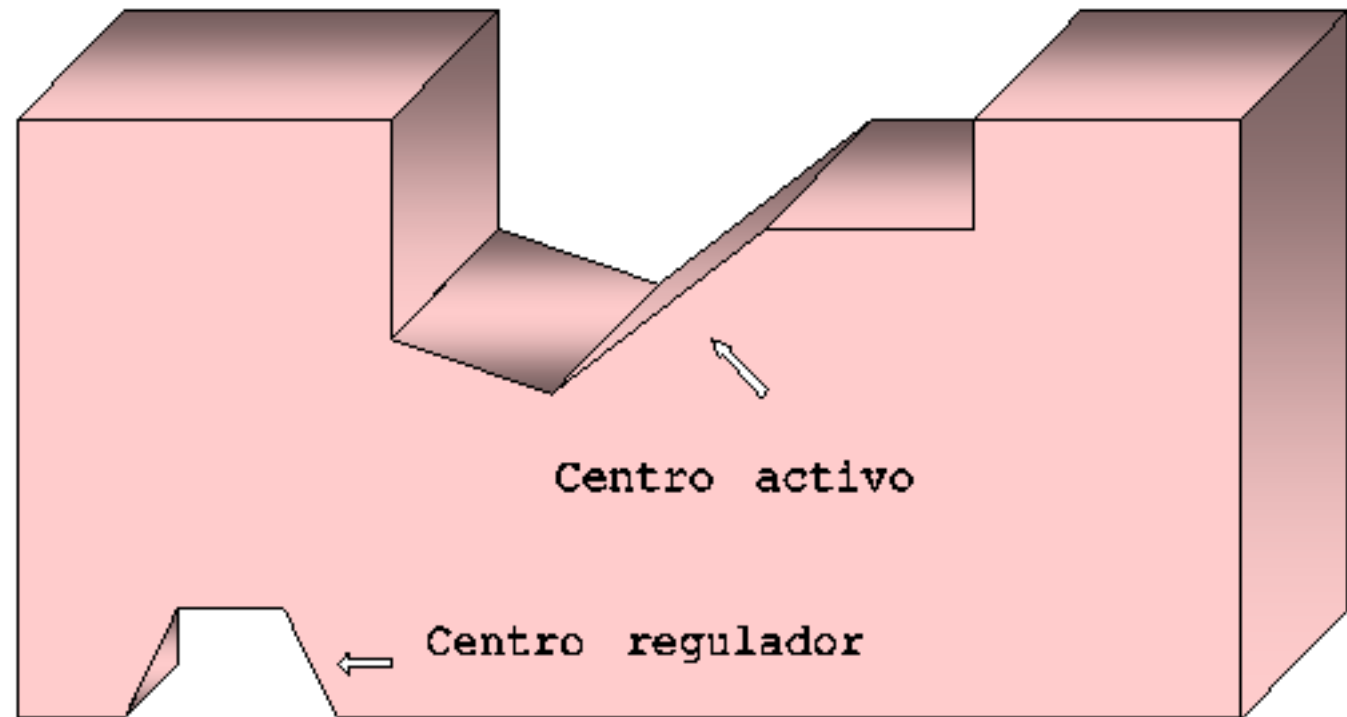
Esquema de la estructura de una enzima.

Centro activo:

zona de la molécula a la que se une el sustrato y donde se realiza la catálisis enzimática.

Centro regulador:

zona en la que se unen las sustancias que regulan la actividad de la enzima.



[La citrato sintetasa, una de las enzimas del ciclo de Krebs](#)

CARACTERISTICAS COMUNES DE LOS SITIOS ACTIVOS DE LAS ENZIMAS

El sitio activo de una enzima al ser la región que se une al sustrato, contiene los residuos que participan directamente en la producción y ruptura de enlaces. **Grupos catalíticos.**

1. Es de **tamaño** pequeño, constituido por una región de pocos aminoácidos.
2. Es una entidad **tridimensional**: algunos aminoácidos interactúan mas frecuentemente que otros con el sustrato debido a la carga o característica de sus grupos funcionales libres de la cadena polipeptídica.
3. La unión E+S se da por numerosos **fuerzas débiles**.
4. Los sitios activos son **hoyos o hendiduras**: formación de un complejo muy compacto.
5. **Especificidad**: un sustrato debe de tener una forma muy adecuada para introducirse en el centro. Proceso de reconocimiento dinamico.

INHIBICION ENZIMÁTICA

Se llaman **inhibidores** a distintas sustancias que se **pueden unir con el enzima**, de modo parecido al sustrato (generalmente porque presentan grupos parecidos) e **impiden la catálisis**. Muchos inhibidores enzimáticos se encuentran entre los **agentes farmacéuticos** más importantes. Por ej. la **aspirina** (ác. acetil salicílico) inhibe al enzima que cataliza el primer paso de la **síntesis de prostaglandinas**, que intervienen en muchos procesos, algunos de los cuales causan dolor.

La inhibición de los enzimas la clasificamos de una forma muy amplia en dos grandes grupos:

Inhibición reversible.

Inhibición irreversible.

1. Inhibidor **reversible**: establece un equilibrio con el enzima libre, con el complejo enzima-substrato o con ambos:



2. Inhibidor **irreversible**: modifica químicamente al enzima:



Inhibición reversible.

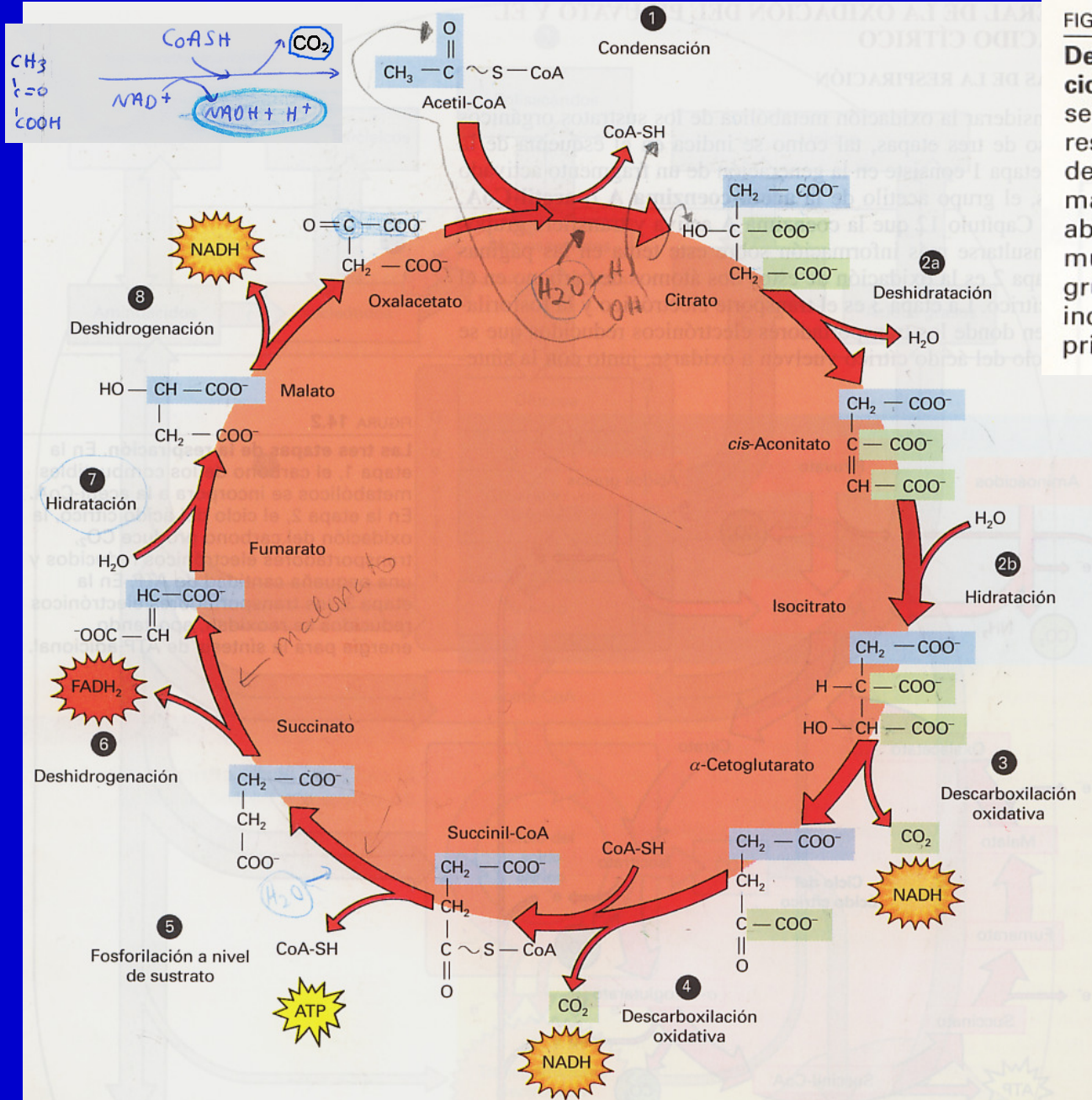
El inhibidor se une con el enzima, pero cuando se libera, el enzima vuelve a ser activo. Esta inhibición, a su vez, la podemos clasificar en tres tipos:

- Inhibición reversible competitiva:

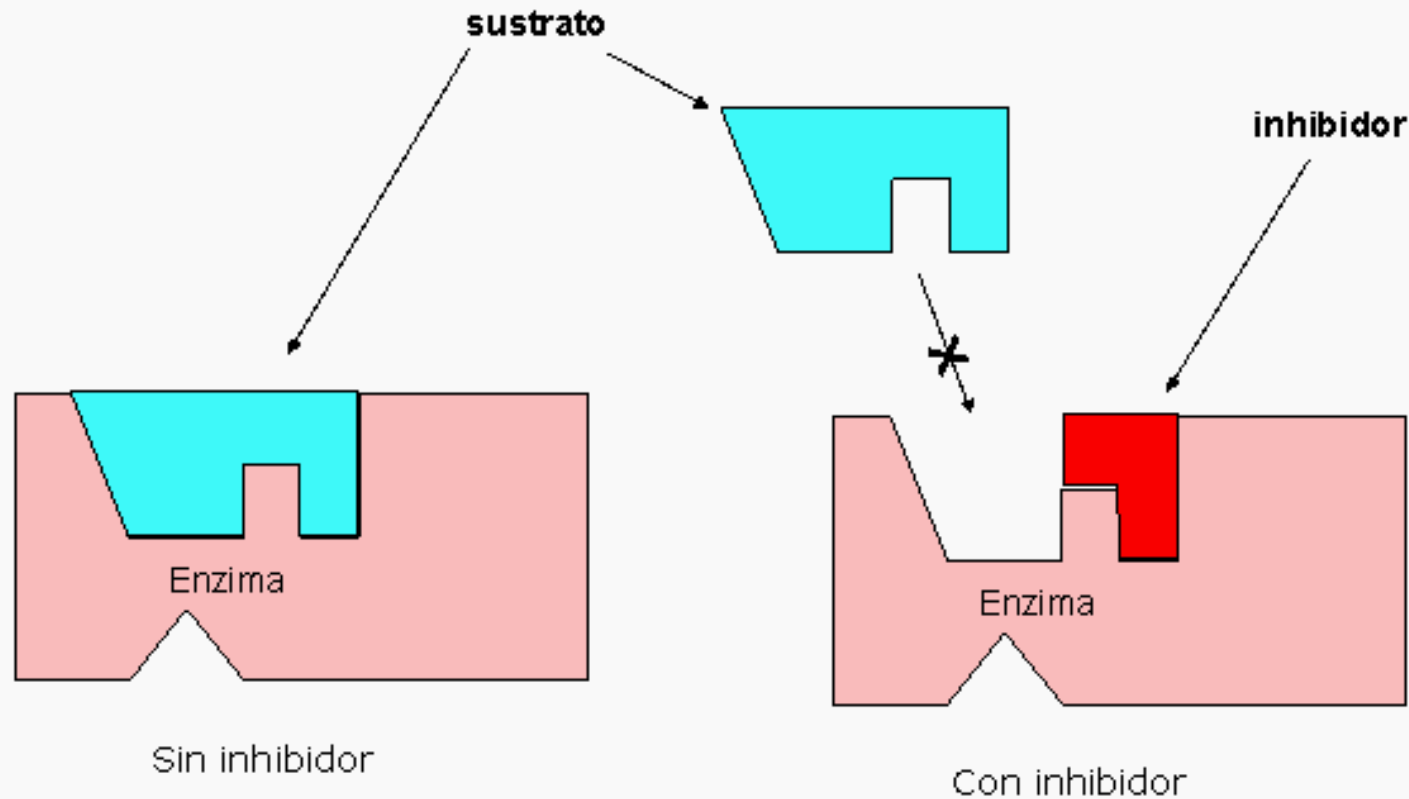
En este tipo de inhibición cuando se aumenta la concentración de sustrato, la inhibición se detiene, es decir, depende de la concentración relativa de inhibidor y sustrato. El **inhibidor compite con el sustrato por el sitio activo del enzima.**

Por ejemplo, la **succinato DH** que cataliza la oxidación de **succinato** a **fumarato** es inhibida por otro ácido (el **malonato**), que también tiene 2 grupos carboxilo, pero que no pierde sus hidrógenos. Si aumenta la concentración de succinato, disminuye el grado de inhibición.

Este tipo de inhibición reversible competitiva se utiliza para tratar pacientes que han ingerido **metanol** (**CH₃OH**, alcohol de madera, muy tóxico que puede causar ceguera y muerte. Su efecto tóxico es debido a que se transforma en **formaldehido** (**HCHO**) por acción de la **alcohol deshidrogenasa**. El formaldehido lesiona muchos tejidos, especialmente los ojos, que son muy sensibles a él, de ahí que la ceguera sea un resultado muy frecuente de la ingestión de metanol. Si se utiliza **etanol**, **CH₃-CH₂OH**, como sustrato de la **alcohol deshidrogenasa**, no se forma formaldehido y el metanol se excreta de forma inocua por la orina.



Inhibición competitiva

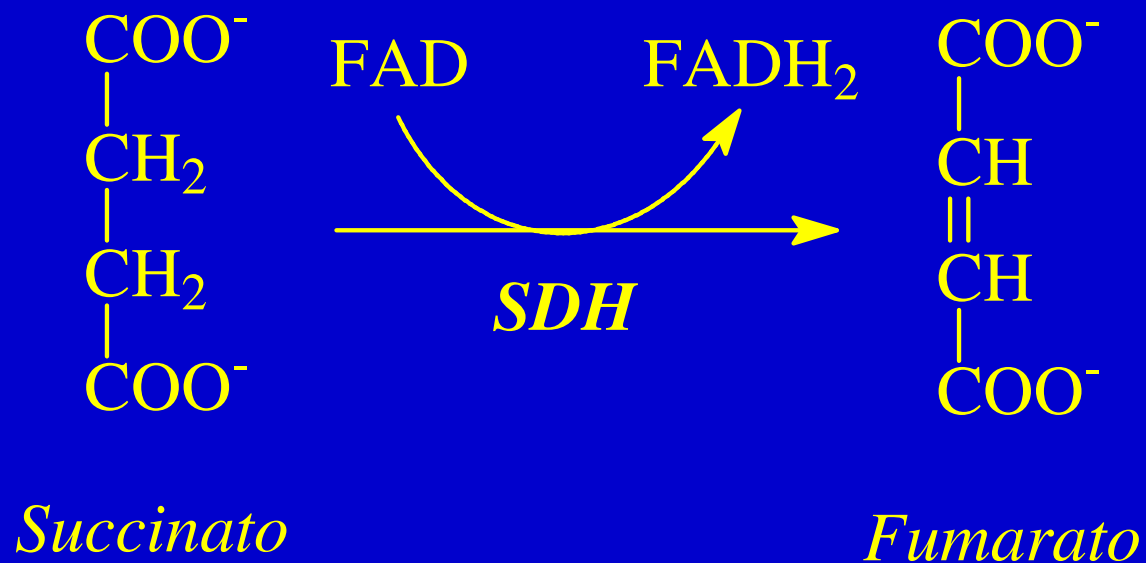


Los inhibidores **competitivos** son sustancias, muchas veces similares químicamente a los sustratos, que se unen al centro activo impidiendo con ello que se una el sustrato. El proceso es reversible y depende de la cantidad de sustrato y de inhibidor, pues ambos compiten por la enzima.

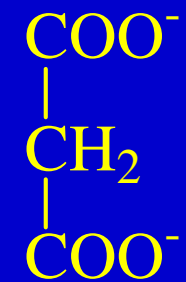


Las fijaciones de substrato e inhibidor son **mutuamente exclusivas**; el complejo **EI** no es productivo

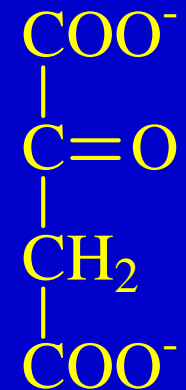
Succinato deshidrogenasa



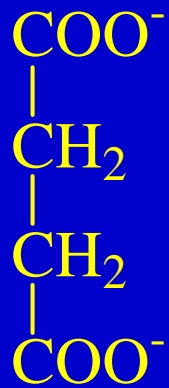
Inhibidores
competitivos



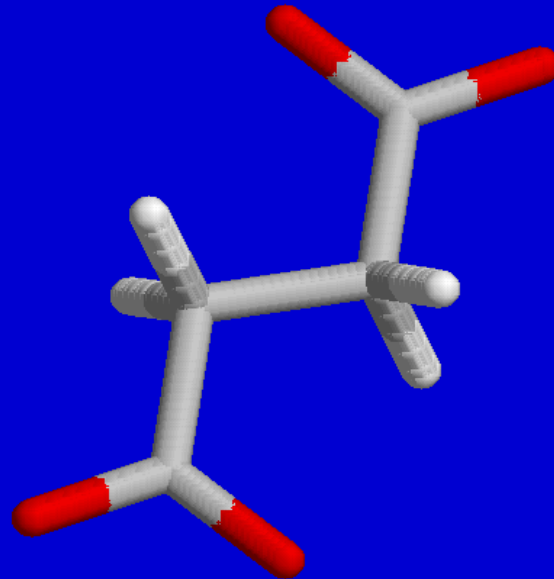
Malonato



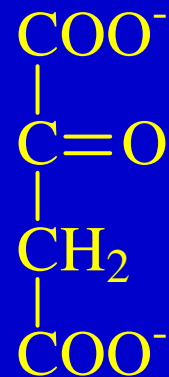
Oxalacetato



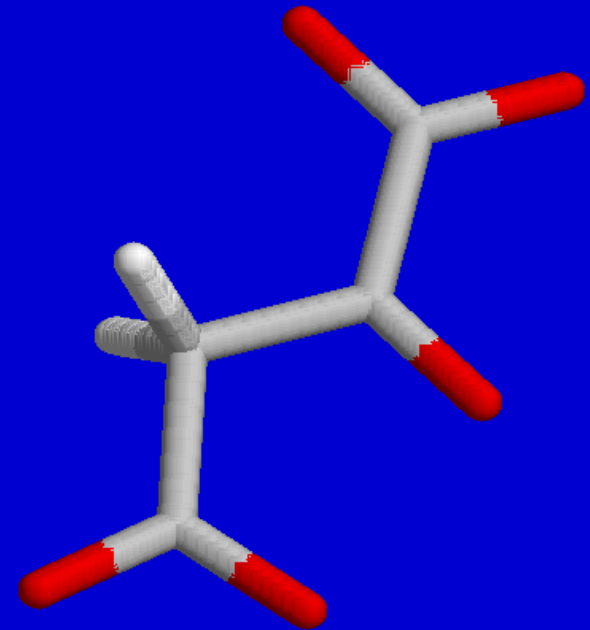
Succinato



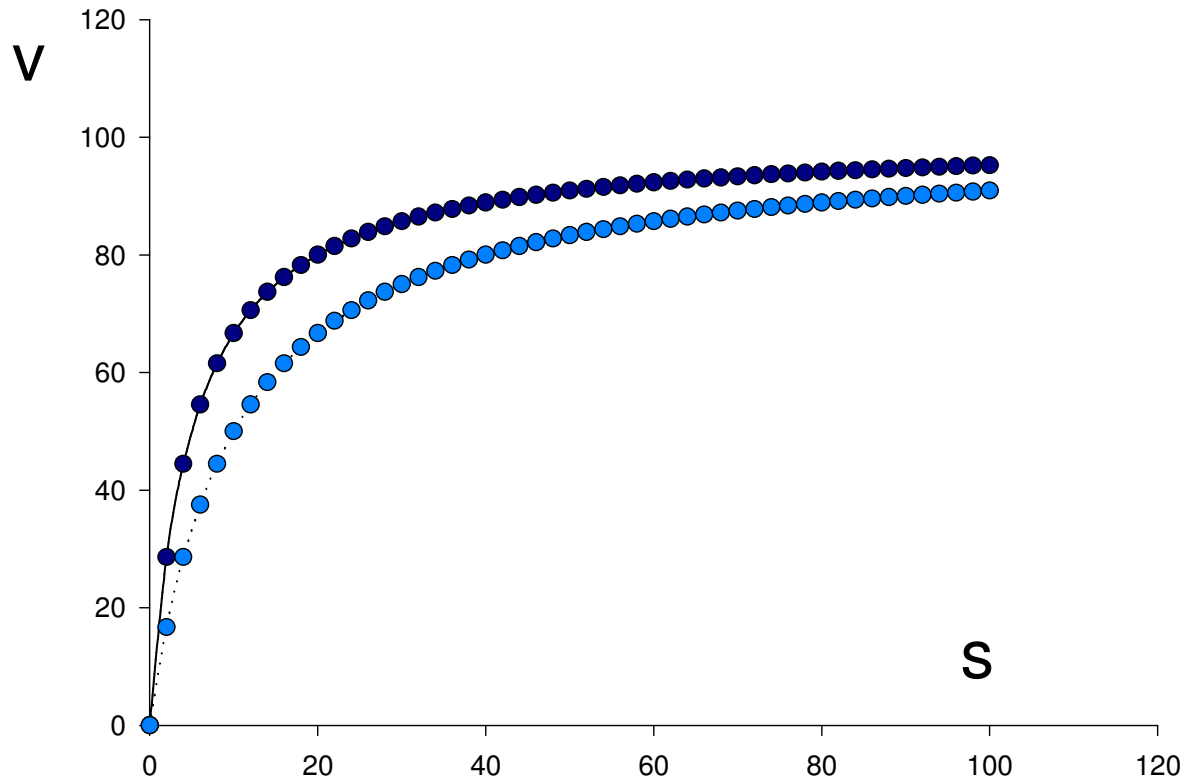
Los Inhibidores competitivos
son álogos estructurales
del sustrato



Oxalacetato

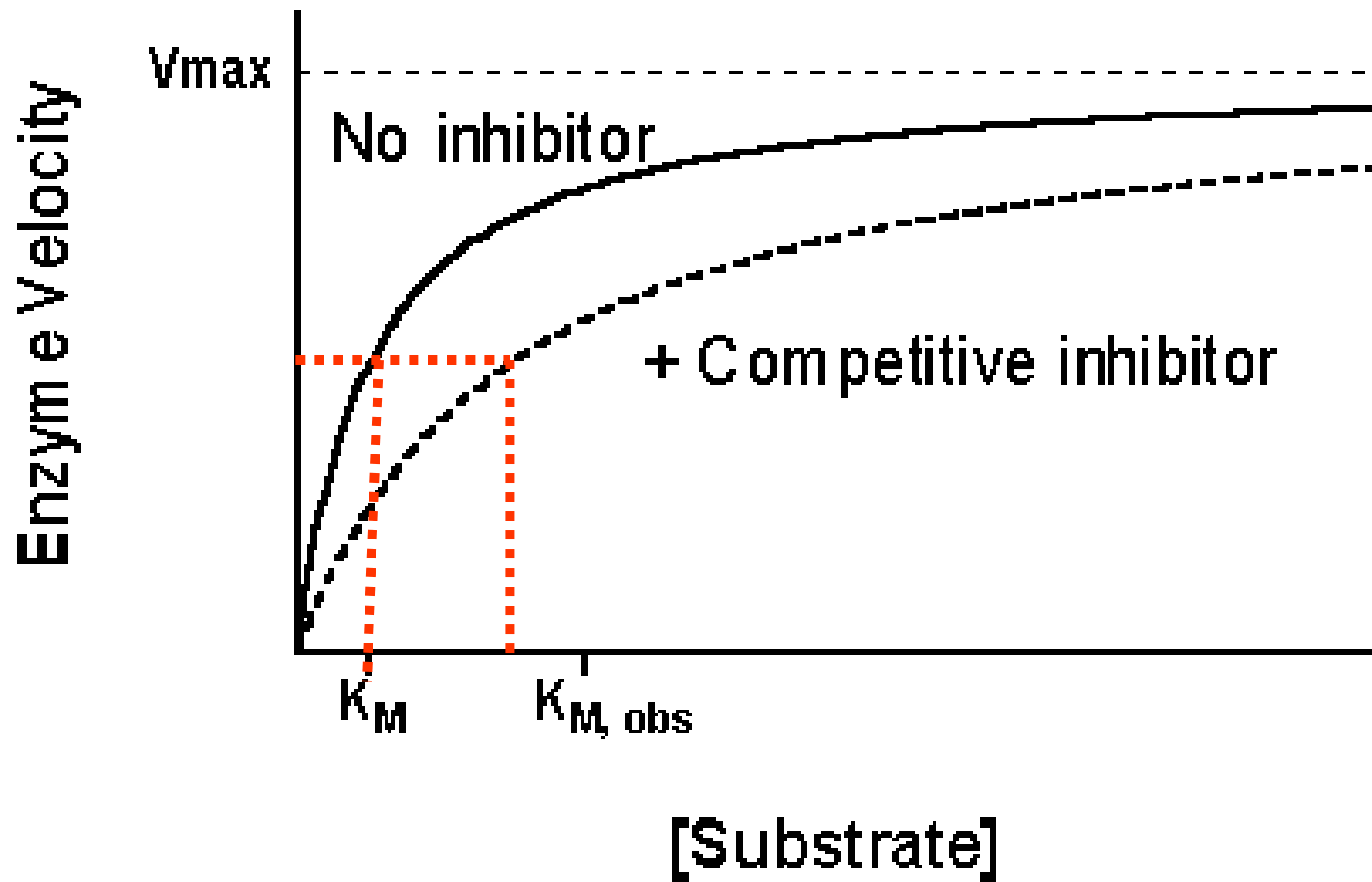


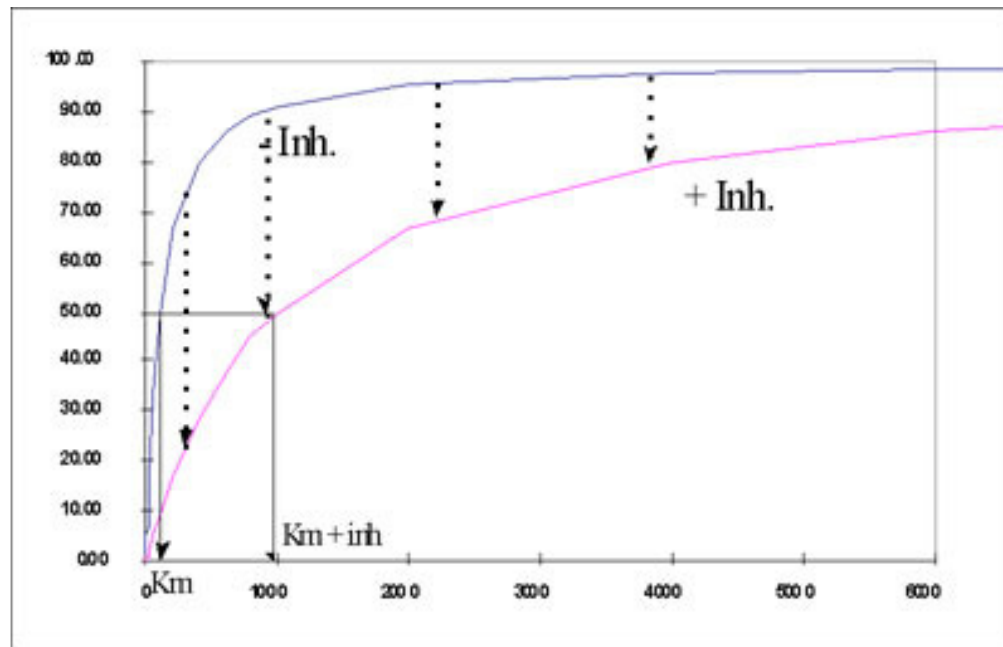
Representación directa
Inhibición competitiva



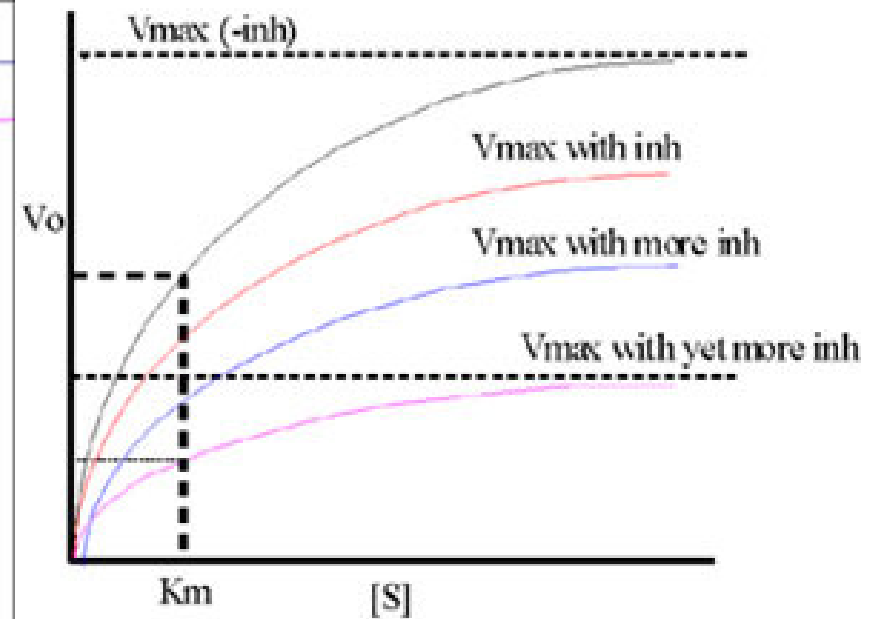
En la Inhibición competitiva:

- El efecto cinético del inhibidor es el **aumento aparente de la K_m** .
- La **V_{max} no aparece modificada**; para concentraciones muy altas del substrato, $v = V_{max}$, igual que en ausencia de inhibidor





Competitive inhibition



Non-competitive inhibition

- Inhibición reversible no competitiva:

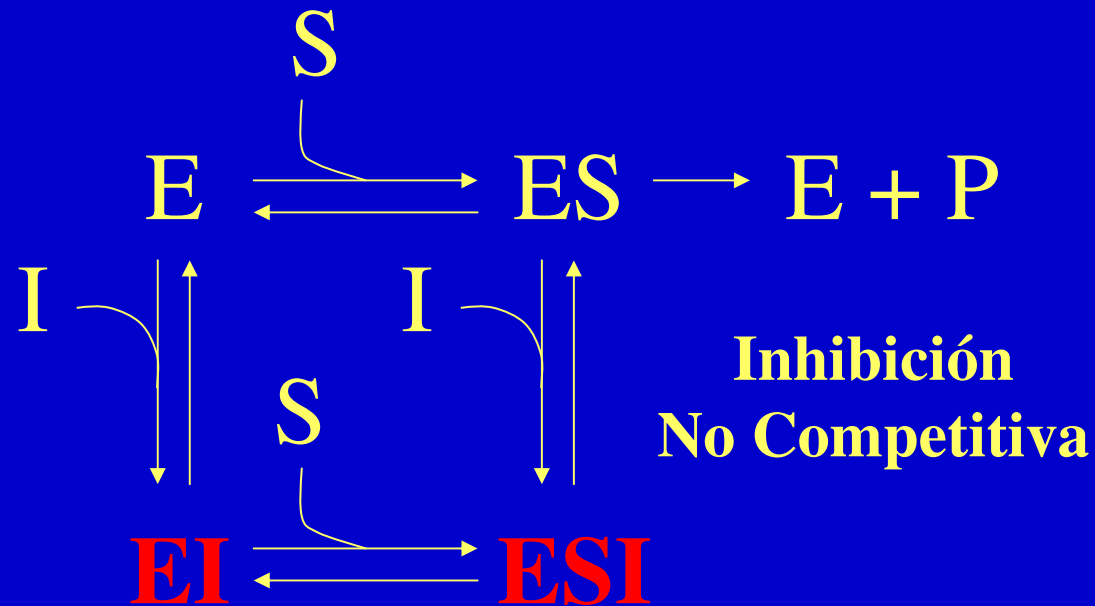
No se invierte aunque se aumente la concentración de sustrato. En este tipo de inhibición el **inhibidor se une a algún grupo del enzima esencial** para su actuación y no exactamente al punto de unión del sustrato.

El enzima se **inactiva** cuando está fijado el **inhibidor**, tanto si el **sustrato** está presente como si no lo está. El inhibidor puede unirse al enzima solo o al complejo ES.

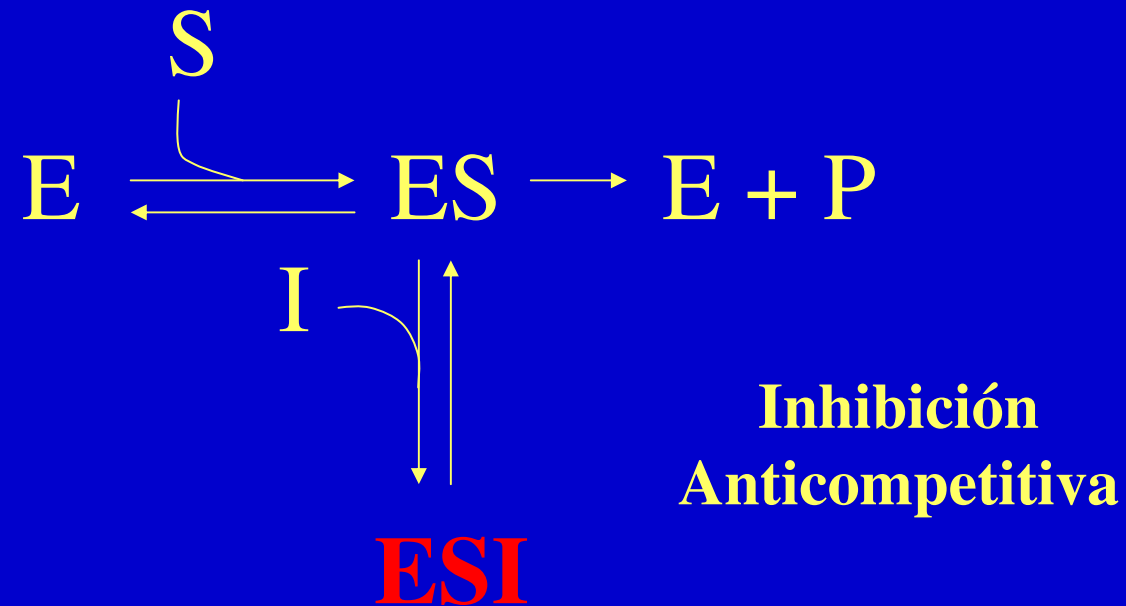
Por ejemplo: la inhibición del enzima **gliceraldehído fosfato DH**, que cataliza el paso de glucosa a ácido láctico en el músculo, se inhibe de forma reversible no competitiva por el ácido **iodo acético**.

(Las acumulaciones de ácido láctico en los músculos son las que producen las agujetas. El ácido láctico se produce en grandes cantidades cuando un músculo no entrenado realiza un ejercicio muy intenso. Como no hay suficiente riego sanguíneo, no se produce un suficiente aporte de O_2 a los tejidos y la glucosa se metaboliza de forma anaerobia produciendo ác. láctico. Si hubiera suficiente oxígeno la glucosa se metabolizaría de forma aerobia y se liberaría H_2O y CO_2). Otros autores proponen que las agujetas se producen por microrroturas en el tejido muscular.

-Inhibición reversible incompetitiva: el inhibidor también se fija a un sitio distinto del del sustrato, pero solo puede unirse (fijarse) al complejo ES.



El inhibidor se fija indistintamente a la enzima libre E y al complejo enzima-substrato ES; ni el complejo **EI** ni el complejo **ESI** son productivos



El inhibidor sólo puede fijarse al complejo ES;
el complejo **ESI** no es productivo

Resumen Inhibición reversible.

Puede ser de tres tipos:

(a) El inhibidor se fija al centro activo de la enzima libre, impidiendo la fijación del sustrato: **Inhibición Competitiva**

(b) El inhibidor se fija a la enzima independientemente de que lo haga o no el sustrato; el inhibidor, por tanto, no impide la fijación del sustrato a la enzima, pero sí impide la acción catalítica: **Inhibición no Competitiva**

(c) El inhibidor se fija únicamente al complejo enzima-sustrato una vez formado, impidiendo la acción catalítica; este tipo se conoce como **Inhibición Incompetitiva o Acompetitiva**

Inhibición irreversible.

El inhibidor no solo se combina con el enzima, sino que modifica o **destruye uno o más grupos funcionales del enzima** (lesiona a la molécula enzimática).

Es frecuente la formación de un **enlace covalente (muy estable)** entre un inhibidor irreversible y un enzima. En muchas ocasiones esto permite identificar los a.a. del enzima que tienen funciones catalíticas.

Los inhibidores irreversibles son, por lo general, **altamente tóxicos**. A diferencia de la inhibición reversible, el efecto de los inhibidores irreversibles depende del tiempo de actuación del inhibidor.

Por ejemplo: el **DFP** es el **fluorofosfato de diisopropilo**. Es un componente del llamado **gas de los nervios**, utilizado en la Segunda Guerra Mundial. Es un inhibidor de la **acetil colinesterasa**, que hidroliza a la acetilcolina, transmisor químico de la sinapsis (unión entre dos neuronas). Los que inhalan este gas quedan paralizados ante la imposibilidad de transmitir los impulsos nerviosos adecuadamente. Se sabe que se une a un a.a., la **serina**, del centro activo.

Algunos tipos de inhibidores irreversibles

1. Reactivos de grupos –SH. **Yodoacetato**. **N-Etil maleimida (NEM)**. **P-hidroximercuribenzoato**
2. Organofosfóricos. **DFP: diisopropilfluorofosfato o fluorofosfato de diisopropilo**
3. Ligandos de metales. **ion cianuro, CN-**
4. Metales pesados. **Pb, Hg** etc.

AGITAR
ANTES DE USAR

filvit[®]

160 ml

Loción antiparasitaria pediculicida

Composición: Malatión 0,5% (biocida organofosforado)

Modo de empleo: Efectuar un masaje a fondo por todo el cuero cabelludo. Dejarlo reposar 30 min. Aclarar con agua abundante. Después de su uso, eliminar las liendres con el peine FILVIT. Durante la aplicación, deben protegerse adecuadamente ojos, nariz y boca. Una sola aplicación suele bastar pero, en caso necesario, podría repetirse únicamente otro tratamiento una vez transcurridos un mínimo de 7 días.

Precauciones: En niños menores de 2 años, utilizar bajo control médico. Aplicar con precaución en mujeres embarazadas y en período de lactancia. El uso indebido puede producir irritaciones en la piel. En caso de contacto con ojos, mucosas

Inhibición irreversible (continuación).

Un caso particular de los inhibidores irreversibles son los **inhibidores suicidas**. Son compuestos poco reactivos hasta que se unen al centro activo de un determinado enzima, de modo que permite que se den los primeros pasos de una reacción enzimática (**actúa como un sustrato normal**), pero luego, en lugar de transformarse en un producto normal, el inhibidor se convierte en un compuesto muy reactivo que se **combina irreversiblemente con el enzima**. También se les llama por ello **inhibidores basados en el mecanismo**, porque utilizan el mecanismo de reacción enzimática normal para inactivar al enzima.

Esto se utiliza para diseñar fármacos (diseño racional de fármacos) muy efectivos y con pocos efectos secundarios.

Por ej, de esta forma se ha conseguido un fármaco para la curación del **la enfermedad del sueño africana**. Se emplea **DMFO (difluorometilornitina)** que se une al enzima **ornitina decarboxilasa**, que a su vez **cataliza la síntesis de poliaminas (espermina y espermidina)**, que se necesitan en las células que se dividen rápidamente **para empaquetar el DNA** (ver fotocopia adjunta)

Un caballo de Troya bioquímico para la curación de la enfermedad del sueño africana

La causa de la enfermedad del sueño o tripanosomiasis africana son unos protistas (eucariotas unicelulares) denominados tripanosomas (Fig. 1). Hasta hace poco tiempo era prácticamente incurable. Las vacunas no son eficaces, puesto que este parásito posee un mecanismo que le permite evitar el sistema inmunitario del huésped. La cubierta celular está revestida por una sola proteína, contra la que puede actuar el sistema inmunológico. De todas maneras, de vez en cuando unas cuantas células pueden modificar esta proteína a una nueva forma no reconocida por el sistema inmunológico [ello tiene lugar por un proceso de recombinación genética, como se verá en el Capítulo 27 (ver Tabla 27-2)]. Este proceso de "modificación de la envoltura" puede tener lugar quizá centenares de veces. El resultado es una infección cíclica de carácter crónico. El paciente manifiesta fiebre, que remite cuando el sistema inmunológico vence la primera infección. Pero las células que han modificado su

envoltura actúan como semilla para una segunda infección, de manera que la fiebre vuelve a aparecer. Este ciclo puede repetirse durante semanas hasta que el paciente muere.

En base a los conocimientos sobre enzimología y metabolismo se han desarrollado algunos procedimientos para tratar esta enfermedad. Uno de ellos consiste en utilizar compuestos farmacológicos diseñados como inactivadores enzimáticos (inhibidores suicidas; ver Capítulo 8). Un punto vulnerable en el metabolismo de este organismo se halló en la vía de la síntesis de poliaminas. Las poliaminas espermina y espermidina se utilizan en el empaquetamiento del DNA y se precisan en grandes cantidades en las células de rápida multiplicación. El primer paso de su síntesis está catalizado por la enzima ornitina descarboxilasa, un enzima que precisa PLP (ver Fig. 21-25). En las células de los mamíferos la ornitina descarboxilasa tiene un recambio rápido; es decir, continuamente se degrada

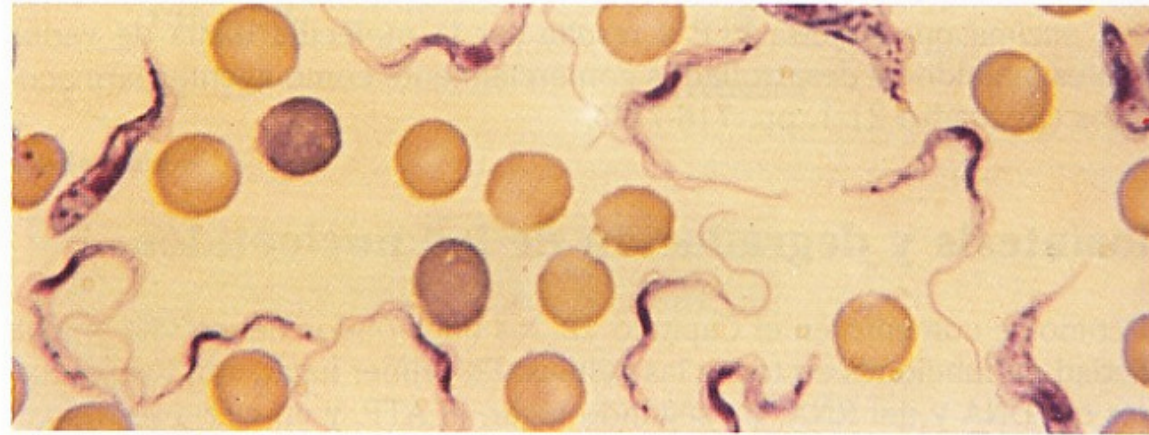
y se sintetiza nuevo enzima para reemplazarlo. Por razones no comprendidas del todo, el enzima del tripanosoma es estable y no es rápidamente reemplazado mediante síntesis de nuevo enzima. Un inhibidor de la ornitina descarboxilasa que se una de forma permanente al enzima tendría pues poco efecto sobre las células de mamíferos, pero el enzima inactivado de los parásitos no sería reemplazado, quedando inhibida la reproducción.

Los primeros pasos de la reacción catalizada normalmente por la ornitina descarboxilasa, tal como se ha determinado experimentalmente, se muestran en la Figura 2. La dirección del flujo de los pares de electrones se indica con flechas azules. Una vez liberado el CO_2 , el desplazamiento de los electrones se invierte y finalmente se libera putrescina (ver Fig. 21-25). En base a este mecanismo se han diseñado diferentes inhibidores suicidas para este enzima. Uno de estos es la difluorometilornitina (DFMO). La DFMO disuelta es relativa-

mente inerte. Pero cuando se une a la ornitina descarboxilasa el enzima se inactiva rápidamente (Fig. 3). Este inhibidor constituye un sumidero alternativo de electrones debido a sus dos átomos de flúor colocados estratégicamente y que pueden desprenderse con facilidad. En lugar de un desplazamiento de electrones hacia la estructura en anillo del PLP, en esta reacción se produce un desplazamiento de un átomo de flúor. Las cadenas laterales de aminoácidos nucleofílicos (representadas por B:) en el centro activo del enzima pueden a continuación reaccionar con el conjunto PLP-inhibidor, altamente reactivo, formando un complejo covalente en una reacción esencialmente irreversible. De esta forma el inhibidor utiliza el mismo mecanismo de reacción del enzima para inactivarlo de forma permanente.

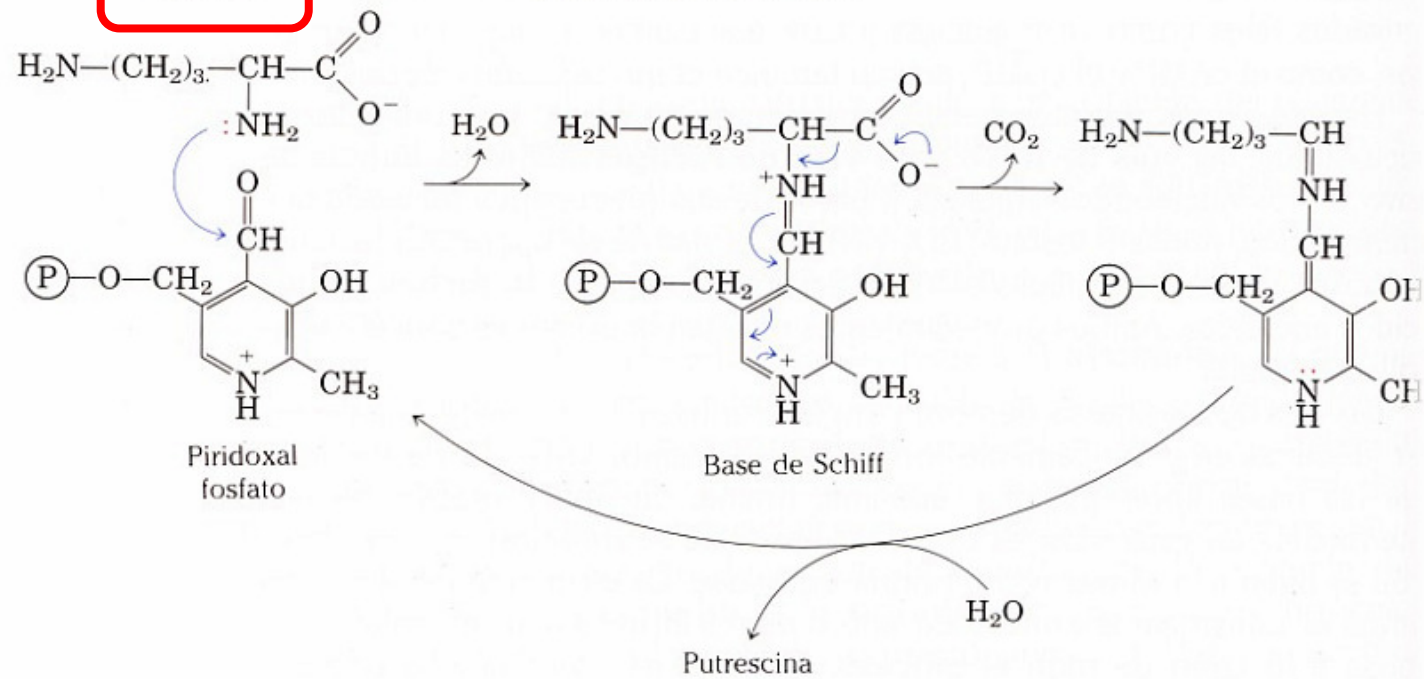
La posibilidad de diseñar fármacos en base a los mecanismos enzimáticos está desplazando al procedimiento más tradicional del ensayo y error.

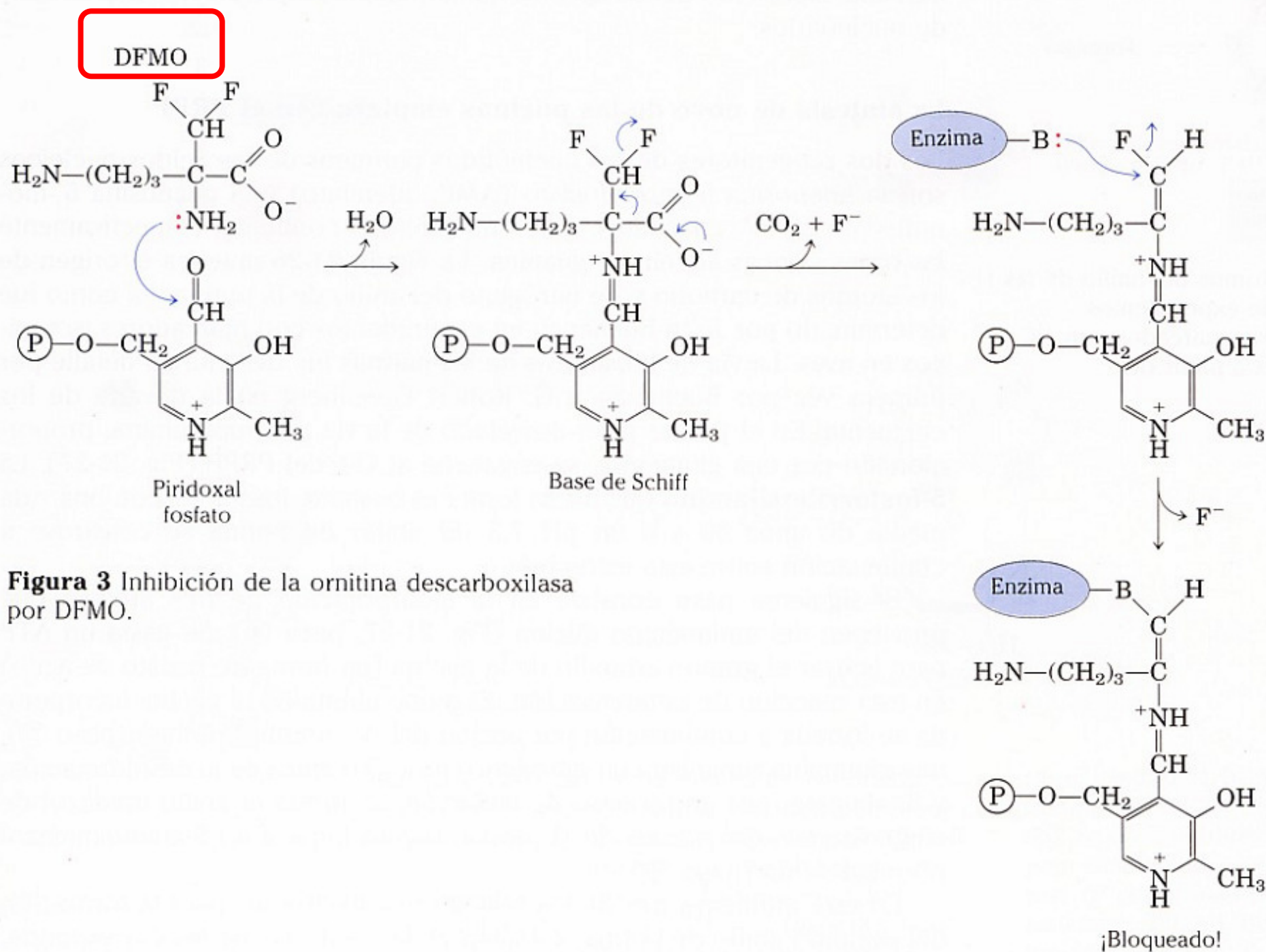
Figura 1 *Trypanosoma brucei rhodesiense*, el agente causante de la enfermedad del sueño africana.



Ornitina

Figura 2 Mecanismo de la reacción de la ornitina descarboxilasa.





Un caballo de Troya bioquímico para la curación de la enfermedad del sueño africana

La causa de la enfermedad del sueño o tripanosomiasis africana son unos protistas (eucariotas unicelulares) denominados tripanosomas (Fig. 1). Hasta hace poco tiempo era prácticamente incurable. Las vacunas no son eficaces, puesto que este parásito posee un mecanismo que le permite evitar el sistema inmunitario del huésped. La cubierta celular está revestida por una sola proteína, contra la que puede actuar el sistema inmunológico. De todas maneras, de vez en cuando unas cuantas células pueden modificar esta proteína a una nueva forma no reconocida por el sistema inmunológico [ello tiene lugar por un proceso de recombinación genética, como se verá en el Capítulo 27 (ver Tabla 27-2)]. Este proceso de "modificación de la envoltura" puede tener lugar quizá centenares de veces. El resultado es una infección cíclica de carácter crónico. El paciente manifiesta fiebre, que remite cuando el sistema inmunológico vence la primera infección. Pero las células que han modificado su

envoltura actúan como semilla para una segunda infección, de manera que la fiebre vuelve a aparecer. Este ciclo puede repetirse durante semanas hasta que el paciente muere.

En base a los conocimientos sobre enzimología y metabolismo se han desarrollado algunos procedimientos para tratar esta enfermedad. Uno de ellos consiste en utilizar compuestos farmacológicos diseñados como inactivadores enzimáticos (inhibidores suicidas; ver Capítulo 8). Un punto vulnerable en el metabolismo de este organismo se halló en la vía de la síntesis de poliaminas. Las poliaminas, espermina y espermidina se utilizan en el empaquetamiento del DNA y se precisan en grandes cantidades en las células de rápida multiplicación. El primer paso de su síntesis está catalizado por el enzima ornitina descarboxilasa, un enzima que precisa PLP (ver Fig. 21-25). En las células de los mamíferos la ornitina descarboxilasa tiene un recambio rápido; es decir, continuamente se degrada

y se sintetiza nuevo enzima para reemplazarlo. Por razones no comprendidas del todo, el enzima del tripanosoma es estable y no es rápidamente reemplazado mediante síntesis de nuevo enzima. Un inhibidor de la ornitina descarboxilasa que se una de forma permanente al enzima tendría pues poco efecto sobre las células de mamíferos, pero el enzima inactivado de los parásitos no sería reemplazado, quedando inhibida la reproducción.

Los primeros pasos de la reacción catalizada normalmente por la ornitina descarboxilasa, tal como se ha determinado experimentalmente, se muestran en la Figura 2. La dirección del flujo de los pares de electrones se indica con flechas azules. Una vez liberado el CO_2 , el desplazamiento de los electrones se invierte y finalmente se libera putrescina (ver Fig. 21-25). En base a este mecanismo se han diseñado diferentes inhibidores suicidas para este enzima. Uno de estos es la difluorometilornitina (DFMO). La DFMO disuelta es relativa-

mente inerte. Pero cuando se une a la ornitina descarboxilasa el enzima se inactiva rápidamente (Fig. 3). Este inhibidor constituye un sumidero alternativo de electrones debido a sus dos átomos de flúor colocados estratégicamente y que pueden desprenderse con facilidad. En lugar de un desplazamiento de electrones hacia la estructura en anillo del PLP, en esta reacción se produce un desplazamiento de un átomo de flúor. Las cadenas laterales de aminoácidos nucleofílicos (representadas por B:) en el centro activo del enzima pueden a continuación reaccionar con el conjunto PLP-inhibidor, altamente reactivo, formando un complejo covalente en una reacción esencialmente irreversible. De esta forma el inhibidor utiliza el mismo mecanismo de reacción del enzima para inactivarlo de forma permanente.

La posibilidad de diseñar fármacos en base a los mecanismos enzimáticos está desplazando al procedimiento más tradicional del ensayo y error.

Figura 1 *Trypanosoma brucei rhodesiense*, el agente causante de la enfermedad del sueño africana.

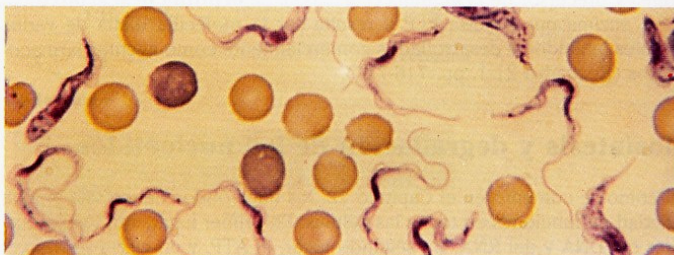
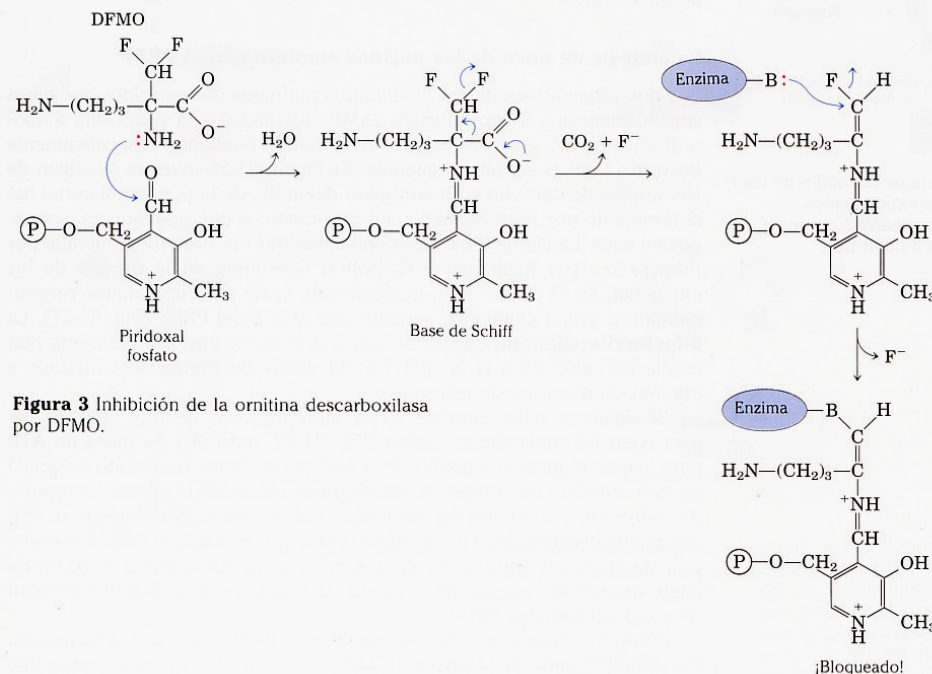
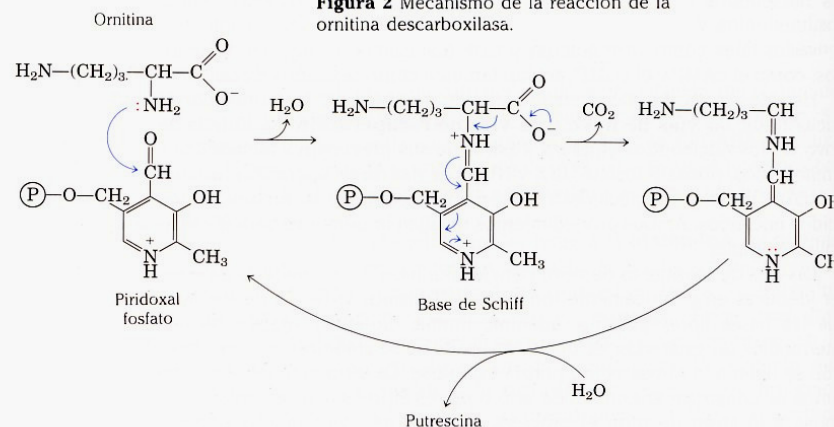


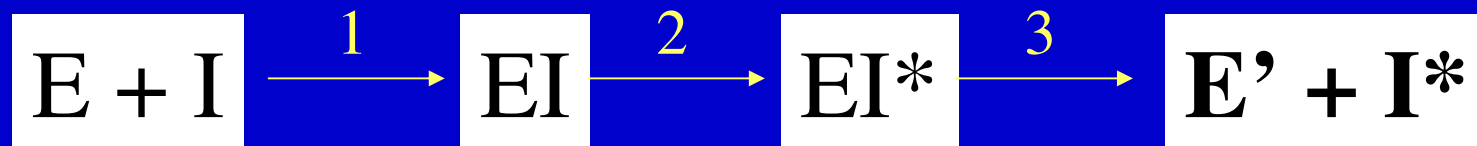
Figura 2 Mecanismo de la reacción de la ornitina descarboxilasa.



Resumen Inhibidores suicidas

- Se trata de moléculas que **se unen al centro activo** de manera específica, igual que el substrato o los inhibidores competitivos.
- Una vez unidos al centro activo, **la enzima transforma la molécula en una especie química muy reactiva** que modifica covalentemente a la enzima, inactivándola
- Tienen por tanto
 - (a) **la especificidad del inhibidor competitivo y**
 - (b) **la potencia de los inhibidores irreversibles**

Modo de acción de los inhibidores suicidas



1. El inhibidor se fija a la enzima igual que el substrato o un inhibidor competitivo convencional
2. La acción catalítica de la enzima convierte al inhibidor I en una especie altamente reactiva I*
3. I* modifica covalentemente a la enzima, inactivándola de forma definitiva al igual que un inhibidor irreversible.

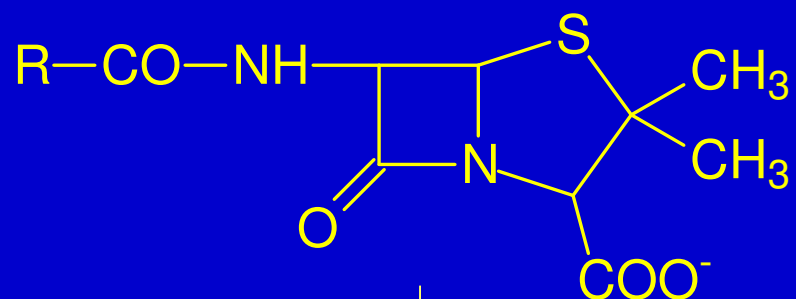
Otro ejemplo de inhibidor suicida

- Sistema de la *β -lactamasa* bacteriana

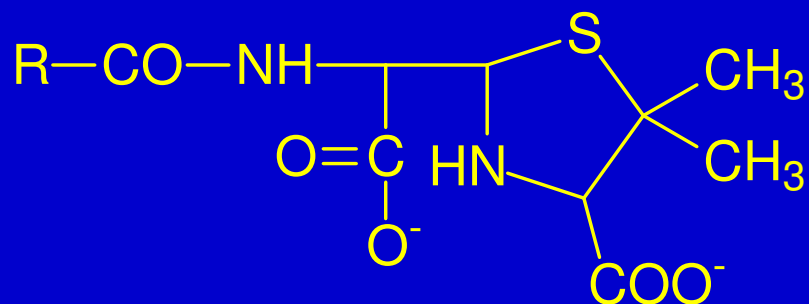
La utilización masiva de antibióticos β -lactámicos (penicilinas, sus derivados semisintéticos y cefalosporinas) ha conducido a la aparición de **resistencias** a los mismos.

Los microorganismos resistentes a estos antibióticos lo son por producir una enzima, la *β -lactamasa*, que inactiva a los antibióticos β -lactámicos.

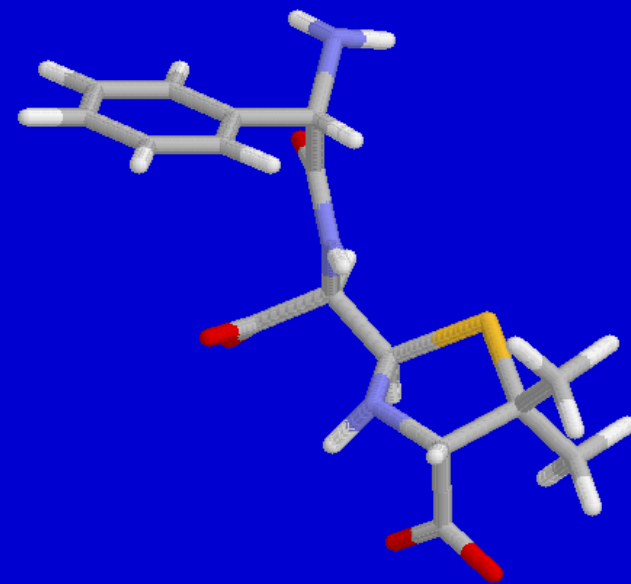
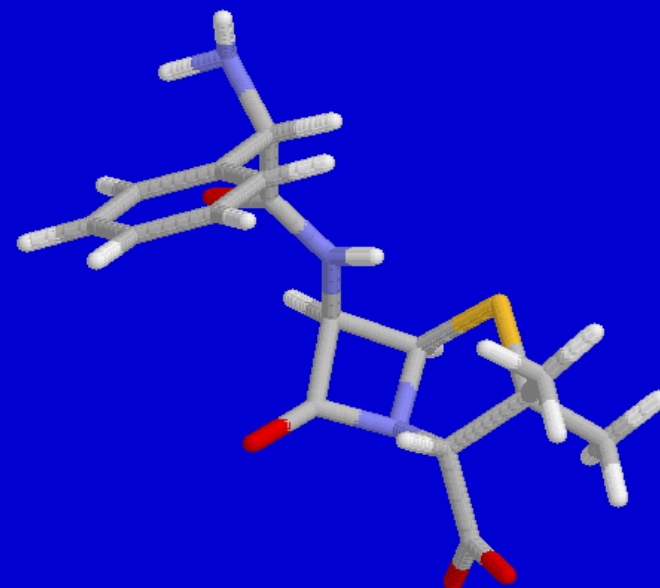
Penicilina (activa)



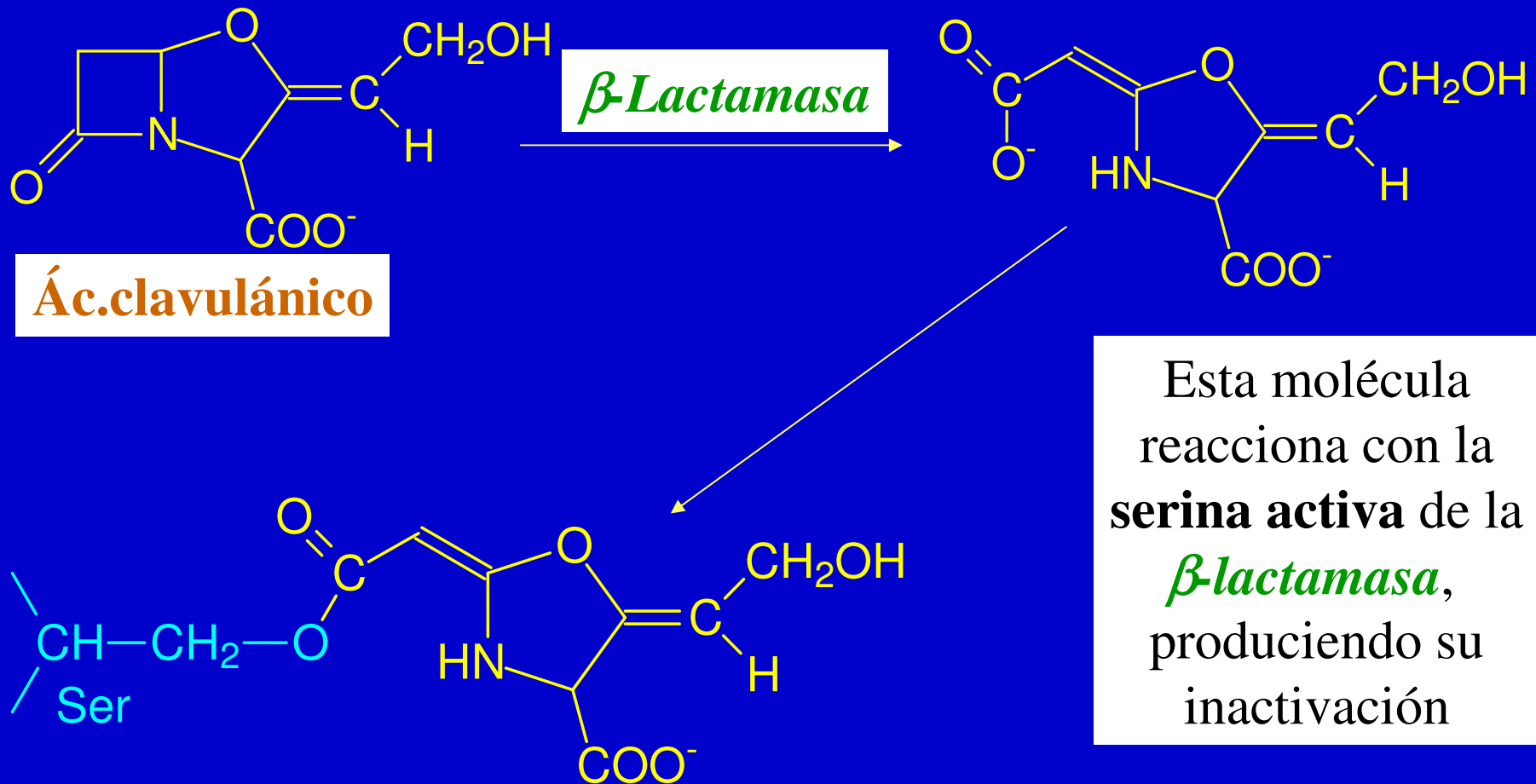
β-Lactamasa



Ác. peniciloico (inactivo)



Muy a menudo los preparados de penicilinas o penicilinas semisintéticas se formulan añadiendo un inhibidor suicida de la ***β -lactamasa***, el **ácido clavulánico**



Esta molécula reacciona con la **serina activa** de la ***β -lactamasa***, produciendo su inactivación

835918 X

Amoxicilina/Ac. Clavulánico

Sandoz® 500/125 mg comprimidos
recubiertos con película **EFG**

12 comprimidos recubiertos con película



SANDOZ

Vía oral

Compañía del Grupo Novartis

Amoxicilina/Ac. Clavulánico Sandoz® 500/125 mg

ENZIMAS REGULADORES

Se descubrieron en las reacciones de biosíntesis, pero existen en todo tipo de vías metabólicas. En la mayoría de los procesos metabólicos se producen varias reacciones **consecutivas encadenadas**, en las que cada producto de la anterior reacción es el sustrato de la siguiente, de modo que como cada reacción está catalizada por un enzima, podemos decir que existe un **sistema multienzimático** que cataliza todo el proceso.

En la mayoría de estos sistemas multienzimáticos, el **primer enzima que actúa**, regula la velocidad de todo el proceso y recibe el nombre de **enzima regulador**.

Gracias a la acción de estos enzimas reguladores la velocidad de cada secuencia metabólica se ajusta constantemente para adaptarse a las necesidades celulares.

La actividad de los enzimas reguladores se modula mediante diversos tipos de moléculas señales, que suelen ser sustancias de pequeño Pm o cofactores. A veces, este enzima **es inhibido por el producto final de toda la vía metabólica**, de modo que si se acumula por encima de un determinado nivel el producto, se interrumpe su producción al ser inhibido el enzima.

Este tipo de inhibición por el producto final se denomina **retroinhibición o mecanismo de FEED-BACK negativo**.

Los principales enzimas reguladores de las rutas metabólicas son los **enzimas alostéricos** que funcionan a través de la unión reversible no covalente de un metabolito regulador llamado modulador. Alostérico significa *allos*=otros, *stereos*=sólido, forma (en griego). Por lo tanto, los e. alostéricos son los que **tienen otra conformación inducida por la unión de moduladores**.

Existen otros enzimas reguladores modulados por uniones covalentes reversibles de determinadas sustancias, incluso hay enzimas como la **glutamina sintetasa** de *E. coli*, uno de los enzimas reguladores conocidos más complejo, que es regulado por alosterismo (unión reversible no covalente, se le conocen 8 moduladores alostéricos), por modificación covalente reversible y por proteínas reguladoras.

Características de los enzimas alostéricos:

1. Tienen pesos moleculares elevados y generalmente están formados por varias subunidades o cadenas polipeptídicas.
2. Tienen al menos dos centros de unión; uno para el sustrato y otro para el modulador o efector. Al centro de unión del modulador, de forma no covalente, se le llama **centro alostérico**.
3. No siguen la cinética de Michaelis-Menten.
4. Se encuentran "situados" en puntos cruciales del metabolismo

Clasificación de los enzimas alostéricos:

1. Homotrópicos: el modulador o efector es el propio sustrato, que aumenta o disminuye la velocidad de acuerdo con su concentración.
2. Heterotrópicos: son estimulados o inhibidos por un efector o modulador distinto del sustrato. Algunos enzimas son homotrópicos-heterotrópicos, y pueden ser modulados por varias sustancias, una de las cuales es el sustrato.

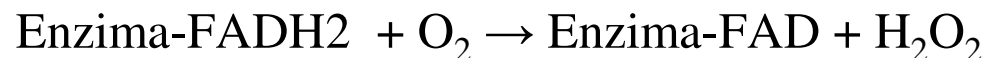
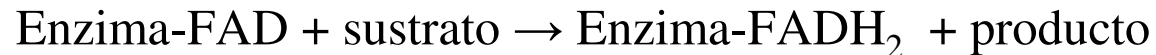
PRÁCTICA Nº 5. 2º BACHILLER: ENZIMAS

DEMOSTRACIÓN DEL ENZIMA *catalasa* EN LOS TEJIDOS

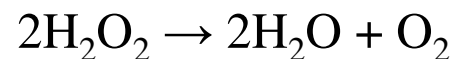
1. En dos placas de Petri se disponen muestras de materia vegetal, por ejemplo patata y tomate. En una de ellas se ponen la patata y el tomate cocidos y en la otra la patata y el tomate fresco.
2. Se vierte por encima de cada muestra 2 cc de H_2O_2 con ayuda de un cuentagotas.

¿Qué ocurre en cada una de las muestras? ¿Por qué?

Explicación: el peróxido de hidrógeno (agua oxigenada H_2O_2) es un producto frecuente de las reacciones metabólicas catalizadas por *deshidrogenasas*.



El peróxido de hidrógeno es tóxico para los organismos y por ello es rápidamente destruido por el enzima *catalasa* presente tanto en células animales como en vegetales, según la siguiente reacción:



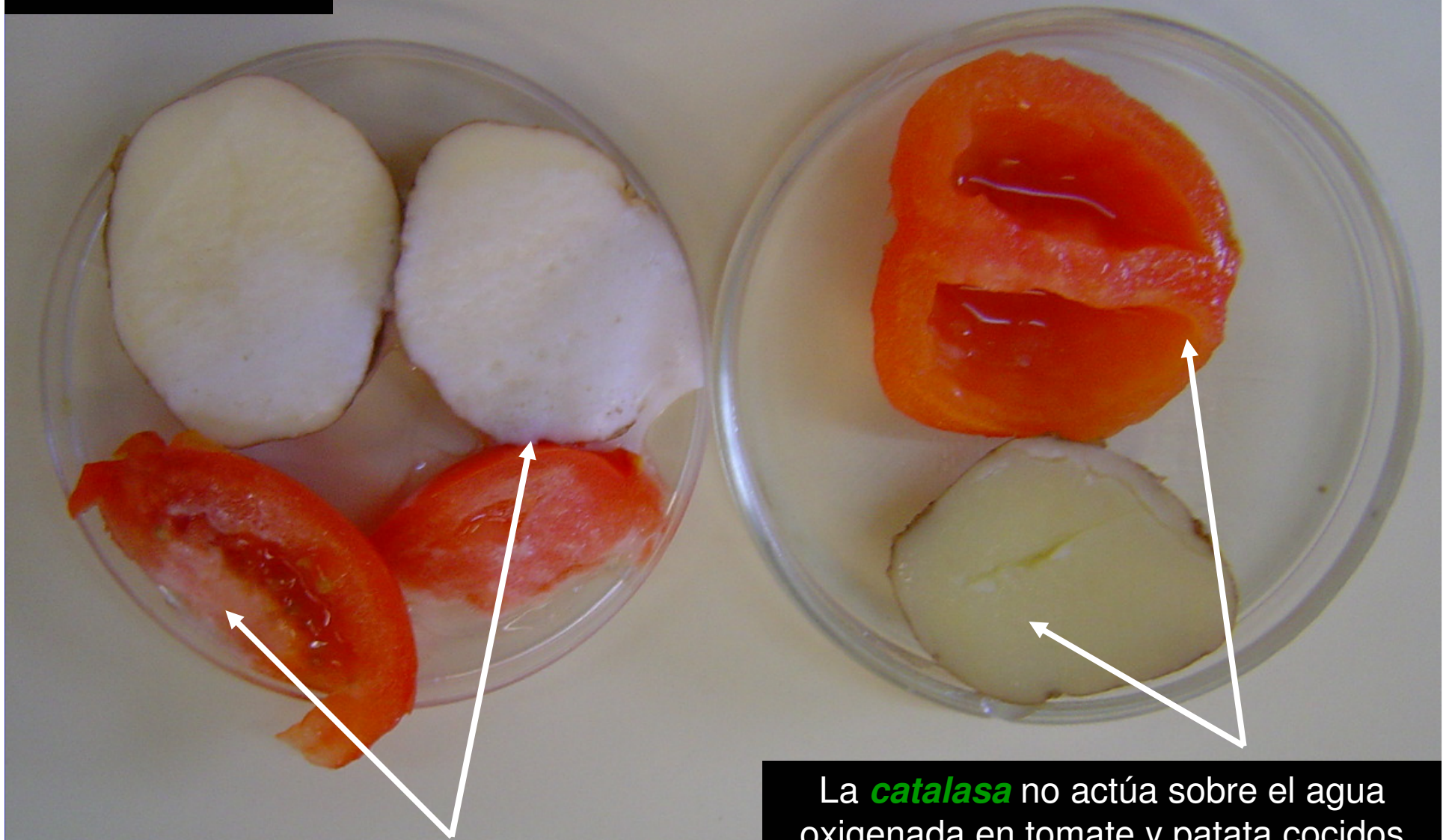
El oxígeno molecular se desprende en forma de burbujas, lo que prueba la presencia del enzima *catalasa*.

Catalasa

Acción de la *catalasa* sobre el agua oxigenada en una herida



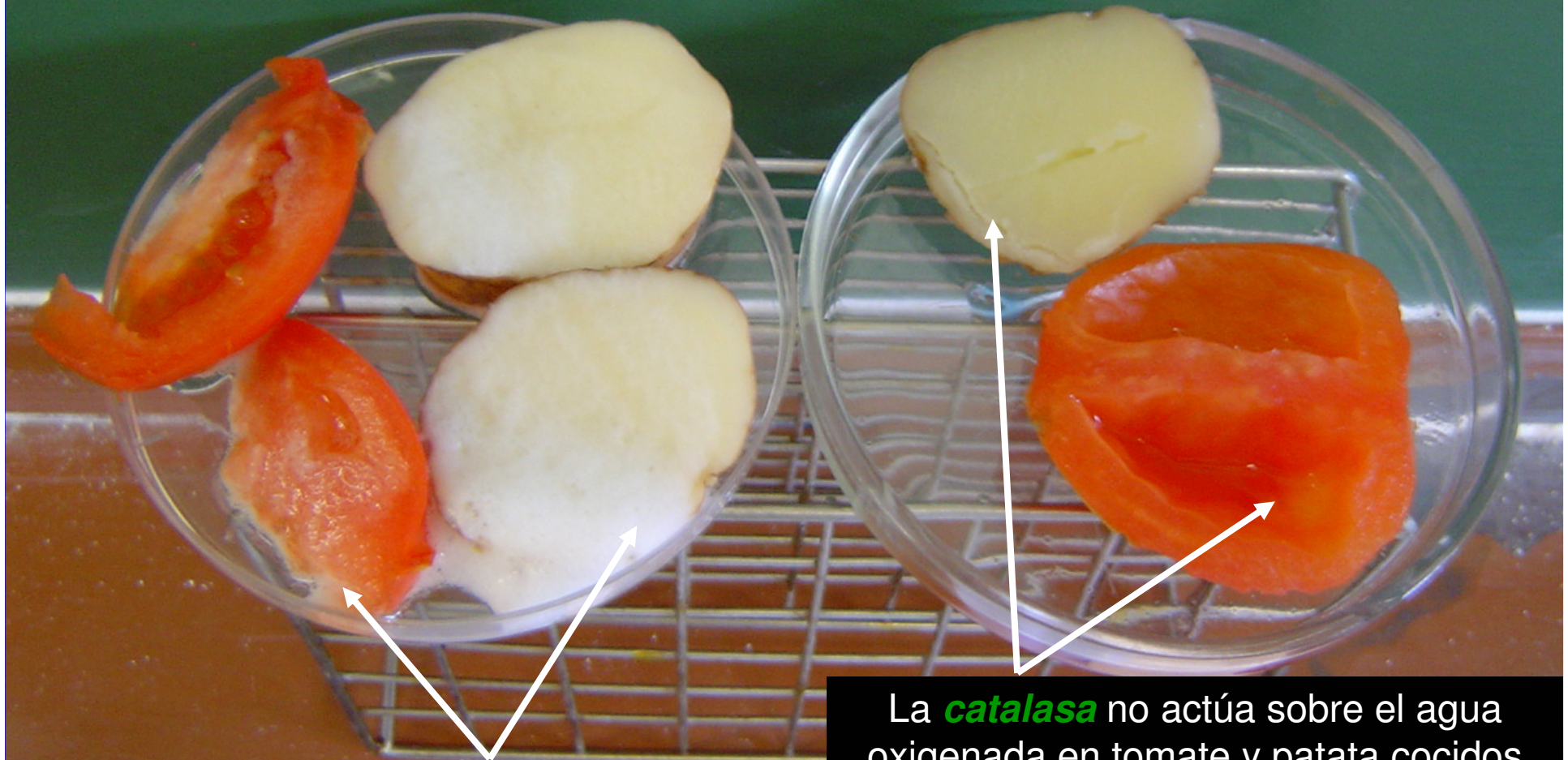
Catalasa



Acción de la **catalasa** sobre el agua oxigenada en tomate y patata frescos. Se libera O_2 .

La **catalasa** no actúa sobre el agua oxigenada en tomate y patata cocidos por haberse desnaturalizado por el calor. El enzima pierde su actividad catalítica al desnaturalizarse.

Catalasa



Acción de la **catalasa** sobre el agua oxigenada en tomate y patata frescos. Se libera O_2 .

La **catalasa** no actúa sobre el agua oxigenada en tomate y patata cocidos por haberse desnaturalizado por el calor. El enzima pierde su actividad catalítica al desnaturalizarse.

PRÁCTICA Nº 5. 2º BACHILLER: ENZIMAS

DEMOSTRACIÓN DE LA ACCIÓN HIDROLÍTICA DE LA

amilasa salivar (ptialina).

1. Preparar una disolución de *ptialina* de la siguiente manera.

Enjuagar con agua fría la boca (preferentemente después de haber comido algo).

Enjuagar con un poco de agua caliente durante un minuto.

Recoger ese segundo enjuague en un vaso de precipitados, es la disolución buscada.

2. Preparar una disolución de almidón.

3. Preparar dos tubos de ensayo de la siguiente manera.

Tubo A: 2 cc de la disolución de almidón y 2 cc de la disolución de *ptialina*.

Calentar al baño María a 35-40° durante 10 minutos.

Tubo B: 2 cc de almidón.

4. Añadir a ambos tubos 1 cc de Fehling A y 1 cc de Fehling B. Calentar al baño María a igual temperatura. ¿Qué ocurre en ambos tubos?. ¿Por qué?

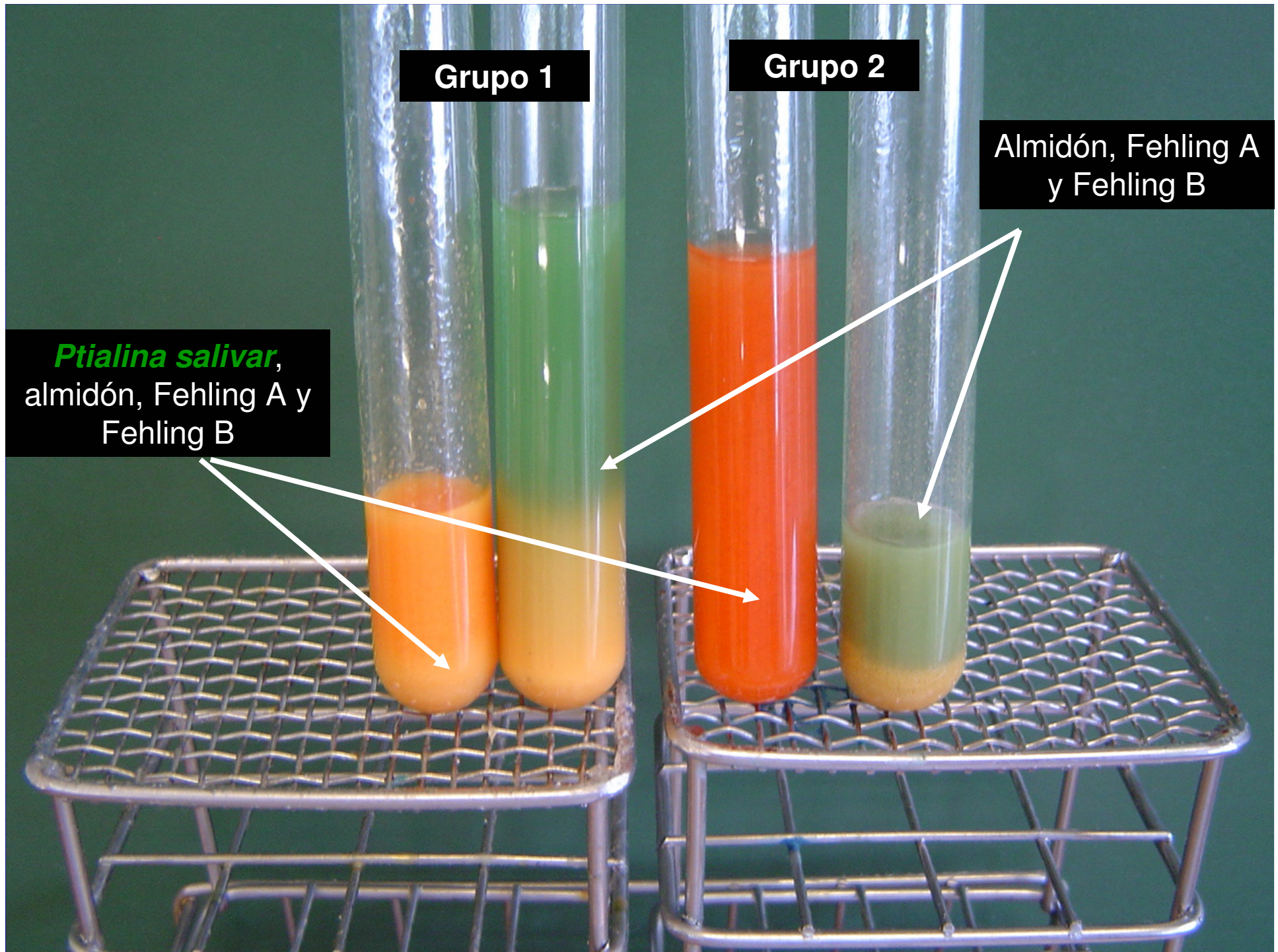
Explicación: la *ptialina salivar (amilasa)* hidroliza el almidón hasta maltosa (disacárido reductor).

Grupo 1

Grupo 2

Almidón, Fehling A
y Fehling B

Ptialina salivar,
almidón, Fehling A y
Fehling B



Grupo 1

Grupo 2

Almidón, Fehling A
y Fehling B

Ptialina salivar,
almidón, Fehling A y
Fehling B

