



Sistema Integrado de Gestión

GUÍA PRÁCTICA N°27

**Enzimas: Amilasa salival
PROGRAMA DENUTRICIÓN Y DIETÉTICA**

Versión 2

Código: IV.4,1.19.03.32

Proceso: Investigación – IV

Febrero de 2016

 <p>INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE</p>	<p>GUÍA PRÁCTICA N° 27 NUTRICIÓN Y DIETÉTICA</p>	Código: IV.4,1.19.03.32
		Fecha: 19/02/2016
		Versión: 2
		Página 2 de 10

1. OBJETIVOS

- Determinar la tasa de hidrólisis del almidón por acción de la amilasa salival, mediante la observación de pérdida de color del complejo Almidón-yodo.
- Determinar el efecto de factores como temperatura y concentración de enzima en una reacción enzimática.
- Analizar la relación entre la velocidad de reacción de la enzima amilasa salival y los factores ambientales.

2. ALCANCE

Esta guía práctica deberá leerse y comprender su contenido para posteriormente poder desarrollar a cabalidad el objetivo propuesto.

3. DEFINICIONES

CONCEPTOS PRELIMINARES QUE SE DEBEN REVISAR ANTES DE LA PRÁCTICA: Enzimas, Amilasa salival, Reactivo de Felhing, Solución de Lugol

4. CONDICIONES GENERALES

Se debe asistir a la práctica con el diagrama de flujo, la bata de laboratorio blanca, el trapo o la toalla para limpiar y secar, la cinta de papel y marcador punta fina.

5. DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

5.1 PROPOSITO

Fortalecer la parte teórica que corresponde al tema de enzimas.

5.2 PROCESO DE LA PRÁCTICA

 <p>INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE</p>	<p>GUÍA PRÁCTICA N° 27 NUTRICIÓN Y DIETÉTICA</p>	Código: IV.4.1.19.03.32
		Fecha: 19/02/2016
		Versión: 2
		Página 3 de 10

Antes de empezar la práctica el docente dará una explicación previa al desarrollo del laboratorio donde presentara los equipos, los reactivos, los materiales que se utilizaran durante la práctica, explicando que cuidados se deben tener y las normas de seguridad para evitar cualquier accidente.

5.3 MATERIALES Y EQUIPO

- 10 Tubos de ensayo
- 5 Goteros
- Pinzas de madera
- Beaker de 100 ml
- Baño maría a 37 C
- Baño de agua hirviendo
- Rótulos o marcador indeleble
- Almidón al 1 %
- Reactivo de Felhing
- Solución de Lugol
- Solución de saliva

5.4 PRÁCTICA

Parte I. Acción enzimática

En esta práctica experimental se calculará la tasa de hidrólisis de almidón por determinación del tiempo empleado para el cambio de color

*Colectar aproximadamente diez mililitros de saliva en un beaker pequeño rotular esta solución de saliva como solución "stock"

Nota: evite masticar chicle, comer dulces o beber líquidos aproximadamente una hora antes de iniciar el laboratorio.

*Prepare una serie de 4 tubos de ensayos limpios y secos y adicione 2 ml de solución de almidón a cada tubo, guárdelas para emplearlas más tarde.

Realiza el siguiente procedimiento para determinar la acción de la amilasa salival:

 INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE	GUÍA PRÁCTICA N° 27 NUTRICIÓN Y DIETÉTICA	Código: IV.4.1.19.03.32
		Fecha: 19/02/2016
		Versión: 2
		Página 4 de 10

- ✓ Agrega al tubo 1 unas 10 gotas de Reactivo de Fehling, calienta 5 minutos en baño de agua caliente y observa el cambio de color.
- ✓ Adiciona al tubo 2: 10 gotas de solución de Lugol. Deja a temperatura ambiente por 5 minutos y determina el cambio de color.
- ✓ Agrega a los tubos 3 y 4: 0,5 ml de saliva y coloca en baño maría a 37°C durante 15 minutos.
- ✓ Adiciona al tubo 3, 10 gotas de reactivo de Fehling y calienta en baño maría por 5 minutos.
- ✓ Agrega al tubo 4, 10 gotas de Lugol, deja en reposo por 5 minutos y observa si hay cambio de color.

Parte II Efecto de la temperatura

- ✓ En 3 tubos de ensayo coloque 1 ml de solución de almidón.
- ✓ Agregue 0,2 ml de saliva a los tubos 1, 2 y 3.
- ✓ Incube los tubos por 10 minutos de acuerdo a las siguientes instrucciones:

Tubo # 1	Baño María a 37°C
Tubo # 2	Baño de hielo
Tubo # 3	Baño de agua hirviendo

 INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE	GUÍA PRÁCTICA N° 27 NUTRICIÓN Y DIETÉTICA	Código: IV.4,1.19.03.32
		Fecha: 19/02/2016
		Versión: 2
		Página 5 de 10

REPORTE DE PRÁCTICA

PRÁCTICA 27: ENZIMAS: AMILASA SALIVAL

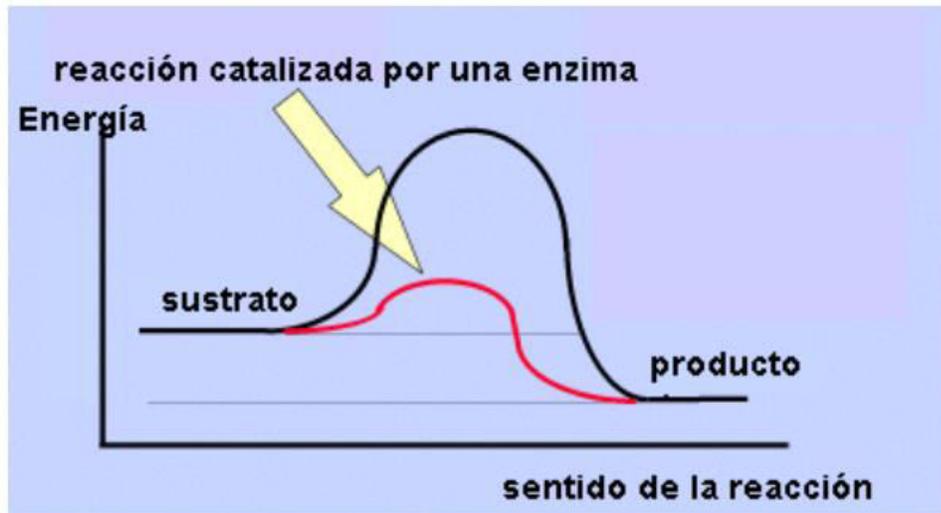
PRESENTADO POR:	
1	2
_____	_____
3	4
_____	_____
5	6
_____	_____

OBJETIVO:

- Determinar la tasa de hidrólisis del almidón por acción de la amilasa salival, mediante la observación de pérdida de color del complejo Almidón-yodo.
- Determinar el efecto de factores como temperatura y concentración de enzima en una reacción enzimática.
- Analizar la relación entre la velocidad de reacción de la enzima amilasa salival y los factores ambientales.

Una enzima es un catalizador natural o biológico. Estas moléculas generalmente son proteínas que dirigen y regulan miles de las reacciones biológicas particulares. Sin ser consumidas o transformadas en el proceso que participan las enzimas aumentan la velocidad de una reacción al disminuir la barrera de energía de activación de los reactivos y aumentando la velocidad a la cual se alcanza el equilibrio de reacción, pero no afectan la concentración final de los productos.

INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA  ESCUELA NACIONAL del DEPORTE	GUÍA PRÁCTICA N° 27 NUTRICIÓN Y DIETÉTICA	Código: IV.4,1.19.03.32
		Fecha: 19/02/2016
		Versión: 2
		Página 6 de 10



Las enzimas son generalmente proteínas de alto peso molecular. (10.000 – 500.000 kDa) Las cuales presentan grupos dentro de su estructura química capaces de interactuar con las moléculas de sustratos en una región específica denominada sitio activo, para formar un complejo Enzima – sustrato ES.



Debido a las características estructurales propias de la enzima, solamente sustratos muy específicos pueden unirse a la enzima. La actividad enzimática está determinada entre otros factores, por la adaptación de la estructura terciaria de la enzima (estructura nativa), que permite en forma extremadamente selectiva la unión al sustrato. Una vez que el sustrato se une al sitio activo, la enzima está lista para convertir el sustrato en el producto adecuado.



La actividad de la enzima puede ser afectada por factores experimentales tales como: la concentración de enzima y de sustrato, el pH de la solución de reacción y la temperatura. Los factores ambientales pueden afectar la actividad de la enzima, puesto que los aminoácidos que conforman la molécula se afectan con estos factores, la actividad enzimática también es afectada (recuerde el efecto de estos

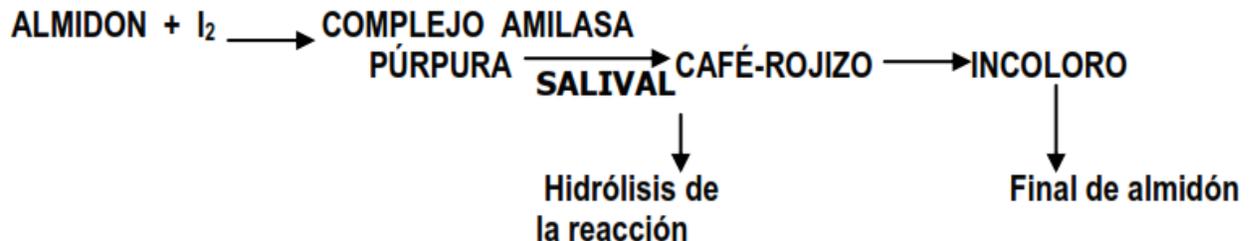
 INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE	GUÍA PRÁCTICA N° 27 NUTRICIÓN Y DIETÉTICA	Código: IV.4,1.19.03.32
		Fecha: 19/02/2016
		Versión: 2
		Página 7 de 10

factores en la estructura terciaria de una proteína). Además de los factores mencionados anteriormente, las enzimas pueden alterar su actividad con la presencia de cofactores o grupos prostéticos, inhibidores o efectores alostéricos.

La amilasa salival

Es una enzima de peso molecular de 45.000 kDa, responsable de catalizar la hidrólisis inicial de polímeros grandes de glucosa tales como almidón o glicógeno, en fracciones más pequeñas. Estos fragmentos eventualmente son fraccionados en sus monómeros componentes por otras enzimas digestivas en el cuerpo humano. Las unidades de glucosa son usadas posteriormente por las células como una importante fuente de energía.

La reacción de hidrólisis del almidón, involucra el clivaje (rotura) de un enlace glicosídico mediante la adición de una molécula de agua. La reacción de hidrólisis de almidón por acción de la amilasa salival, puede ser detectada por la propiedad del almidón no hidrolizado de formar un complejo púrpura (morado) con el yodo. Una vez se inicia la hidrólisis del almidón, el complejo se rompe y el color púrpura cambia a café – rojizo y eventualmente desaparece para dar una solución incolora:



NOTA: La solución puede pasar a incolora sin pasar por café rojizo

La tasa de hidrólisis puede ser determinada por medición del tiempo empleado en la reacción, monitoreando la presencia del complejo almidón-yodo, representado como el tiempo de cambio de color de la solución púrpura a incolora. En este laboratorio se usará esta técnica experimental para observar los efectos de factores de temperatura, pH y concentración de enzima en la cinética de la enzima amilasa salival.

 INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE	GUÍA PRÁCTICA N° 27 NUTRICIÓN Y DIETÉTICA	Código: IV.4.1.19.03.32
		Fecha: 19/02/2016
		Versión: 2
		Página 8 de 10

RESULTADOS

Parte I

Tubo	1	2	3	4
Almidón	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Saliva			0,5 ml Incubar a 37°C por 15 minutos	0,5 ml Incubar a 37°C por 15 minutos
Reactivo de Fehling	5 gotas Fehling A y 5 gotas Fehling B Calentar 5 minutos en baño maría		5 gotas Fehling A y 5 gotas de Fehling B Calentar 5 minutos en baño maría	
Solución de Lugol		10 gotas		10 gotas
Observaciones (Cambio de color, aparición de precipitado, etc)				

Parte II

		Observaciones (Cambio de color, aparición de precipitado, etc)
Tubo # 1	Baño María a 37°C	
Tubo # 2	Baño de hielo	
Tubo # 3	Baño de agua hirviendo	

 <p>INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA ESCUELA NACIONAL del DEPORTE</p>	<p>GUÍA PRÁCTICA N° 27 NUTRICIÓN Y DIETÉTICA</p>	Código: IV.4,1.19.03.32
		Fecha: 19/02/2016
		Versión: 2
		Página 9 de 10

5.5 Preguntas

Parte I Preguntas:

1. Cuál es el fundamento de la reacción de Fehling? Qué tipo de carbohidratos reaccionan con este reactivo.
2. Qué es un azúcar reductor?
3. Cuál es el fundamento de la identificación de azúcares reductores con el reactivo de Benedict?
4. Que carbohidratos reaccionan con la solución de Lugol?. Que reacción ocurre en esta prueba?
5. Que efecto tiene la amilasa salival sobre la molécula de almidón?
6. Como explicas los resultados con los reactivos de Fehling y de Lugol después de la acción de la enzima.
7. Que productos se obtienen de la hidrólisis enzimática del almidón. Escribe la reacción enzimática de la amilasa
8. Cuál es la importancia de la saliva en la digestión de los carbohidratos?

Parte II Preguntas:

1. A que temperatura trabajó la enzima con más eficiencia?
2. Cuál es la temperatura óptima de la amilasa salival?,
3. Qué efectos tiene en la actividad y estructura de la enzima las diferentes temperaturas?

	GUÍA PRÁCTICA N° 27 NUTRICIÓN Y DIETÉTICA	Código: IV.4,1.19.03.32
		Fecha: 19/02/2016
		Versión: 2
		Página 10 de 10

1. REVISIÓN Y ACTUALIZACIÓN

Esta Guía será actualizada por el Docente encargado de la práctica en el laboratorio, revisado por la Dirección Técnica de Investigaciones y la Vicerrectoría Administrativa, esta última como Representante de la Dirección para el SIG, y aprobado por el Vicerrector Académico

Aprobación del Documento				
	Nombre	Responsable	Firma	Fecha
Elaboró	Eliecer Jiménez Charris	Docente Bioquímica		19/02/2016
Reviso	Olga Cecilia Suárez	Director Técnico de Investigaciones		19/02/2016
	María Isabel Andrade	Representante de la Dirección del SIG		
Aprobó	Roger Micolta Truque	Vicerrector Académico		19/02/2016

Control de los Cambios			
Versión No.	Fecha de Aprobación	Descripción de los Cambios	Justificación del cambio
1	30/07/2015	Se cambia la versión y la fecha por actualización del slogan	Nuevo período de la Rectoría