



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

MANUAL ESQUEMATICO DE BIOQUIMICA GENERAL  
PARA LA CARRERA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**INGENIERA EN ALIMENTOS**

**P R E S E N T A**

**MIRIAM ALVAREZ VELASCO**

DIRECTOR DE TESIS: I.R.O. FRANCISCO MONTIEL SOSA

ASESOR DE TESIS: O.F.B. PATRICIA MIRANDA CASTRO

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1996

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



Departamento de  
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FEB-CUAUTITLÁN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Coballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA: "Manual Esquemático de Bioquímica General para la Carrera de Ingeniería en Alimentos".

que presenta la pasante: Miriam Álvarez Velasco  
con número de cuentas: 8701038-5 para obtener el TÍTULO de:  
Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 20 de Junio de 1996

PRESIDENTE	<u>I.B.Q. J. Francisco Montiel Sosa</u>	
VOCAL	<u>I.B.Q. Rosa M. Arriaga Orihuela</u>	
SECRETARIO	<u>Q.F.B. Ma. Esther Revuelta Miranda</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Q.F.B. Martha P. Zúñiga Cruz</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.B. Norma Laura Delgado Buenrostro</u>	

**Este manual se elaboró en el Dpto. de Ciencias Biológicas de la Facultad de Estudios Superiores. Cuautitlán. U.N.A.M., apoyado por la Fundación U.N.A.M., mediante el Programa de Becas para Tesis de Licenciatura en Proyectos de Investigación.**

En especial le dedicó todos estos años de esfuerzo :

**A DIOS.**

Por darme la gran oportunidad de "vivir".

"GRACIAS"

**Y**

**A MI MAMA. Con especial admiración.**

Por brindarme amor, ternura, apoyo, comprensión,  
cuidados, sacrificio incondicional y por creer en mi.

"GRACIAS INFINITAS" Mamá por haberme dado alojamiento  
en tu cuerpo y corazón desde el momento en que comence  
a existir.

"TE AMO"

**A MI PAPA.**

"GRACIAS" por que probablemente sin tu apoyo, no hubiera tenido  
la oportunidad de disfrutar a mi madre y lograr esta meta.

**AL COMPAÑERO DE MI VIDA.**

**QUERIDO ARTURO.**

**"GRACIAS" por tu comprensión, por ser mi apoyo, por ser el motor  
de mi vida y por compartir conmigo momentos inolvidables.**

**"TE AMO"**

**A MI BEBE, JUMPER.**

**El pensar en ti me hace sentir fé y esperanza.**

**"GRACIAS" por ser nuestra primer y gran ilusión.**

**A MI TIA LUPITA Y PAPA GEORGE.**

Por ser un ejemplo, por el amor y los cuidados que sólo unos padres pueden dar, así como por su apoyo incondicional.

**"GRACIAS"**

**A MIS HERMANOS. HORACIO, ARTURO, LUIS, ARMANDO, Y JORGE.**

Por ser cada uno de ustedes un ejemplo para mi y por estar siempre a mi lado.

**"GRACIAS"**

**A MI TIA KANKI.**

Por tu cariño, cuidados y apoyo.

**"GRACIAS"**

**A ROSITA.**

Por tu amistad, por tu apoyo incondicional y por creer en mi.

**"GRACIAS"**

**A MI PRIMA. AIDA**

Por compartir conmigo momentos importantes.

**"GRACIAS"**

**A OLIVIA Y ARMANDO.**

Por su apoyo y cariño hacia mi y mi mamá.

**"GRACIAS"**

**A MIS SOBRINOS.**

Espero que este trabajo y todo lo que el implica les sirva de incentivo para su vida profesional.

**A MARIA LUISA, SELENE Y CONY.**

Por compartir conmigo momentos importantes.

**A MIS PROFESORES.**

De la Escuela Primaria "Miguel Hidalgo".  
De la Escuela Secundaria Diurna No. 15 "Albert Einstein".  
Del "Colegio de Ciencias y Humanidades". Plantel Azcapotzalco  
De la "Facultad de Estudios Superiores". Cuautitlán. U.N.A.M.

Por su entrega y el mérito que encierra el haberme transmitido lo  
mejor de cada uno de ustedes.

"GRACIAS"

**AL I.B.Q. FRANCISCO MONTEL SOSA.**

Por las facilidades brindadas, la oportunidad de realizar mi trabajo de  
tesis y por creer en mi.

"GRACIAS"

**A LA Q.F.B. MARIA ESTHER REVUELTA MIRANDA.**

Por su apoyo, consejos y por creer en mi.

"GRACIAS"

**A MIS SINODALES.**

I.B.Q. FRANCISCO MONTEL SOSA.  
Q.F.B. PATRICIA MIRANDA CASTRO.  
I.B.Q. ROSA MANUELA ARRIAGA ORIHUELA.  
Q.F.B. MARIA ESTHER REVUELTA MIRANDA.  
Q.F.B. MARTHA PATRICIA ZUÑIGA CRUZ.  
Q.F.B. NORMA LAURA DELGADO BUENROSTRO.

"GRACIAS" por el tiempo brindado, por las observaciones realizadas y  
por ayudarme a enriquecer el presente trabajo.

**AL DPTO. DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA F.E.S.-CUAUTITLÁN. U.N.A.M.**

Gracias por las facilidades brindadas en la realización de éste trabajo.

**A LA "FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES". CUAUTITLÁN.**

"GRACIAS"

**A MI ALMA MATER.**

**"UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO"**

"GRACIAS"





**RESUMEN**

**PROLOGO**

**OBJETIVOS DEL TRABAJO**

**OBJETIVOS DEL CURSO**

**1. INTRODUCCION A LA BIOQUIMICA**

1.1. Importancia de la bioquímica, como materia esencial en las ciencias biológicas	1
1.2. Situación actual de la bioquímica	1
1.3. Importancia de la bioquímica en la Ingeniería en Alimentos.	2

**2. BIOLOGIA CELULAR**

2.1. Introducción	4
2.2. Niveles de organización	5
2.3. Célula procaríote y eucariote	7
2.3.1. Hechos importantes que revolucionaron a la biología celular	7
2.3.2. Definición de célula	7
2.3.3. Definición de célula procariótica	8
2.3.4. Definición de célula eucariótica	8
2.3.5. Estructura y función de organelos celulares en el eucariote	15
2.4. Ciclo y reproducción celular	17
2.4.1. Ciclo celular de los procariotas	17
2.4.2. Ciclo celular de los eucariotas	17
2.4.3. Mitosis y Meiosis	20
2.5. Metodología para estudiar la célula	21

2.5.1. Fraccionamiento de un extracto celular por homogenización seguida de una centrifugación diferencial	22
2.5.2. Microscopia	24
<b>3. AGUA</b>	
3.1. Introducción	25
3.2. Propiedades del agua	27
3.2.1. Naturaleza dipolar	28
3.2.2. Estructura tetraédrica	28
3.2.3. Estructura del hielo	29
3.2.4. Estructura del agua líquida	30
3.2.5. Como disolvente universal	32
3.2.5.1. Sales	33
3.2.5.2. Moléculas orgánicas	35
3.2.5.3. Moléculas anfipáticas	36
3.3. Producto iónica del agua	40
3.4. Disociación de ácidos débiles	43
3.5. Amortiguadores y capacidad de amortiguación	46
<b>4. AMINOACIDOS Y PROTEINAS</b>	
4.1. Introducción	48
4.2. Química de los aminoácidos	50
4.2.1. Definición de aminoácidos	50
4.2.2. Estructura general de un aminoácido	50
4.2.3. Estereoisómeros de $\alpha$ -aminoácidos	50
4.2.4. Clasificación de los aminoácidos en base a la polaridad del grupo "R"	54
4.2.5. Propiedades ácido-base de los aminoácidos	55
4.2.6. Principales reacciones de aminoácidos	58
4.2.6.1. Reacciones químicas del grupo alfa-amino	58

4.2.6.2. Reacciones químicas del grupo carboxilo	60
4.3. Enlace peptídico	61
4.3.1. Hidrólisis del enlace peptídico	63
4.4. Proteínas	65
4.4.1. Definición y función biológica de las proteínas	65
4.4.2. Clasificación de las proteínas en base a su estructura y solubilidad	66
4.4.3. Niveles estructurales de las proteínas	67
4.4.3.1. Estructura primaria	68
4.4.3.1.1. Determinación de la secuencia aminoácida de las cadenas de los polipéptidos	69
4.4.3.2. Estructura secundaria	72
4.4.3.3. Estructura terciaria	77
4.4.3.4. Estructura cuaternaria	80
4.4.4. Desnaturalización de las proteínas	82
5. ENZIMAS	
5.1. Introducción	88
5.2. Antecedentes	91
5.3. Propiedades generales de las enzimas	93
5.4. Composición de las enzimas	95
5.4.1. Cofactores	95
5.4.2. Coenzimas	96
5.5. Función termodinámica de las enzimas	97
5.5.1. Energía de activación	97
5.6. Especificidad enzimática	100
5.6.1. Algunas características de los centros activos	100
5.7. Clasificación internacional de enzimas basada en la reacción que catalizan	104
5.8. Nomenclatura de Enzimas	104

5.9. Cinética Enzimática	107
5.9.1. Etapas Algebraicas de la deducción moderna de la ec. de Michaelis-Menten	108
5.9.2. Modificaciones algebraicas a la ec. de Michaelis (V vs S)	112
5.9.3. Inhibición enzimática	114
5.9.3.1. Principales mecanismos de inhibición enzimática	116
5.9.4. Factores que modifican la actividad enzimática	117
5.9.4.1. Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática	117
5.9.4.2. Efecto del pH sobre la actividad enzimática	118
5.10. Enzimas reguladoras	119
5.10.1. Enzimas alostéricas	120
5.10.2. Enzimas reguladas covalentemente	124
6. BIOENERGETICA Y PRODUCCION CELULAR DE ATP	
6.1. Introducción	126
6.2. Conceptos de termodinámica	128
6.2.1. Energía libre	128
6.2.2. Energía libre estándar	129
6.3. ATP	135
6.3.1. Ciclo del ATP	135
6.3.2. Características estructurales del ATP	139
6.3.3. Energía libre de hidrólisis del ATP en las células intactas	140
6.4. Etapas en la extracción de energía de los alimentos	142
6.4.1. Glucólisis o Glicólisis o vía de Embden-Meyerhof	144
6.5. Respiración celular	149
6.5.1. Fase 1. Producción de acetilcoenzima A	152
6.5.2. Fase 2. Ciclo de Krebs	154
6.5.3. Fase 3. Cadena respiratoria y fosforilación oxidativa	159

6.5.3.1. Cadena respiratoria	159
6.5.3.2. Fosforilación oxidativa	163
6.6. Fotosíntesis	171
6.6.1. Cloroplastos. Sitio celular de la fotosíntesis	173
6.6.2. Fase luminosa de la fotosíntesis	174
6.6.2.1. Diagrama Z	177
6.6.3. Fase oscura de la fotosíntesis	178
6.6.3.1. Ciclo de Calvin	178
<b>7. BIOLOGIA MOLECULAR</b>	
7.1. Introducción	179
7.2. Moléculas constituyentes de los ácidos nucleicos	182
7.2.1. Nucleótidos. Componentes monoméricos de los ácidos nucleicos	184
7.2.1.1. Composición de los nucleótidos	184
7.2.1.2. Estructura de nucleótidos	184
7.2.1.3. Azúcares. Ribosa en el RNA y Desoxirribosa en el DNA	185
7.2.2. Bases nitrogenadas. Purinas y Pirimidinas	187
7.2.3. Nucleósidos	189
7.2.3.1. Estructura de los nucleósidos	189
7.2.4. Enlace 3' ⇒ 5' fosfodiéster	191
7.2.4.1. Esqueleto covalente de las cadenas polinucleotídicas	191
7.2.4.2. Hidrólisis del enlace fosfodiéster	193
7.3. DNA	195
7.3.1. Antecedentes	195
7.3.1.1. Estructura del material genético	195
7.3.1.2. El DNA almacena la información genética	198
7.3.2. Modelo de la doble hélice del DNA de Watson y Crick	204

7.3.3. Desnaturalización del DNA	209
7.4. RNA	212
7.4.1. Estructura del RNA	212
7.4.2. Clases de RNA	213
7.4.2.1. RNA mensajero	214
7.4.2.1.1. Intrones y Exones	215
7.4.2.2. RNA de transferencia	218
7.4.2.3. RNA ribosomal	222
7.5. Extracción y aislamiento de los ácidos nucleicos	226
7.6. Dogma Central de la biología molecular	227
7.6.1. Replicación del DNA	229
7.6.1.1. Enzimología de la replicación del DNA	235
7.6.1.1.1. Características básicas	235
7.6.1.1.2. La DNA polimerasa puede leer las pruebas y corregir los errores	240
7.6.2. Transcripción	241
7.6.2.1. RNA polimerasa	242
7.6.2.2. Proceso de la transcripción	243
7.6.3. Traducción	248
7.6.3.1. Código genético	252
8. QUÍMICA Y METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS	
8.1. Introducción	259
8.2. Química de los carbohidratos	261
8.2.1. Función biológica	261
8.2.2. Clasificación de carbohidratos	262
8.2.3. Propiedades y estructuras de monosacáridos	264
8.2.3.1. Familias de monosacáridos. Aldosas y Celosas	264

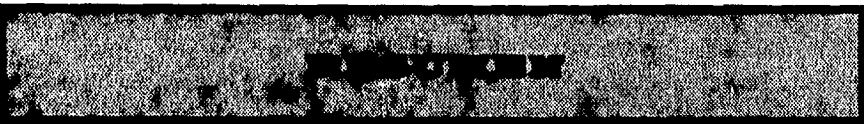
8.2.3.2. Centros asimétricos de los monosacáridos comunes	266
8.2.3.3. Los monosacáridos comunes aparecen en forma cíclica	270
8.2.3.4. Conformación espacial de los anillos piranósicos y furanósicos	275
8.2.3.5. Los monosacáridos simples son reductores	276
8.2.4. Propiedades y estructura de disacáridos	277
8.2.5. Propiedades y estructuras de los principales polisacáridos	283
8.3. Metabolismo de carbohidratos	291
8.3.1. Metabolismo del glucógeno	291
8.3.1.1. Glucogenesis	291
8.3.1.2. Glucogenólisis	293
8.3.2. Gluconeogénesis	295
8.3.3. Vía de oxidación directa (ciclo de pentosas)	297
<b>9. QUÍMICA DE LOS LÍPIDOS</b>	
9.1. Introducción	300
9.2. Química de los lípidos	301
9.2.1. Definición	301
9.2.2. Función biológica	302
9.2.3. Clasificación de lípidos	302
9.2.4. Propiedades de ácidos grasos saturados e insaturados	304
9.2.4.1. Ácidos grasos	304
9.2.4.2. Saturación e insaturación	304
9.2.5. Propiedades de las grasas y los aceites	308
9.2.5.1. Características de los triacilglicéridos	312
9.2.6. Propiedades de los esteroides	313
9.3. Metabolismo de lípidos	315
9.3.1. Hidrólisis de triacilglicéridos por lipasas	315

9.3.2. Oxidación de ácidos grasos	316
9.3.2.1. Vía de la $\beta$ -oxidación	317
9.3.3. Síntesis de ácidos grasos	320
9.3.3.1. Regulación en la síntesis de ácidos grasos	322
9.3.4. Síntesis del colesterol	323
<b>10. INTEGRACION METABOLICA</b>	
10.1. Introducción	328
10.2. Vía metabólica de carbohidratos	330
10.3. Vía metabólica de aminoácidos	331
10.4. Vía metabólica de ácidos grasos	332
<b>11. PRINCIPIOS Y TECNICAS DE BIOQUIMICA EXPERIMENTAL</b>	
11.1. Introducción	333
11.2. Técnicas electroforéticas	334
11.2.1. Fundamento general de la electroforesis	334
11.2.2. Electroforesis en papel	336
11.2.3. Electroforesis en acetato de celulosa	338
11.2.4. Electroforesis de capa fina	338
11.2.5. Electroforesis en gel	339
11.2.6. Electroforesis en geles de poliacrilamida	339
11.2.7. Electroforesis en geles de almidón	347
11.2.8. Electroforesis en geles de agar	347
11.3. Diálisis	348
11.3.1. Fundamento	348
11.4. Técnicas cromatográficas	349
11.4.1. Fundamentos generales de la cromatografía	349
11.4.2. Cromatografía de filtración por gel	351



11.4.3. Cromatografía de intercambio iónico	355
11.4.4. Cromatografía de afinidad	359
11.4.5. Cromatografía en papel	362
11.5. Metodología general realizada a un material biológico para la extracción y estudio de biomoléculas	365
Comentario	366
Conclusiones	366
Bibliografía	367

Miriam Alvarez Velasco



El manual esquemático de bioquímica general para la carrera de *Ingeniería en Alimentos*, pretende ser un material didáctico actualizado que apoye el curso teórico de la materia, para de ésta manera facilitar y reforzar la comprensión de los principios bioquímicos y motivar de inmediato a los estudiantes, aún si tienen orientaciones académicas muy diversas.

El manual comienza con capítulos sobre la estructura celular y algunos principios de química orgánica de relevancia respecto a las biomoléculas; de este modo puede resultar útil para aquellos cuyos conocimientos de biología sean mínimos. Después de considerar las propiedades del agua en el capítulo 3, se describe con detalle la estructura y las funciones biológicas de las aminoácidos y proteínas. Las enzimas y la regulación de la actividad enzimática se tratan después en profundidad. En seguida, el manual se ocupa de la bioenergética y del metabolismo celular. Una instrucción completa acerca de la bioenergética de la célula va seguida de discusiones detalladas sobre la glucólisis, el ciclo del ácido cítrico, el transporte electrónico y la fosforilación oxidativa, así como de la fotosíntesis.

Se trata posteriormente un capítulo de biología molecular, debido a su importancia, ya que los conocimientos sobre esta área de la bioquímica van creciendo de un modo asombroso, obteniendo logros y descubrimientos espectaculares, por citar algunos ejemplos; el incorporar genes en el interior de las células de otras especies, y el empleo de éstas células "productoras" para elaborar muchas proteínas nuevas, que son de utilidad desde distintos puntos de vista. Realmente ha comenzado una nueva era en la genética bioquímica, que sin duda influirá en muchos aspectos de la salud y del comportamiento humano en los años venideros.

Posteriormente se trata la química y metabolismo de carbohidratos y lípidos, temas de gran relevancia para todo Ingeniero en Alimentos o profesional del área, ya que una parte importante del manejo adecuado de los alimentos, se basa indiscutiblemente en el conocimiento básico de las componentes que los conforman.

Una de las partes importantes de la bioquímica son las técnicas instrumentales y de laboratorio; por consiguiente, en el último capítulo se presentan, las explicaciones y los esquemas de varias métodos.

Estas explicaciones dan a los estudiantes la oportunidad de conocer técnicas específicas, como la cromatografía por intercambio iónico, la electroforesis y el enfoque isoelectrico, entre otras.

*Miriam Alvarez Velasco*

## PROLOGO

En nuestra facultad se imparten cursos de Bioquímica a las carreras de M.V.Z., Ingeniero Agrícola, Q.F.B., Química, e Ingeniero en Alimentos, ya que es una asignatura esencial de las ciencias biológicas, así mismo en evaluaciones efectuadas por diferentes instancias de la facultad, ésta asignatura es considerada con alto índice de alumnos no acreditados, sobre todo en las cuatro primeras carreras.

En la carrera de ingeniero en alimentos, se imparte la asignatura de bioquímica general en el cuarto semestre de la carrera con dos o tres grupos por semestre. El programa de la asignatura a pesar de presentar temas básicos, se enfrenta con el problema de que con cinco horas a la semana de clase, no es suficiente para cubrir de la mejor manera el contenido del curso, y limita el poder efectuar actividades complementarias de aprendizaje que podrían hacer más eficiente el proceso de enseñanza.

Por otro lado, la asignatura, como casi todas las de la carrera únicamente contempla una parte teórica, siendo difícil involucrar al alumno en conocimientos que requieren de las principales herramientas experimentales de la bioquímica.

Así mismo, la ciencia de la bioquímica como la mayoría de las ciencias biológicas, se encuentra en constante avance, lo que hace necesario una permanente actualización de los conocimientos y por lo tanto de la bibliografía utilizada tanto por el personal académico como por los estudiantes de las diferentes carreras.

Por lo anterior, se decidió iniciar un trabajo bibliográfico, que permitiera elaborar un manual esquemático de bioquímica, que aunque se propone como apoyo didáctico para la bioquímica general de la carrera de

**Miriam Alvarez Velasco**

Ingeniería en Alimentos, puede ser de utilidad para los otros siete cursos de bioquímica que se ofrecen a las carreras antes mencionadas.

En este manual, se presentan, tablas, figuras, esquemas, rutas metabólicas de importancia en las diferentes unidades programáticas del curso, así como una breve introducción del tema correspondiente, con el propósito de que al utilizarlo como material de apoyo por estudiantes y profesores, no sólo será un elemento que facilite el aprendizaje, sino que favorecerá la participación del estudiante en forma activa a lo largo del curso, así mismo, puede permitir disminuir un poco el tiempo utilizado en la revisión de las diferentes unidades.

Este manual presentará además una unidad correspondiente a la metodología más importante utilizada en el laboratorio de docencia e investigación en bioquímica, en ella se presentan en forma esquemática los principales fundamentos de los métodos del análisis bioquímico, así como de los principales equipos utilizados con estos propósitos, lo anterior sólo se presenta en algunos textos especializados.

## OBJETIVOS DEL TRABAJO

### OBJETIVO GENERAL

Revisar, evaluar, seleccionar, y sintetizar en base al programa del curso teórico, el material didáctico que servirá de apoyo al proceso enseñanza-aprendizaje para la materia de bioquímica general, impartida en la carrera de ingeniería en alimentos.

### OBJETIVOS PARTICULARES

1. Efectuar revisiones bibliográficas, que permitan identificar los textos más actualizados y que proporcione los mejores materiales esquemáticos que apoyen las unidades del curso teórico.
2. Señalar en los diferentes capítulos una introducción y además modelos de aplicación en el campo de los alimentos.
3. Elaborar un capítulo que ilustre los fundamentos experimentales de la bioquímica.



### **OBJETIVO GENERAL**

- Los alumnos comprenderán las propiedades fisicoquímicas de los componentes moleculares de los sistemas biológicos.
- Describir las formas por las cuales se asocian los componentes moleculares, para permitir niveles superiores de organización en la célula.
- Integrar los diferentes procesos bioquímicos que ocurren en las células.
- Explicar la importancia de los conocimientos de las moléculas biológicas, en la ciencia y tecnología de los alimentos.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Concluir la importancia de la bioquímica en las ciencias biológicas y para el Ingeniero en Alimentos.
- Describir las diferencias que existen entre células procariontes y eucariontes.
- Revisar los aspectos más importantes de la composición y estructura de los organelos celulares.
- Ilustrar las principales propiedades fisicoquímicas del agua que son de importancia para los sistemas biológicos.
- Reafirmar los conocimientos de la química de los aminoácidos y contrastar las diferentes propiedades funcionales de las proteínas.

**Miriam Alvarez Velasco**

- Integrar las diferentes propiedades de los catalizadores biológicos, que permitan comprender su importancia para el metabolismo celular así como puntualizar su aplicación en diferentes campos de la industria.
- Distinguir las características estructurales del Adenosin trifosfato (ATP), que le permiten ser la molécula más importante en los procesos de transferencia de energía en la molécula.
- Agrupar las diferentes etapas de la respiración celular, que permiten la obtención de energía a partir de los principales combustibles de nuestros alimentos.
- Reconocer los diferentes componentes estructurales de los ácidos nucleicos.
- Revisar los eventos moleculares implicados en la replicación del material genético y diferenciar los procesos moleculares que permiten la expresión genética.
- Demostrar las principales funciones y propiedades de los carbohidratos y revisar las rutas metabólicas más importantes que involucra a los carbohidratos.
- Resumir las funciones y propiedades de los lípidos en los sistemas biológicos así como modelar las principales vías metabólicas de obtención de energía para los lípidos.
- Verificar la metodología más común de la caracterización de las proteínas.

## 1. INTRODUCCIÓN A LA BIOQUÍMICA

### 1.1. IMPORTANCIA DE LA BIOQUÍMICA, COMO MATERIA ESENCIAL EN LAS CIENCIAS BIOLÓGICAS

La bioquímica es el estudio de la base molecular de la vida. (12)

El objetivo fundamental de la ciencia bioquímica es el determinar como interactúan unos con otros los conjuntos de moléculas inertes que constituyen los organismos vivos a fin de mantener y perpetuar el estado vital. Indudablemente que la bioquímica proporciona explicaciones importantes y aplicaciones prácticas en medicina, agricultura, nutrición y en la industria, pero su preocupación última es el prodigio de la vida y de los organismos vivos. (27)

Las moléculas de las que se componen los organismos vivos cumplen todas las leyes familiares de la química, pero también se influyen entre sí de acuerdo con otro conjunto de principios a los que nos referimos colectivamente como la *lógica molecular del estado vital*. Son un conjunto único de relaciones que caracterizan la naturaleza, la función y las interacciones de las *biomoléculas*, es decir, la clase de moléculas que se encuentran en los organismos vivos. (28)

### 1.2. SITUACIÓN ACTUAL DE LA BIOQUÍMICA

Existe un gran interés y actividad en la bioquímica actual por varias razones.



- En primer lugar, porque ahora se comprenden las bases químicas de algunos procesos centrales de la biología.
- En segundo lugar, existen vías moleculares y principios comunes que son la base de las diversas expresiones de vida. Organismos tan diferentes como la bacteria *E. coli* y el hombre, tienen muchas características comunes a nivel molecular. (42)
- En tercer lugar, la bioquímica influye muy profundamente en la medicina, (dilucidando p. ej. errores innatos del metabolismo y mecanismos moleculares de muchas enfermedades). (42)
- Cuarto el rápido desarrollo de la bioquímica en años recientes ha permitido a los investigadores resolver algunos de los más desafiantes y fundamentales problemas de la biología y de la medicina. (42)

### 1.3. IMPORTANCIA DE LA BIOQUÍMICA EN LA INGENIERÍA EN ALIMENTOS

- En las últimas décadas han aumentado en forma muy considerable nuestros conocimientos sobre bioquímica; el descubrimiento de las rutas metabólicas utilizadas por las células, tanto de animales como de vegetales, ha hecho que con base en la bioquímica hayan nacido otras ciencias, como la enzimología, que tiene una gran importancia en alimentos; p. ej., el control celular de la actividad enzimática disminuye una vez recolectados los alimentos, por lo que los sustratos están más expuestos a la hidrólisis y a la oxidación. La producción creciente de alimentos frescos refrigerados ha hecho que aumente el conocimiento sobre la capacidad de los enzimas para alterar el color y producir manchas en los alimentos. (35)

- El bioquímico de los alimentos debe ser capaz de justificar frente al fabricante y el consumidor la optimización del contenido de nutrientes en los alimentos. (35)
- En el futuro la bioquímica de los alimentos será capaz de diseñar nuevas formas de intensificación de los aromas y sabores de los alimentos tanto frescos como congelados y fermentados. (35)
- Las agencias reguladoras están modificando sus recomendaciones acerca de la ingesta diaria de proteínas, grasas, minerales y vitaminas por grupos de población, de forma que todos estos factores han hecho que los fabricantes de productos alimentarios reexaminen sus ingredientes y reevalúen sus procesos. (35)
- Para toda Ingeniera en Alimentos, Tecnóloga en Alimentos o profesional del área es indispensable conocer la bioquímica de las componentes básicas de un alimento, con el fin de transformarlo de la manera más adecuada; procurando que su valor nutricional, así como sus características de sabor, y en algunos casos de textura y apariencia no se pierdan, o bien se mejoren. El conocer las propiedades de un componente alimenticio puede ser útil para lograr mejorar la apariencia de un alimento procesado o natural.

## 2.1. INTRODUCCION

Mediante un proceso no comprendido todavía y en un espacio de tiempo difícil de calcular elementos tales como el carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno y fósforo se combinaron, dispersaron y recombinaron para formar una serie de moléculas hasta conseguir una combinación capaz de autorreplicarse. Por evolución continua y la formación de moléculas cada vez más complejas, el entorno de estas moléculas autorreplicativas quedó encerrado por una membrana. Esta mejora confirió a las moléculas la importante ventaja de que ellas podían controlar hasta cierto punto su propio entorno. La vida tal y como ahora la conocemos, había aparecido. Conjuntamente con la vida se estableció la unidad funcional y vital: la *CELULA*. Con el paso del tiempo se desarrollaron una serie de células y su química y su estructura se hicieron más complejas. Muchas de las reacciones que tienen lugar en las células se pueden repetir en el tubo de ensayo, pero el reto de la investigación bioquímica es descubrir los mecanismos que están detrás de la forma organizada y controlada en que las células realizan estas reacciones. (1)

Los compuestos orgánicos más simples a partir de los cuales se construyen los organismos vivos son los llamados biomoléculas. Estos compuestos sencillos, fueron seleccionados durante el curso de la evolución biológica por su capacidad para desempeñar funciones celulares específicas. Son idénticos en todos los organismos. Las biomoléculas se relacionan entre sí y ejercen sus interacciones en una especie de lógica o "juego" molecular. El tamaño, la forma y la reactividad química de las biomoléculas, les permite no solamente desempeñar el papel de sillares de la intrincada estructura celular, sino participar, también, en su dinámica; es decir, en las transformaciones de energía y de materia de autamantenimiento. Por ello, las biomoléculas deben examinarse desde dos puntos de vista, el del químico y el del biólogo. La bioquímica es superquímica. (27)

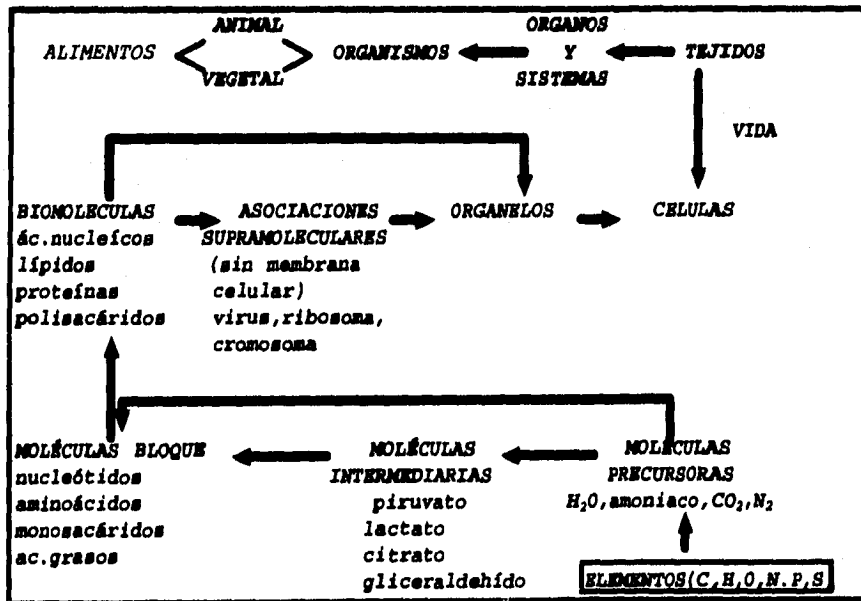


Figura 2-1 Niveles de Organización.  
FUENTE: ALBERTS, ET.AL 1990 Y DARNEL, J. 1988

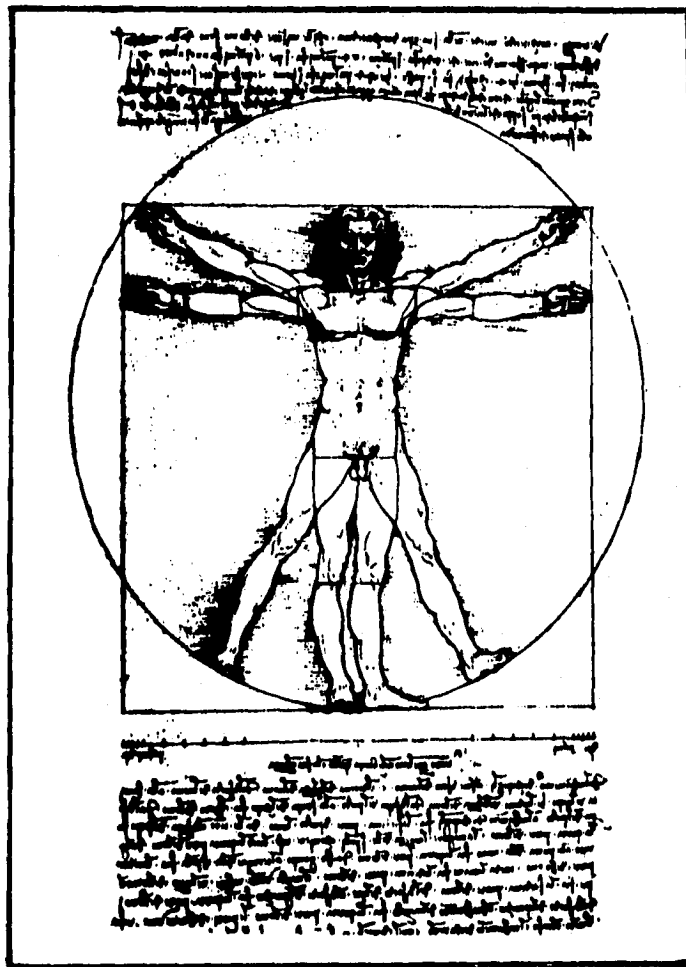


Figura 2-2 Ilustración manuscrita de Leonardo de Vinci: "Las proporciones del hombre". En el cuerpo humano adulto hay unas  $10^{14}$  células, cada una de ellas constituida por un conjunto de biomoléculas en proporción específica y poseyendo una ultraestructura característica. Las células están agrupadas en tejidos y éstos en órganos, los cuales, por su parte, constituyen sistemas de órganos, de modo que sus actividades bioquímicas se hallan coordinadas maravillosamente en un organismo que no solamente existe y ejecuta, sino que también piensa y crea.

FUENTE: LEONINGER, 1991

**2.3. CELULA PROCARIOTA Y EUCARIOTA**

**2.3.1. HECHOS IMPORTANTES QUE REVOLUCIONARON A LA BIOLOGIA CELULAR**

1. El invento del microscopio. Anton Van Leewenhaek (1590-1610).
2. Postulación de la Teoría Celular. Matthias Jacob Schleiden y Theodor Schwann(1835-39).
3. El Postulado del Modelo Estructural del ADN, James D. Watsan y Francis H.C. Crick (1953).

**2.3.2. DEFINICION DE CELULA**

Es la unidad funcional que asociada a otras, permite la formación y el funcionamiento de tejidos, órganos y organismos. Es la unidad fundamental de todos los seres vivos.

Los organismos más pequeños están constituidos por una sola célula, lo que contrasta con la creencia de que el cuerpo humano contiene, por lo menos,  $10^{14}$  células. Existen muchos tipos de células diferentes, que varían en tamaño, de forma y en funciones especializadas (fig. 2.3). (34)

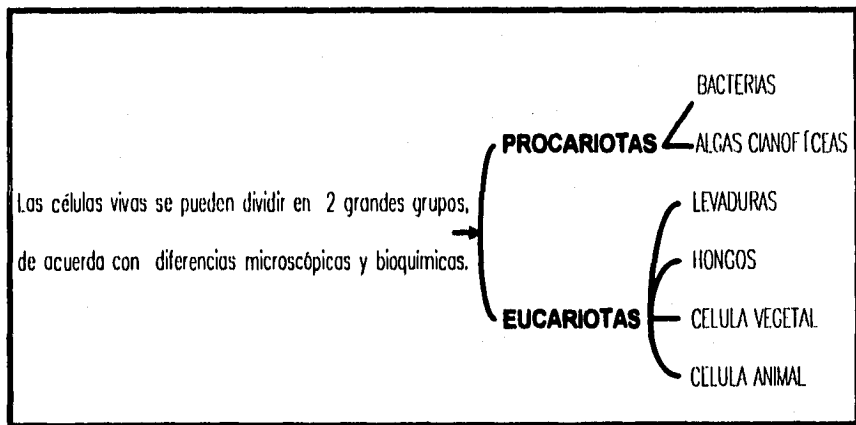


Figura 2-3 CLASES DE CELULAS. Procariotas y Eucariotas.  
FUENTE: DAINZ, 1988

Dougherty fue el primero en proponer, en 1957, los adjetivos procariótico y eucariótico para describir a las células. Estos términos son de uso común en la actualidad. Por definición. (Conn-Stumpf).

### **2.3.3. LAS CELULAS PROCARIOTICAS**

Son aquellas que presentan un mínimo de organización interna. No poseen componentes del tipo de los organelos recubiertas por una membrana, su material genético tan poco esta encerrado en una membrana nuclear y sus DNA son incapaces de formar complejas con las histonas (de hecho, no se encuentran histonas en éstas células, ver capítulo 7), su reproducción sexual no se efectúa mediante procesos de mitosis ni de meiosis y su sistema respiratorio se asocia íntimamente a su propia membrana plasmática. (9)(13)

### **2.3.4. LA CELULA EUCARIOTICA**

Tiene una estructura interna bastante desarrollada; así como gran número de organelos características separados por membranas; en el núcleo se localizan las componentes informativas que colectivamente se denominan "cromatina" (ver capítulo 7). La reproducción abarca ambos procesos, la mitosis y la meiosis; la respiración se localiza en la mitocondria y en las células vegetales la conversión de energía radiante a energía química se realiza en los cloroplastos. (9)(13)

En la tabla 2-1 se hace una comparación general de las células de tipo procariótico y eucariótico; y en la figura 2-5 y 2-6 se muestran ejemplos de estos dos grupos de células.

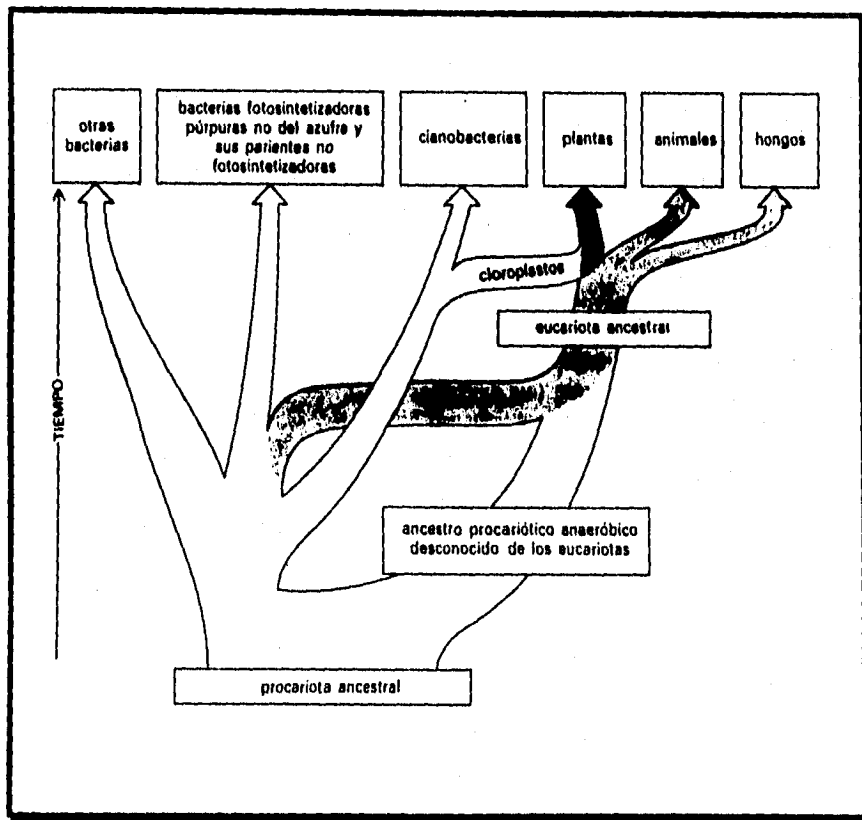


Figura 2-4 Hipotético origen de los eucariotas, por simbiosis de procariotas aeróbicos y anaeróbicos  
FUENTE: ALBERTS ET AL. 1990



Tabla 2-1 Comparación Entre Organismos Procarióticos Y Eucarióticos.

	PROCARIOTAS	EUCARIOTAS
ORGANISMOS	BACTERIAS Y CIANOBACTERIAS	PROTISTAS, HONGOS, PLANTAS Y ANIMALES
TAMAÑO CELULAR	GRALMENTE DE 1 A 10 $\mu\text{m}$ EN DIMENSION LINEAL	GRALMENTE DE 10 A 100 $\mu\text{m}$ EN DIMENSION LINEAL
METABOLISMO	ANAEROBICO O AEROBICO	AEROBICO
ORGANELOS	POCOS O NINGUNO	NUCLEO, MITOCONDRIA, CLOROPLASTO, ETC.
DNA	DNA circular en el citoplasma	DNA ORGANIZADO EN CROMOSOMAS Y RODEADO POR LA ENVOLTURA NUCLEAR
RNA Y PROTEINA	RNA Y PROTEINA SINTETIZADOS EN EL MISMO COMPARTIMIENTO	RNA SINTETIZADO Y TRANSFORMADO EN EL NUCLEO; PROTEINAS SINTETIZADAS EN EL CITOPLASMA
CITOPLASMA	SIN CITOESQUELETO	CITOESQUELETO FORMADO POR FILAMENTOS PROTEICOS
DIVISION CELULAR	POR FISION BINARIA, ENTRE OTRAS.	POR MITOSIS (O MEIOSIS)
ORGANIZACION CELULAR	PRINCIPALMENTE UNICELULAR	PRINCIPALMENTE PLURICELULAR, CON DIFERENCIACION DE LAS CELULAS
RIBOSOMAS	70S	80S
MEMBRANA PLASMAT.	MENOS COMPLEJA	MAS COMPLEJA
RET. ENDOPLASM.	NO	SI
APARATO DE GOLGI	NO	SI
PARED CELULAR	DIF. COMPOSICION	SOLO EN C. VEGETAL
LISOSOMA	NO	SI

FUENTE: ALBERTS ET AL., 1990

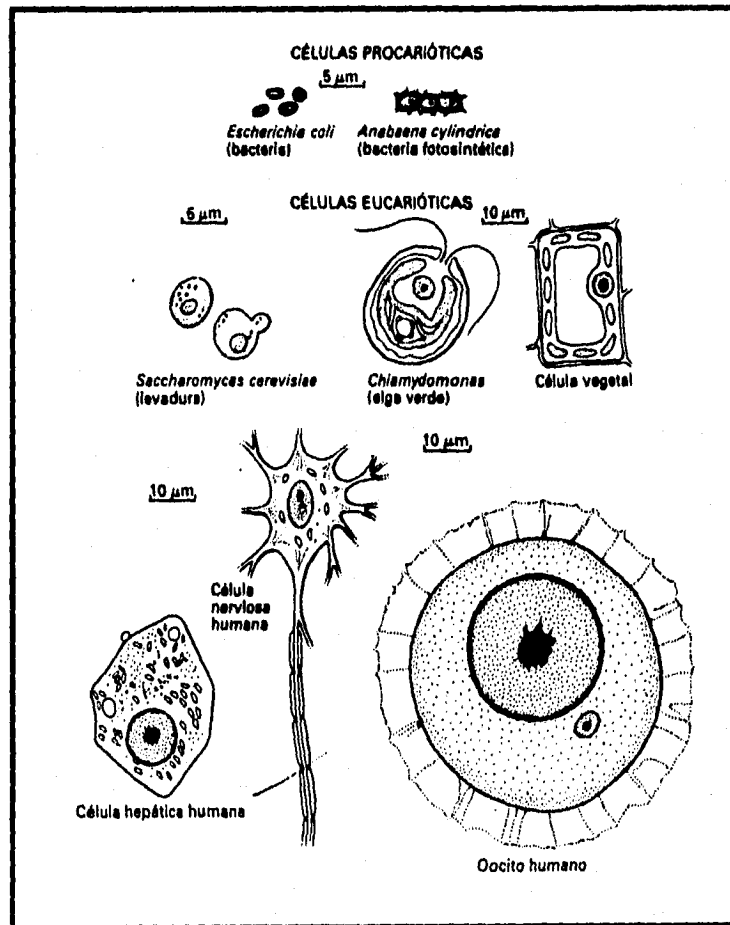


Figura 2-5 Algunos ejemplos de células procariotes y eucariotes.

FUENTE: DARNEL, 1966

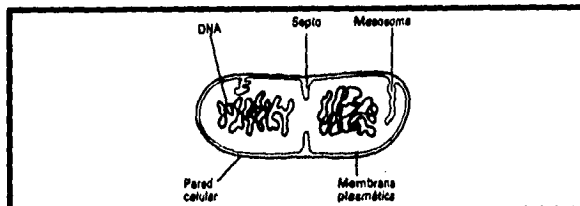


Figura 2-6 Célula procariote típica. Célula bacteriana.

FUENTE: DARNEL, 1966

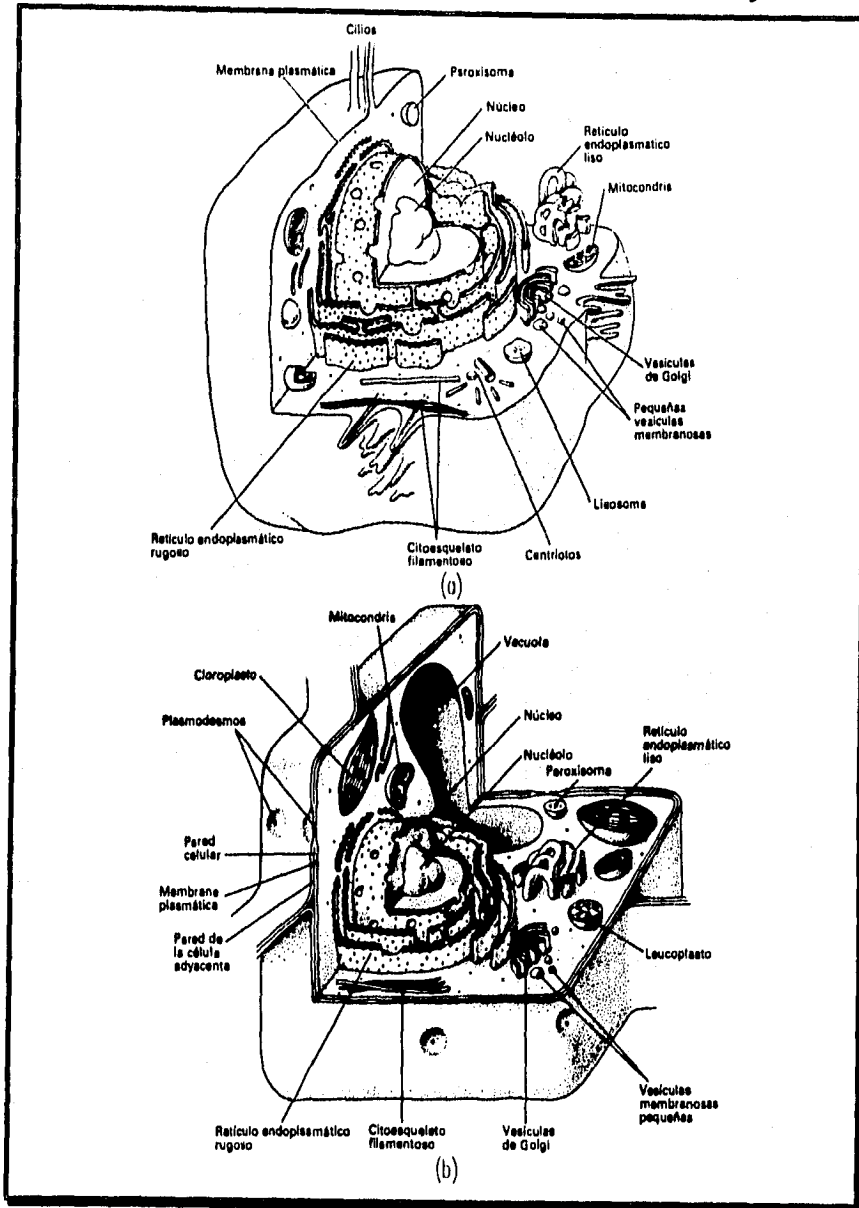


Figura 2-7 Tipos de célula eucariote. a) Célula típica animal. b) Célula típica vegetal.  
FUENTE: DARNEL, 1968

A continuación se muestra, la composición molecular predominante de los diferentes elementos estructurales de una célula vegetal.

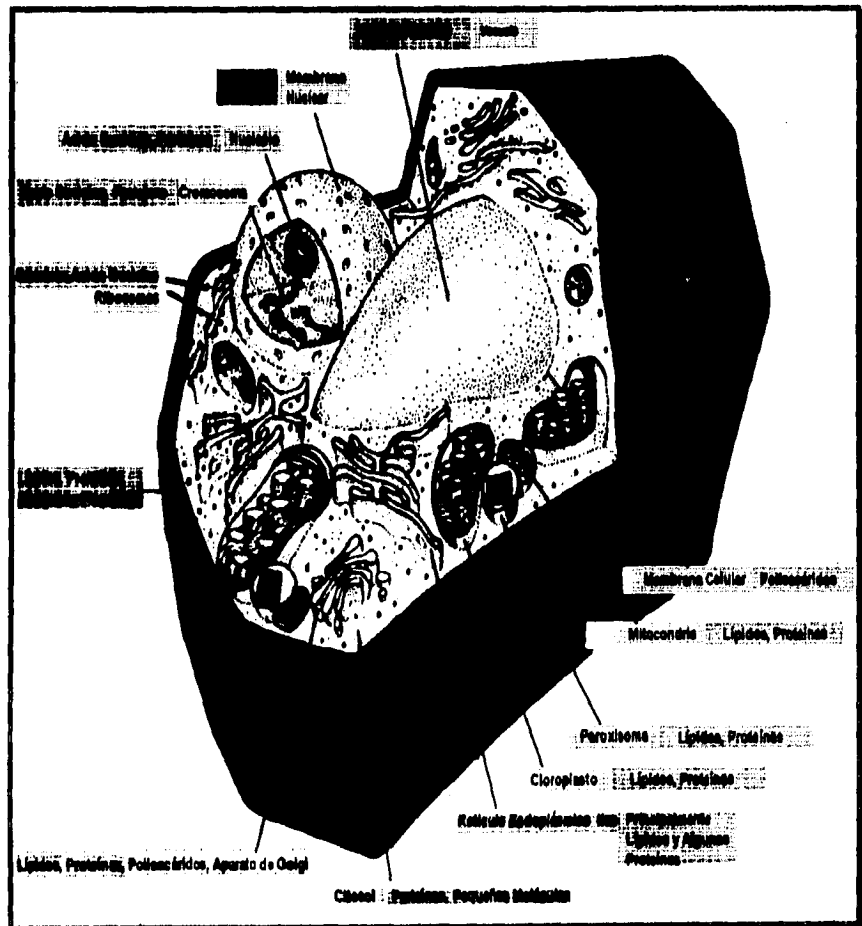


Figura 2-8 Distribución de biomoléculas en una célula vegetal.

FUENTE: MATHEWS, 1990

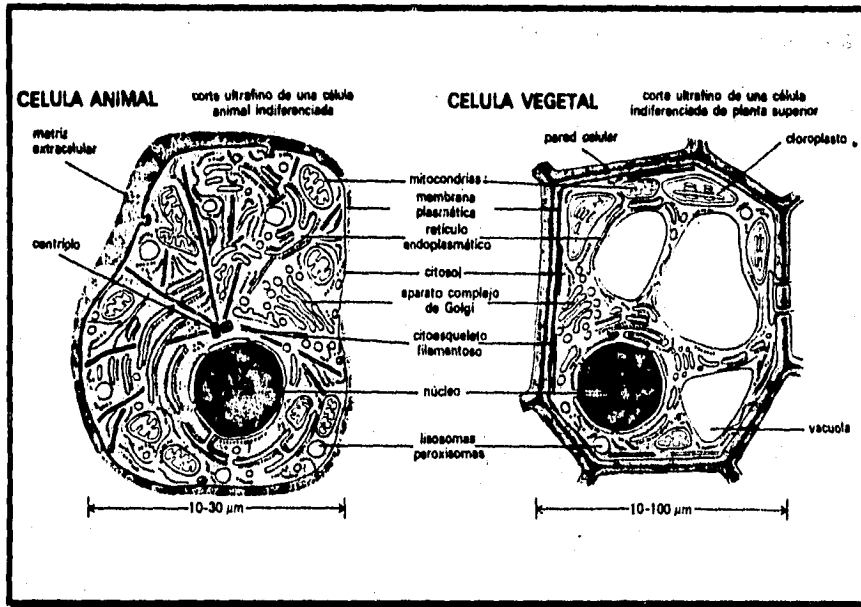


Figura 2.9 Diferencias entre la célula animal y la vegetal.

FUENTE: ALBERTS, ET AL., 1990

Tabla 2-2 Dimensiones De Algunas Estructuras Biológicas.

ESTRUCTURA	DIMENSION LONGITUDINAL nm
ALANINA, UN AMINOACIDO	0,5
GLUCOSA, UN AZUCAR	0,7
MIOGLOBINA, PROTEINA PEQUERA	3,6
HEMOGLOBINA	6,8
RIBOSOMA DE <i>E.coli</i>	18
CELULA HEPATICA	20 000
CLOROPLASTO DE CELULA DE HOJA DE ESPINACA	8 000

FUENTE: LEWINGER, 1991

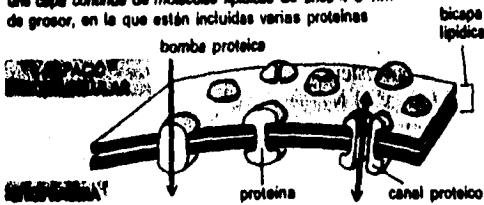
### 2.3.5. ESTRUCTURA Y FUNCION DE ORGANELOS CELULARES EN EI

#### EUCAROTE

#### El Sistema de Membranas de la Célula

##### MEMBRANA PLASMÁTICA

El límite externo de la célula es la membrana plasmática, una capa continua de moléculas lipídicas de unos 4-5 nm de grosor, en la que están incluidas varias proteínas



Algunas de estas proteínas actúan de bombas y canales para el transporte de moléculas específicas hacia fuera y hacia dentro de la célula.

##### APARATO DE GOLGI

Un sistema de sáculos apilados, rodeados de membranas y apilados, implicados en la modificación, selección y empaquetamiento de macromoléculas para la secreción o para la exportación a otros orgánulos



Alededor del aparato de Golgi se encuentran numerosas vesículas pequeñas rodeadas de membrana (de 50 nm o mayores). Se cree que transportan material del aparato de Golgi a los diferentes compartimentos de la célula.

##### RETICULO ENDOPLASMÁTICO

Cisternas, sáculos y tubos aplanados de sistemas membranosos se extienden por todo el citoplasma de las células eucariotas, rodeando un amplio espacio intracelular. La membrana del RE se halla en continuidad estructural con la membrana externa de la envoltura nuclear y está especializada en la síntesis y en el transporte de lípidos y proteínas de membrana.

El retículo endoplasmático rugoso (ER rugoso) se suele presentar como sáculos aplanados y está externamente recubierto por ribosomas, dedicados a la síntesis proteica.



El retículo endoplasmático liso (RE liso) suele ser más tubular y carece de ribosomas. Su principal función se centra en el metabolismo lipídico.



##### LISOSOMAS

vesículas rodeadas de membrana que contienen enzimas hidrolíticas destinados a las digestiones intracelulares



0,2-0,5 μm

##### PEROXISOMAS

vesículas rodeadas de membrana que contienen enzimas oxidativas que generan y destruyen al peróxido de hidrógeno

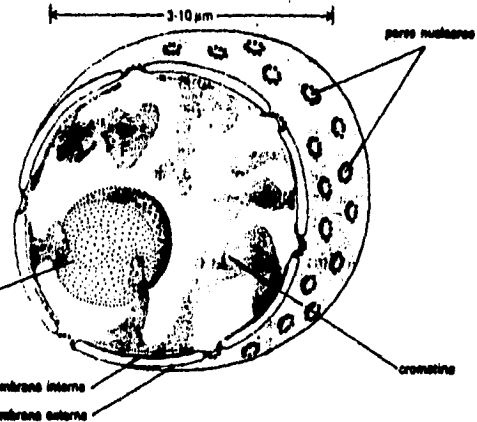


0,2-0,5 μm

**NUCLEO**

El núcleo es el orgánulo más conspicuo de la célula. Está separado del citoplasma por una envoltura formada por dos membranas. Toda el ADN cromosómico se encuentra en el núcleo, empaquetado en fibras de cromatina gracias a su asociación con una cantidad igual de proteínas histónicas. El contenido nuclear (nucleoplasma) se comunica con el citosol por medio de unas aberturas de la envoltura nuclear denominadas poros nucleares.

núcleo: una fábrica dentro del núcleo, donde se ensamblan los ribosomas de la célula



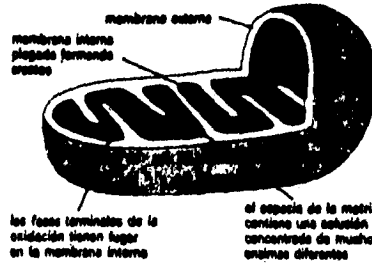
**CITOSQUELETO**

En el citosol, unas agrupaciones de filamentos proteicos forman redes que confieren a la célula su forma y que constituyen la base de sus movimientos. En las células animales, el citoesqueleto está estrictamente organizado a partir de un área cercana al núcleo que contiene el par de centriolos de la célula. Tres tipos principales de filamentos del citoesqueleto son:

- 1) Microtúbulos 25 nm diámetro
- 2) Filamentos de actina 7 nm diámetro
- 3) Filamentos intermedios 10 nm diámetro

**MITOCONDRIAS**

Aproximadamente del tamaño de las bacterias, las mitocondrias son los centros energéticos de todas las células eucariotas; utilizan la energía obtenida combiendose oxígeno con moléculas nutritivas, produciendo ATP.

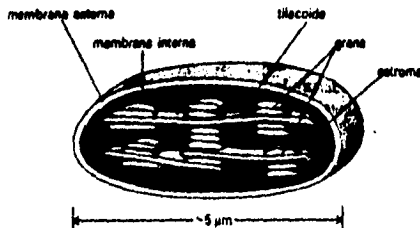


los fosos terminales de la oxidación tienen lugar en la membrana interna

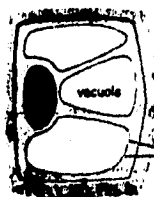
el espacio de la matriz contiene una solución concentrada de muchos enzimas diferentes

**ORGANULOS ESPECIALES DE LA CELULA VEGETAL**

**Cloroplastos**—Estos plastos que contienen clorofila son orgánulos rodeados por una doble membrana, y se encuentran en todas las plantas superiores. Un elaborado sistema interno de membranas contiene el aparato fotosintetizador.



FUENTE: ALBERTS, ET AL. 1990



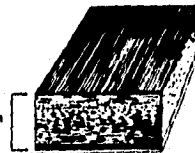
**vacuola**—Una vesícula muy grande, rodeada por una única membrana, que ocupa hasta el 90% del volumen celular; la vacuola actúa regulando la presión osmótica y también en la digestión intracelular.

membrana de la vacuola (tonoplasto)

**pared celular**—Las células vegetales están rodeadas por una pared rígida formada por fibrillas de celulosa depositadas en una matriz formada por otros polisacáridos

0,1-10 μm

membrana plasmática



## 2.4. CICLO Y REPRODUCCIÓN CELULAR

### 2.4.1. EL CICLO CELULAR DE LOS PROCARIOTAS CONSISTE EN LA REPLICACION DEL DNA SEGUIDA DE LA DIVISION CELULAR

El genoma de una célula procariótica es una sola molécula circular de DNA. En bacterias de crecimiento rápido, el DNA se replica a lo largo de la mayor parte del ciclo celular; cuando termina la replicación, se da inmediatamente la separación celular o citocinesis. Aparentemente, las dos hebras hijas del DNA están unidas por diferentes puntas a la membrana plasmática para asegurar que cada célula hijo recibe una copia del DNA. (39)(50)

### 2.4.2. EL CICLO CELULAR DE LOS EUCARIOTAS PUEDE DIVIDIRSE EN VARIAS ETAPAS

Las diferentes células eucarióticas poseen diferentes tasas de crecimiento y división. Las células de levadura, por ejemplo, pueden dividirse y doblar su número en 120 minutos, al igual que las células del embrión de erizo de mar. La mayoría de las células animales y vegetales en crecimiento tardan de 10 a 20 h en duplicarse, aunque algunas poseen una tasa de duplicación menor. Hay muchas células que no se dividen, como las nerviosas y los del músculo estriado; aunque ambas continúan la síntesis de RNA, proteínas y membrana, su DNA no se replica. (17)(50)

La replicación del DNA y la síntesis de las proteínas histonas (ver capítulo 7), sólo se da en la fase de *síntesis (S)* de la interfase. Durante este período, cada molécula de doble hélice de DNA se replica en dos moléculas hijas de DNA que son idénticas; los histonas y otras proteínas cromosómicas se unen rápidamente al DNA recién replicado. Antes y después de la fase S hay dos etapas (gap) de la interfase, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>, respectivamente, en los que no hay síntesis neta de DNA, pero en los que sí puede repararse el



DNA dañado. En el periodo  $G_1$  se presenta crecimiento celular continuo y síntesis de otras macromoléculas (RNA, proteínas y membranas). Durante el periodo  $G_2$ , la célula contiene dos copios de cada uno de las moléculas de DNA que se hallaban en la célula en  $G_1$ . A lo largo de la interfase, hay un crecimiento celular continuado y síntesis de otras macromoléculas celulares, tales como RNA, proteínas y membranas. Finalmente, la célula se divide en el periodo mitótico (M); las copias idénticas del DNA celular se distribuyen en cada uno de las células hijas. Se muestra en la figura 2-10 el ciclo celular de una célula de mamífero. (41)(51)

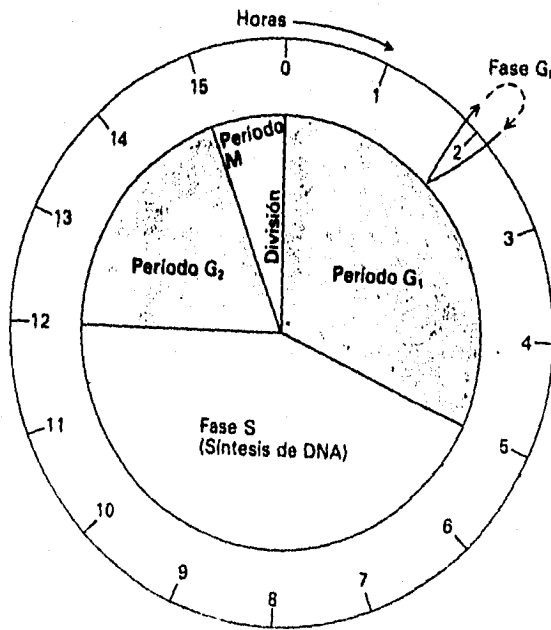


Figura 2-10 Diagrama de un ciclo celular reproductivo típico. Ciclo celular de una célula de mamífero con un período de generación de 16 h. Los tres periodos que ocupan aproximadamente las primeras 15 h, período  $G_1$  (primer hueco), la fase S (síntesis), período  $G_2$  (segundo hueco), forman la interfase, durante la cual se sintetizan el DNA y otras macromoléculas celulares. La hora restante es el periodo M (mitosis); es precisamente durante este periodo cuando se divide la célula.

REVISTA DARNEL 1968

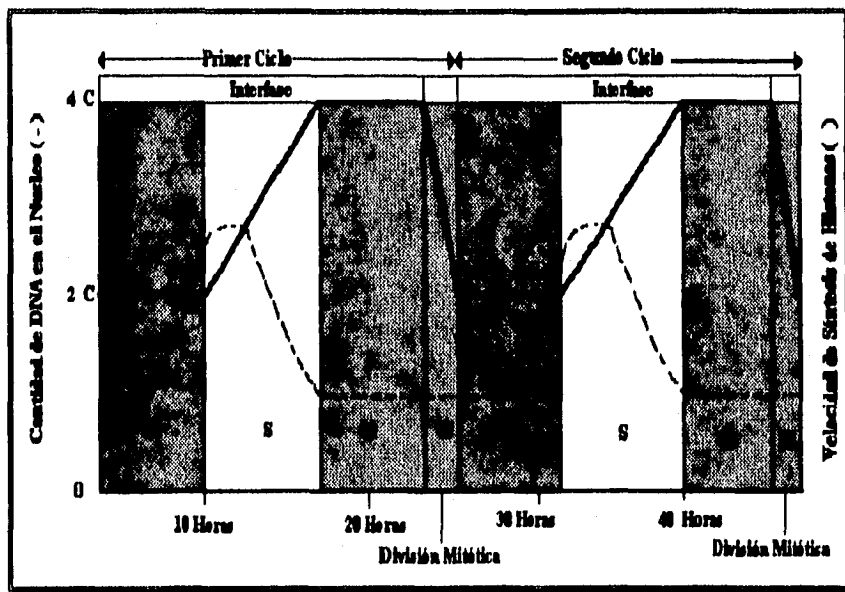


Figura 2-11 Ciclo celular de una célula eucariótica. Esquema que muestra el cambio en la cantidad de DNA (línea continua) y velocidad de síntesis de histonas (línea discontinua) durante dos ciclos celulares. FUENTE: MATHEWS, 1990

2.4.3. Mitosis y Meiosis

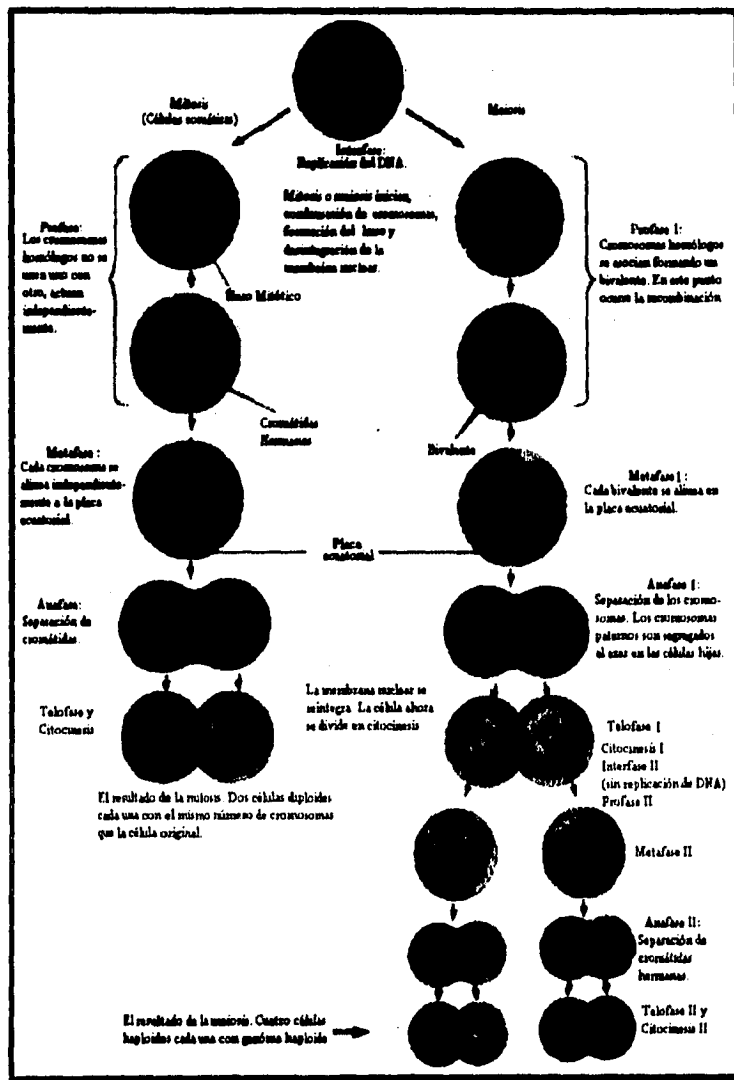
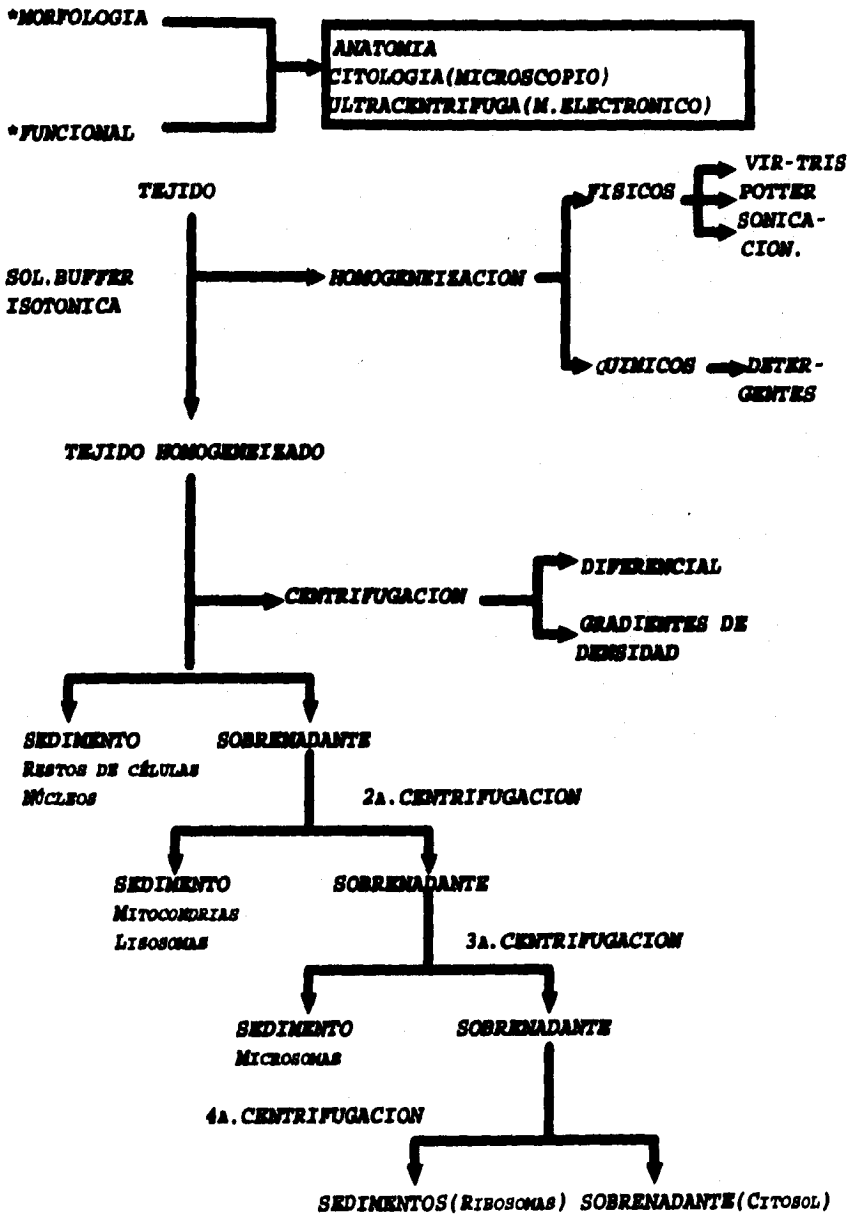


Figura 2-12 Esquema comparativo entre dos tipos de división celular. Mitosis y Meiosis.

FUENTE: MATHEWS, 1990

**LA CITOLOGIA**



**2.5.1. FRACCIONAMIENTO DE UN EXTRACTO CELULAR POR HOMOGENIZACIÓN SEGUIDA DE UNA CENTRIFUGACIÓN DIFERENCIAL**

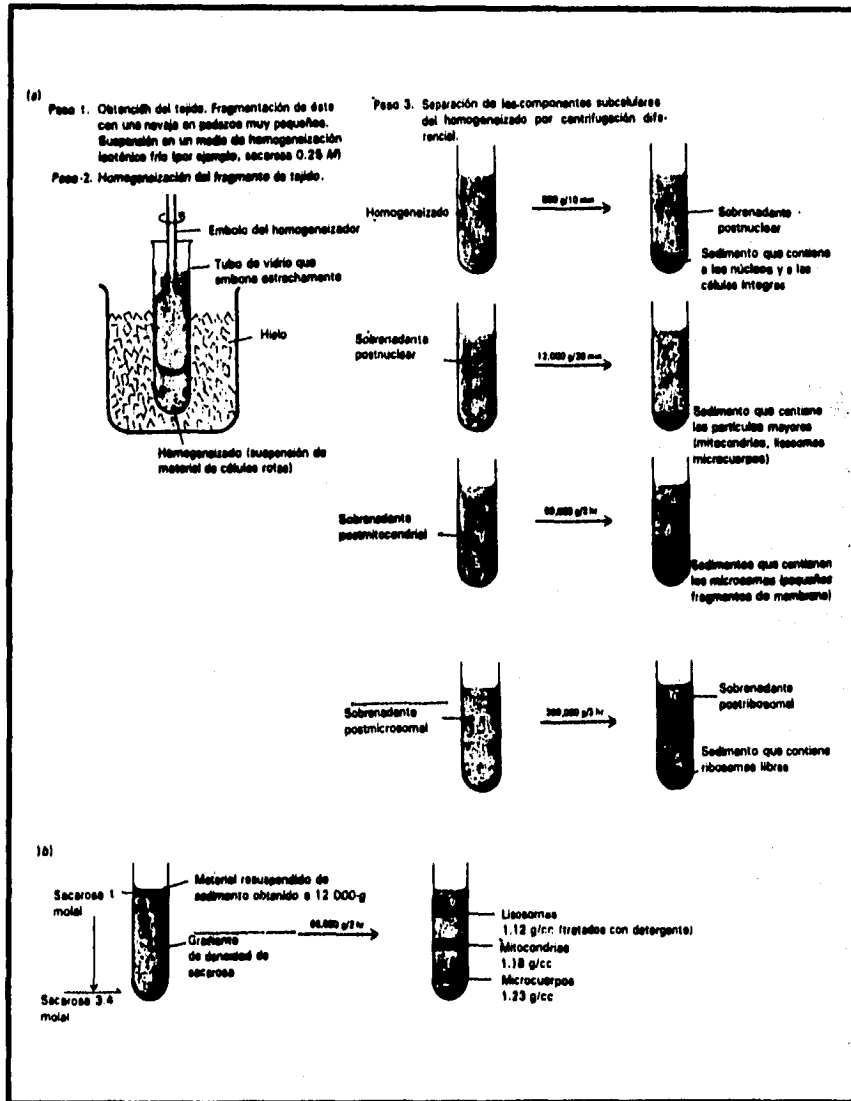


Figura 2-13 a) Homogenización y pasos iniciales del fraccionamiento por centrifugación diferencial, b) Purificación adicional por centrifugación en un gradiente de densidad.

FUENTE: KARP, 1967

Tabla 2-3 Algunos Coeficientes De Sedimentación Típicos.

PARTICULA O MOLECULA	COEFICIENTE DE SEDIMENTACION
LISOSOMA	9400S
VIRUS DEL MOSAICO DEL TABACO	198S
RIBOSOMA	80S
MOLECULA DE ARN RIBOSOMICO	28S
MOLECULA DE ARN <sub>i</sub>	4S
MOLECULA DE HEMOGLOBINA	4,5S

Los coeficientes de sedimentación (s), en unidades de segundos, vienen dados por  $(dx/dt)/w^2x$ .

Donde:

$x$  es la distancia al centro de rotación en centímetros,

$dx/dt$  es la velocidad de sedimentación en centímetros por segundo

$w$  es la rotación angular del rotor de la centrifuga en radianes por segundo. Debido a que estos coeficientes son numeros extremadamente pequeños, suelen expresarse en unidades Svedberg (S) siendo  $1S=1 \times 10^{-13}$ seg.

FUENTE: ALBERTS, ET.AL., 1990

Cabe mencionar que no únicamente existen los métodos mencionados en el presente trabajo para el estudio de la célula. A continuación les enlistamos algunos de los más empleados.

-Técnicas microscópicas.

-Técnicas citoquímicas microscópicas. Las cuales buscan producir color o algún contraste especial, por ejemplo mayor brillantez u opacidad en los lugares ocupados por componentes específicos de la célula.

-Radioautografía. Por medio de isótopos radiactivos. (24)

2.5.2. MICROSCOPIA

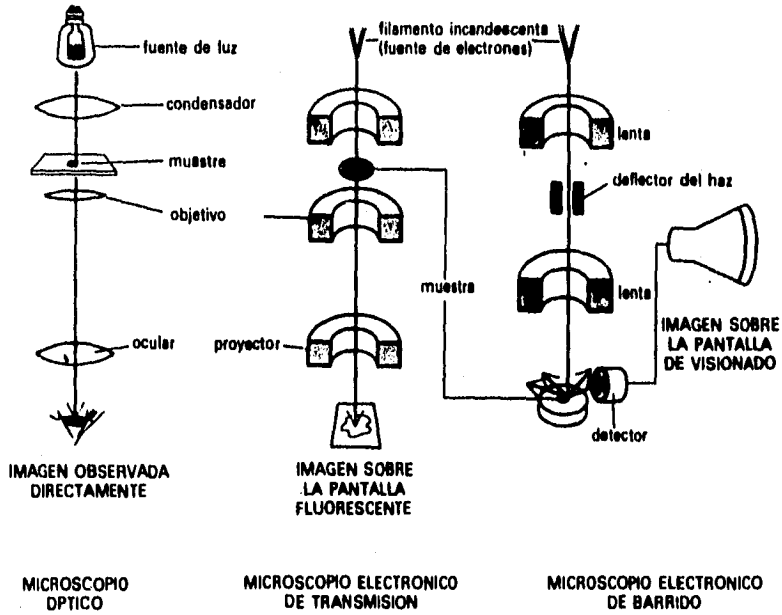


Figura 2-14 Rasgos principales de un microscopio óptico, electrónico de transmisión y de barrido. Los dos tipos de microscopio electrónico requieren que la muestra sea colocada en el vacío.

FUENTE ALBERTS, ET AL., 1990

En el microscopio se utilizan habitualmente las siguientes unidades de longitud.

- $\mu\text{m}$  (micrometro) =  $10^{-6}\text{m}$
- $\text{nm}$  (nanómetro) =  $10^{-9}\text{m}$
- $\text{Å}$  (Angström) =  $10^{-10}\text{m}$

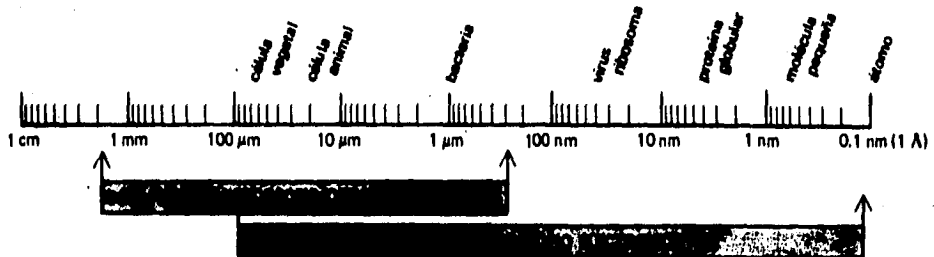


Figura 2-15 Los tamaños de las células y de sus componentes dibujados sobre una escala logarítmica, junto con el espectro utilizable de los microscopios ópticos y electrónicos.

FUENTE ALBERTS, ET AL., 1990

## 3. AGUA

### 3.1. INTRODUCCION

Todas las células biológicas dependen del ambiente para conseguir los nutrientes indispensables para satisfacer sus necesidades energéticas, reponer sus componentes y para crecer. La composición del ambiente externo puede variar de modo significativo y las células poseen una serie de mecanismos para adecuarse a estas variaciones. Además, los diferentes compartimientos intracelulares también tienen diferentes composiciones químicas y bioquímicas. La única característica común de los diferentes ambientes es la presencia de agua (tabla 3-1 y tabla 3-2). El agua, el disolvente en que están disueltas o suspendidas las sustancias requeridas para la existencia de la célula, tiene un papel importante en el correcto quehacer de la célula. Las propiedades fisicoquímicas únicas en el agua hacen que la vida sea posible. (12)

Para el caso de alimentos sería importante mencionar que debido a que no tiene un valor energético ni sufre cambios químicos durante su utilización biológica, en muchas ocasiones el agua no se considera como nutrimento, sin embargo, sin este líquido no podrían llevarse a cabo las diferentes reacciones bioquímicas que sustentan la vida. (3)

Todos los alimentos, incluyendo los deshidratados, contienen cierta cantidad de agua. En consecuencia para el tecnólogo es de suma importancia conocer las propiedades físicas y químicas del agua, ya que muchas de las reacciones que suceden en los alimentos, tanto positivas como negativas, están



relacionadas con la presencia de este líquido. (3)

En la producción de alimentos deshidratados es necesario considerar la influencia del agua para obtener un producto con buena aceptación. Igualmente, durante la rehidratación y el congelamiento de alimentos, se requiere conocer la forma en que el agua se comporta para evitar daños que reduzcan su calidad. El agua es un factor determinante en la inhibición o propagación de las diferentes reacciones químicas, enzimáticas o microbiológicas que pueden aumentar o reducir el valor nutritivo y la calidad de los alimentos. (3)

Todas las células biológicas contienen esencialmente los mismos componentes químicos enumerados en la tabla 3-1. Existen diferencias en la concentración de componentes específicos entre las diferentes células sin embargo la presencia del agua es esencial en todas ellas.

**Tabla 3-1 Componentes Químicos De Las Células Biológicas.**

COMPONENTE	INTERVALO DE PESOS MOLECULARES.
H <sub>2</sub> O	18
Iones inorgánicos: Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , etc.	23-100
Moléculas orgánicas pequeñas. Glúcidos, Aminoácidos, Lípidos, Nucleótidos	100-700
Macromoléculas. Proteínas, Polisacáridos, Ácidos Nucleicos.	5x10 <sup>4</sup> -1x10 <sup>6</sup>

FUENTE: DEVLIN, 1968

Para ejemplificar la importancia del agua en los organismos vivos, se muestra a continuación la composición molecular de una bacteria.

Tabla 3-2 Composición Molecular De La Bacteria *Escherichia Coli*.

COMPONENTE	%	No.ESPECIES MOL
AGUA	70	1
PROTEINAS	15	3000
ADN	1	1
ARN	6	>3000
POLISACARIDOS	3	5
LIPIDOS	2	20
MOLECULAS BLOQUE E INTERMEDIARIOS	2	500
IONES INORGANICOS	1	20

FUENTE: LEIBINICER,1991

## 3.2. PROPIEDADES DEL AGUA

Tabla 3-3 Importantes Propiedades Del Agua Líquida.

PROPIEDADES	AGUA
PESO MOLECULAR (g/mol)	18.02
DENSIDAD (g/cm <sup>3</sup> )	0.997
PUNTO DE EBULLICION (°C)	100
CONSTANTE DIELECTRICA	78.54
VISCOSIDAD (g/cm s)	0.890X10 <sup>-2</sup>
TENSION SUPERFICIAL (dina/cm)	71.97

FUENTE: MATHIEWS,1990.

Esta molécula, engañosamente sencilla, tiene, no obstante, una serie de propiedades insólitas.

### 3.2.1. NATURALEZA DIPOLAR.

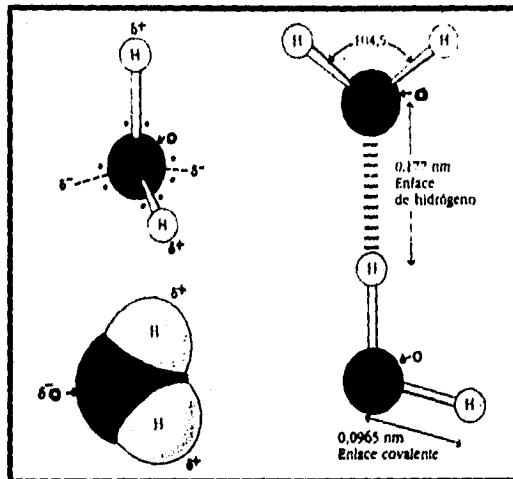


Figura 3-1 Naturaleza Dipolar  
FUENTE: LEININGER, 1991

### 3.2.2. ESTRUCTURA TETRAEDRICA

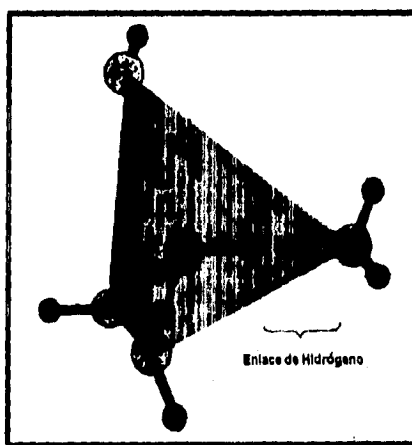


Figura 3-2 Cada molécula de agua se une, como máximo a otras 4 moléculas de agua mediante enlace de hidrógeno y forma una red cristalina regular.  
FUENTE: MATTHEWS, 1990

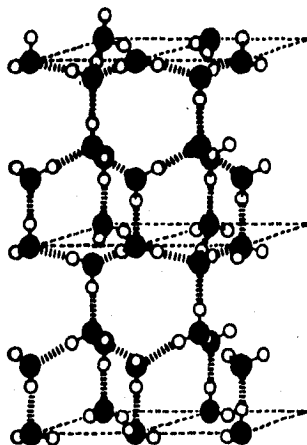


Figura 3-3 En el agua líquida, a temperatura ambiente, cada molécula de agua está unida por enlace de hidrógeno con otras 3,4 moléculas de agua.

FUENTE: SMITH WOOD, 1991

### 3.2.3. ESTRUCTURA DEL HIELO

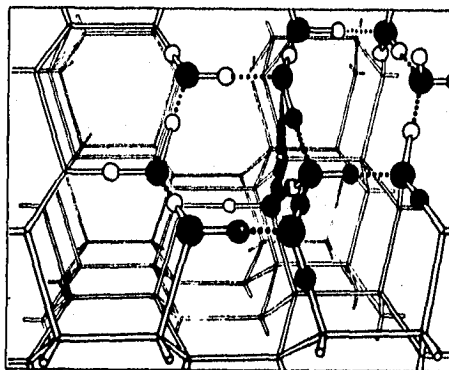


Figura 3-4 En el agua sólida, el hielo forma una estructura que es una malla tetraédrica. La formación de puentes de hidrógeno entre moléculas es la que da al hielo su estructura cristalina, algunos de estos enlaces se rompen cuando el hielo se transforma en agua líquida. La red cristalina del hielo es más "abierta" que la ordenación de las moléculas de  $H_2O$  en el agua líquida, lo que explica que el hielo sea menos denso que el agua líquida y que pueda flotar en ella. (23)

FUENTE: MATHEWS, 1990

## 3.2.4. ESTRUCTURA DEL AGUA LIQUIDA

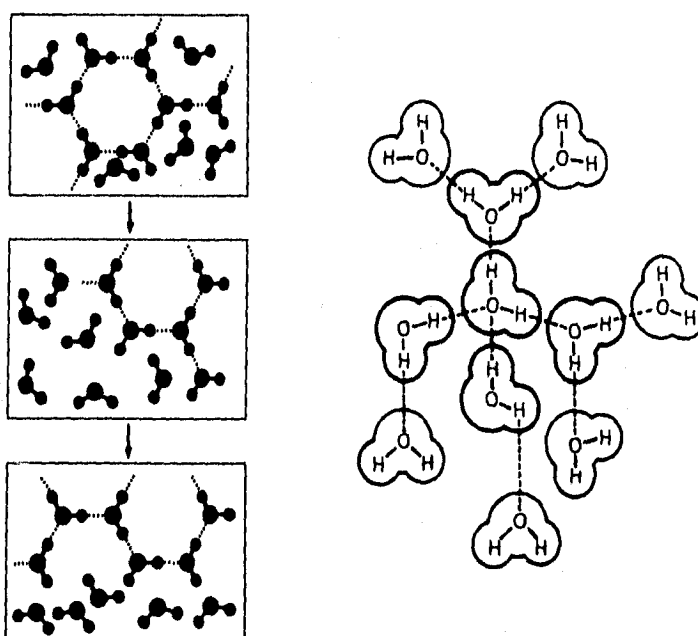


Figura 3-5 Cada puente de hidrógeno es relativamente débil en comparación con un enlace covalente, pero la estabilidad del agua líquida se debe al gran número de puentes de hidrógeno presentes en ella. Incluso a 100°C el agua líquida contiene un número significativo de puentes de hidrógeno, lo que explica su alto calor de vaporización (tabla 3-4); los puentes de hidrógeno se rompen en el paso de líquido al estado de vapor. (12)(13)(23)

FUENTE: MATHEWS, 1990 y SMIT AND WOOD, 1991

El agua líquida tiene una estructura definida gracias a la formación de puentes de hidrógeno entre moléculas, pero la estructura, se encuentra en un estado dinámico, ya que, los puentes de hidrógeno se rompen y se vuelven a formar. Aunque se han propuesto muchos modelos para la estructura del agua líquida ninguna explica adecuadamente sus propiedades. (12)(13)(23)

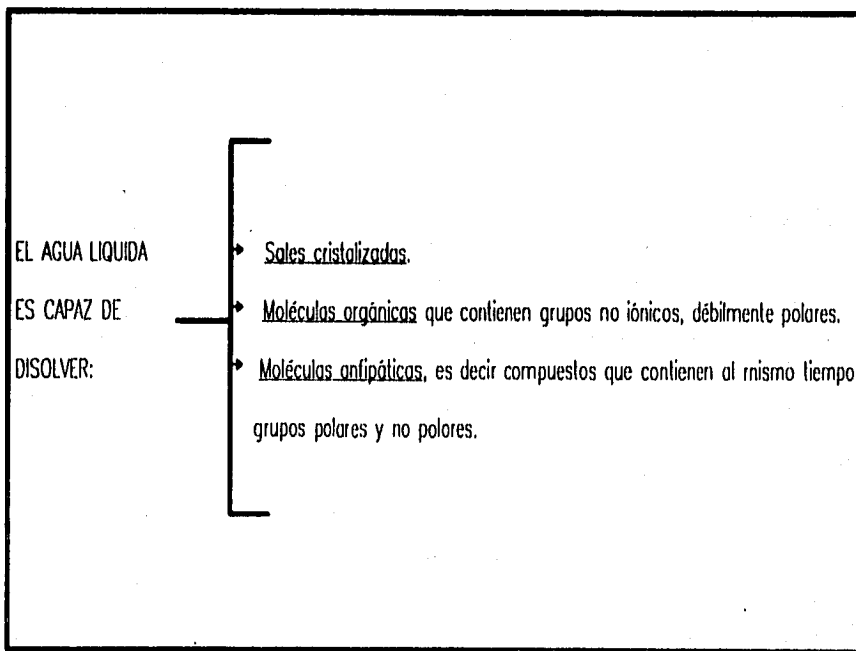
Tabla 3-4 Algunas Propiedades Del Agua Y Otros Líquidos.

	PUNTO DE CONGELACION °C	PUNTO DE EBULLICION °C	CALOR DE VAPORIZACION cal/g
AGUA	0	100	540
METANOL	-98	65	263
ETANOL	-117	78	204
PROPANOL	-127	97	164
ACETONA	-95	56	125
HEXANO	-98	69	101
BENCENO	6	80	94
CLOROFORMO	-63	61	59
CH <sub>4</sub>	-182	-162	
NH <sub>3</sub>	-78	-33	327
H <sub>2</sub> S	-86	-61	132

FUENTE: LEININGER, 1991 Y MATHEWS, 1990

### 3.2.5. COMO DISOLVENTE UNIVERSAL

La naturaleza polar de la molécula de agua y su capacidad de formar puentes de hidrógeno son la base de sus propiedades únicas como disolvente. (27)



**3.2.5.1. SALES**

Las sales en las que la red cristalina se mantiene entera por la atracción de los grupos positivos y negativos (fig. 3-6), se disuelven en el agua, debido a que las fuerzas electrostáticas en el cristal pueden ser superadas por la atracción de las cargas hacia el dipolo del agua (fig. 3-7). (12)(13)(23)

El agua disuelve a muchos sales cristalizadas al hidratar sus componentes iónicos. Las soluciones de NaCl son un ejemplo de esta.(fig. 3-6 y 3-7).

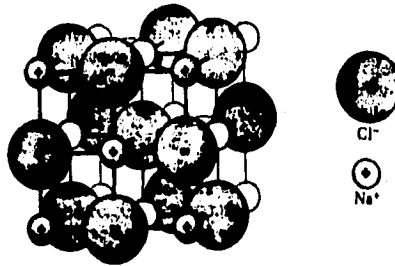


Figura 3-6 La red cristalina de NaCl se mantiene unida por atracción electrostática entre los iones de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

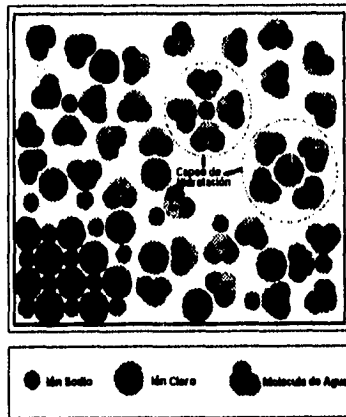


Figura 3-7 El agua disuelve al cristal al hidratar a los iones Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> y los separa así de la red.

FUENTE: MATHEWS, 1990



En general, al disolver una sal se crean iones positivos y negativos rodeados de moléculas de agua, e integran especies muy estables cuya grado de hidratación depende de la intensidad de carga del ion; a esto también se la conoce con el nombre de poder polarizante, y es igual a la carga total del ion, dividida entre el radio iónico. Para una misma carga, la retención de agua es mayor, en los iones pequeños que en los grandes; se puede comprobar que la hidratación del  $K^+$  es menor que la del  $Na^+$ , ya que el radio del primero es mayor y consecuentemente su densidad de carga es menor. (3)

El agua es un buen disolvente debido a su alta constante dieléctrica,  $D$ , que por definición es una medida de la tendencia del disolvente a oponerse a las fuerzas electrostáticas de atracción entre iones con carga opuesta:

$$F = \frac{e_1 e_2}{D r^2}$$

donde  $F$  es la fuerza de atracción entre dos iones de carga opuesta  $e_1$  y  $e_2$ , y  $r$  es la distancia entre ellos. La tabla 3-5 muestra que la constante dieléctrica del agua es muy alta comparada con la de otros disolventes e indica que por ejemplo la fuerza de atracción entre  $Na^+$  y  $Cl^-$  en este disolvente es aproximadamente 1/40 de la fuerza entre esos mismos iones en benceno; por lo tanto, el agua favorece la disolución de la sal pues evita que sus componentes se unan nuevamente, y el benceno facilita su asociación. (3)

Tabla 3-5 Constante Dieléctrica (D) De Algunos Líquidos A 20°C.

AGUA	80.0
METANOL	33.0
ETANOL	24.0
ACETONA	21.4
BENCENO	2.3
HEXANO	1.9

FUENTE: BAIJUL, 1990

### 3.2.5.2. MOLECULAS ORGANICAS

Muchos compuestos orgánicos neutros con grupos funcionales polares, tales como los azúcares, los alcoholes, los aldehidos y los cetonas son disueltos fácilmente por el agua. Su solubilidad se debe a la propensión de los moléculas del agua a formar enlaces de hidrógeno con los grupos hidroxilo de los azúcares y de los alcoholes o con los grupos carbonilo de las aldehidos y de las cetonas, tal como se muestran en la figura 3-8. (13)(27)

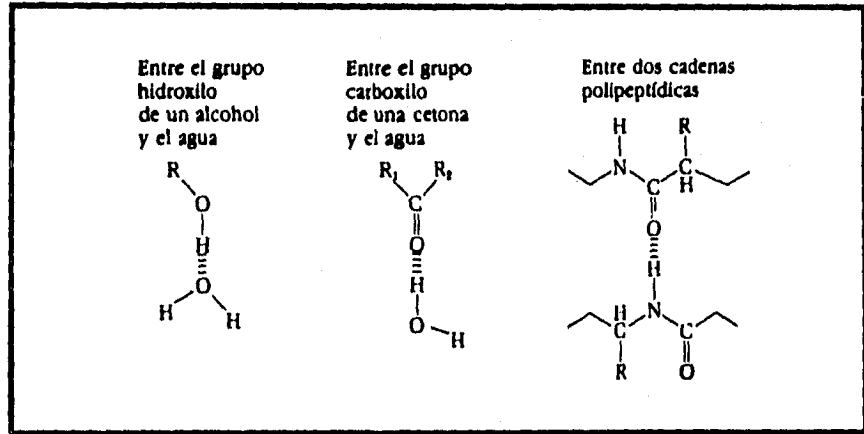


Figura 3-8 Enlaces de hidrógeno de importancia biológica. En el enlace de hidrógeno, un átomo de hidrógeno se comparte de modo desigual entre 2 átomos electronegativos, el átomo al que el "H" se halla unido por covalencia es el dador de "H", el otro átomo electronegativo es el aceptor.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

### 3.2.5.3. MOLECULAS ANFIPÁTICAS

La tercera clase de sustancias que se dispersa en el agua comprende a las que poseen grupos hidrofóbicos (hóstitiles al agua) e hidrofílicos (amantes del agua), con frecuencia reciben el nombre de compuestos *anfipáticos* (fig. 3-9). (27)(28)

Las moléculas muy hidrofóbicas tales como los compuestos que contienen cadenas hidrocarbonadas largas, no se dispersan en el agua sino que interaccionarán entre ellas para excluir a las moléculas polares de agua. Un ejemplo sencillo lo constituye la sal de sodio del *ácido oleico* un ácido graso de cadena larga. Debido a su larga cadena hidrocarbonada es hidrofóbico e intrínsecamente insoluble en el agua; el oleato de sodio (un jabón) tiene poca tendencia a disolverse en el agua y formar una verdadera disolución molecular. Sin embargo se *dispersa* con facilidad en el agua y forma agregados que reciben el nombre de *micelas* en las que los grupos de carboxilo con carga negativa, hidrofílicos, del oleato se hallan expuestas e interaccionan con la fase acuosa y las cadenas hidrocarbonadas no polares, hidrofóbicas, permanecen ocultas en la estructura (fig. 3-10). (27)

La localización interna característica de los grupos no polares en tales micelas es consecuencia de la tendencia de las moléculas de agua circundantes a unirse mutuamente mediante enlaces de hidrógeno y a asociarse con los grupos carboxilo, hidrofílicos, forzando, de este modo, a las cadenas carbonadas a situarse en el interior de la micela en donde no tienen contacto con el agua. Al agua le "agradan" más el agua y los grupos carboxilo que las cadenas hidrocarbonadas con las que no puede formar enlaces de hidrógeno. Se emplea el término *interacción hidrofóbica* para referirse a la asociación de las porciones hidrofóbicas de las moléculas anfipáticas situadas en el interior de las micelas, pero es la tendencia de las moléculas de agua circundantes a formar enlaces de hidrógeno entre sí la que proporciona la fuerza que impulsa la formación y la estabilidad de las micelas (fig. 3-11). Los fosfolípidos, las proteínas y los

ácidos nucleicos, se hallan entre los muchos componentes celulares que son anfipáticos y tienden a formar estructuras en las que las partes hidrofóbicas no polares se hallan ocultas del agua. Además, las ordenaciones micelares de las moléculas de lípidos anfipáticos, forman el "núcleo" de las membranas biológicas (fig. 3-9). (27X30)

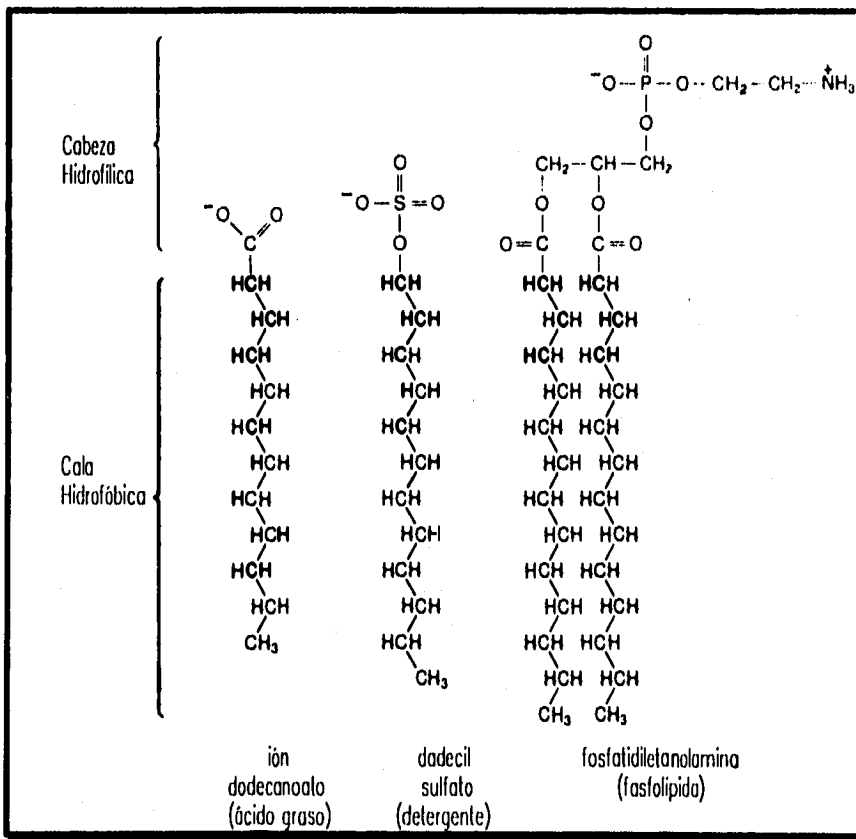


Figura 3-9 Ejemplos de moléculas anfipáticas.

FUENTE: MATHEWS, 1990

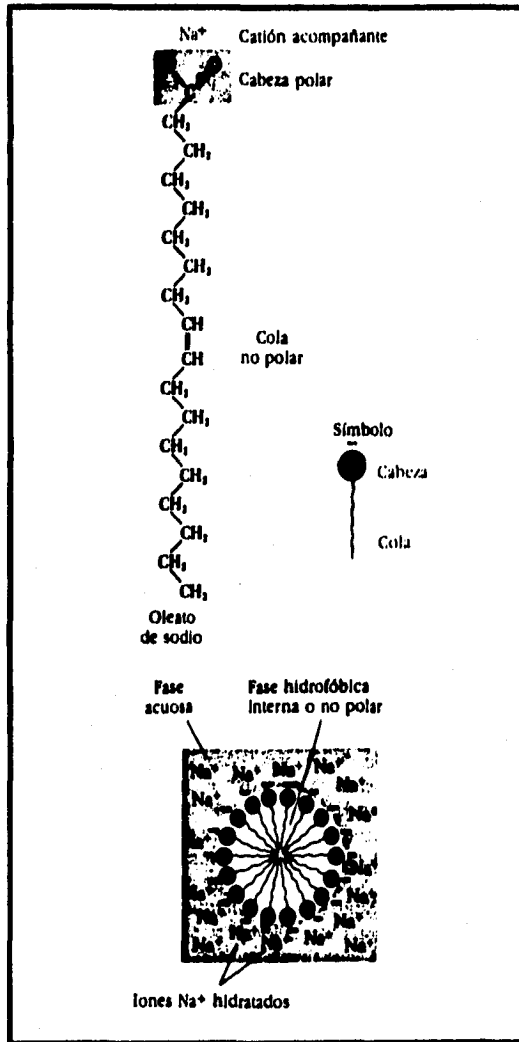


Figura 3-10 Formación de una micela de jabón en el agua. Las colas no polares de la molécula de oleato de sodio se hallan en el interior de la micela, ocultas al agua, mientras que los grupos carboxilato con carga negativa se hallan expuestos en la superficie de la micela. El número de iones Na<sup>+</sup> presentes en la fase acuosa es igual al número de cargas negativas de la micela de modo que la disolución es electroneutra.

FUENTE: LEVINGGER, 1991

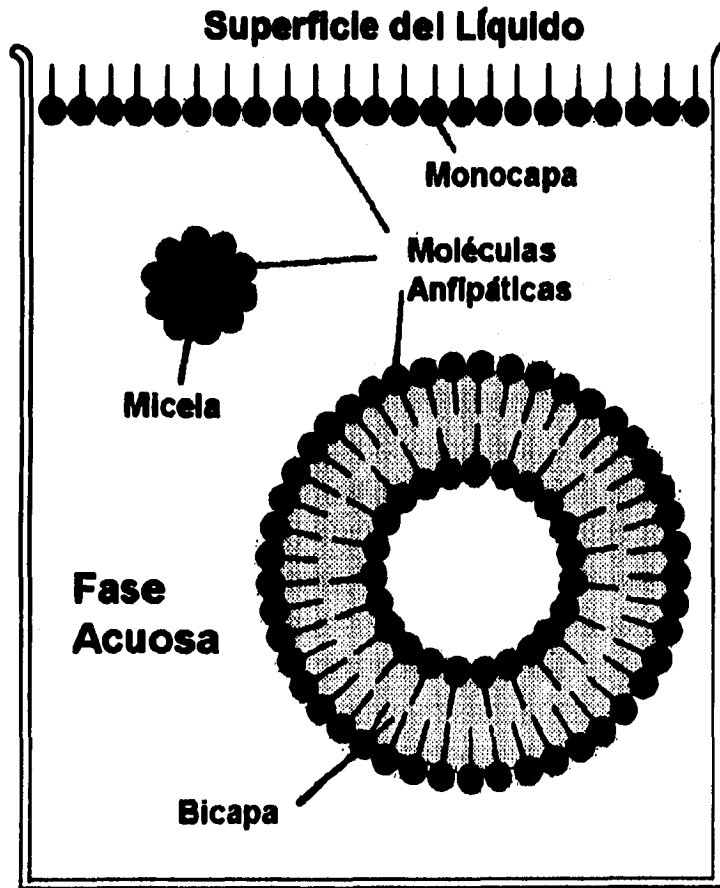


Figura 3-11 Esta figura muestra la interacción de moléculas anfipáticas con el agua. En este caso los grupos hidrofílicos (círculos oscuros) entran en contacto con la fase acuosa, mientras que las partes hidrofóbicas (líneas negras) se asocian unas a las otras.

FUENTE: MATHÉWA, 1990

El agua se disocia de la manera siguiente:



Por razones de comodidad, el protón no se presentará en la forma hidratada  $H_3O^+$  por más que sea ésta la especie química que en realidad se halla presente.



A 25°C el valor de  $K_{eq}$  es muy pequeño, siendo del orden de  $1,8E-16$ .

$$K_{eq} = 1,8E-16 = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} \dots\dots\dots 1$$

Con un valor de  $2K_{eq}$  tan pequeña la disociación del agua es insignificante, por lo que la concentración de ésta, que es de 55,5M de hecho es esencialmente invariable. La ecuación se puede escribir de la siguiente manera:

$$K_{eq}[H_2O] = [H^+][OH^-] \dots\dots\dots 2$$

El valor de  $K_{eq} \times 55,5$  equivale al producto de las concentraciones de  $H^+$  y  $OH^-$  denominándose producto iónico del agua. Su valor a 25°C es de  $1E-14$ .

En agua pura la concentración de  $H^+$  es igual a la de  $OH^-$ .

$$K_{eq}[H_2O] = [H^+][OH^-] \rightleftharpoons K_w = 1E-14M^2 \dots\dots\dots 3$$

$$[H^+] = [OH^-] = 1E-7M \text{ (En este caso se dice que la solución es neutra)}$$

Por conveniencia el ión hidrógeno  $[H^+]$  se expresa normalmente en términos de pH, calculado de la siguiente manera:

$$pH = \log 1/[H^+] = -\log [H^+] \dots\dots\dots 4$$

Si a la ec. 3 le sacamos logaritmo negativo quedaria:

$$-\log K_w = -\log [H^+] - \log [OH^-] \dots\dots\dots 5$$

FUENTE: MATTHEWS, 1990

$pK_w = pH + pOH = 14$
------------------------

Tabla 3-6 Escala De pH

$[H^+]$ M	pH	$[OH^-]$ M	pOH
1,0	0	$10^{-14}$	14
0,1	1	$10^{-13}$	13
0,01	2	$10^{-12}$	12
0,001	3	$10^{-11}$	11
$10^{-4}$	4	$10^{-10}$	10
$10^{-5}$	5	$10^{-9}$	9
$10^{-6}$	6	$10^{-8}$	8
$10^{-7}$	7	$10^{-7}$	7
$10^{-8}$	8	$10^{-6}$	6
$10^{-9}$	9	$10^{-5}$	5
$10^{-10}$	10	$10^{-4}$	4
$10^{-11}$	11	0,001	3
$10^{-12}$	12	0,01	2
$10^{-13}$	13	0,1	1
$10^{-14}$	14	1,0	0

FUENTE: LEHNINGER, 1991



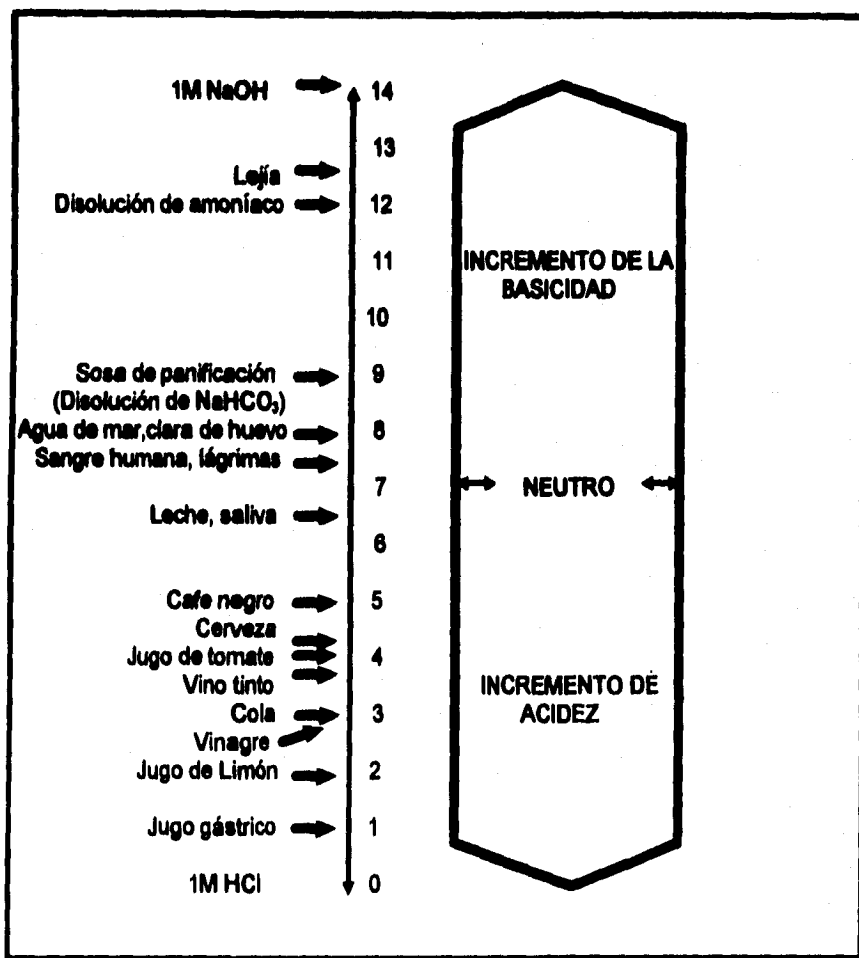
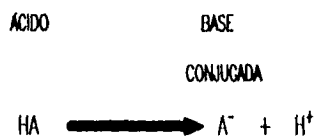


Figura 3-12 pH de algunos fluidos.  
FUENTE: MATHEWS, 1990

Muchos ácidos no se disocian totalmente cuando se disuelven en agua sino que establecen un equilibrio entre el ácido, un anión y el protón.



$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

El grado de disociación de un electrólito dependerá de la afinidad del anión por un protón, si las débiles fuerzas dipolo del agua que interaccionan con el anión y el catión son más fuertes que las fuerzas electrostáticas entre el  $[\text{H}^+]$  y el anión existirá un mayor grado de disociación. Evidentemente, para los compuestos que se disocian totalmente no se puede determinar  $K_a$  debido a que en el equilibrio no queda soluto sin disociar. (13)(28)

$$\text{p}K_a = -\text{LOG } K_a$$

$$-\text{LOG } K_a = -\text{LOG} \left\{ \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \right\}$$

$$\text{p}K_a = -\text{LOG} \left\{ \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \right\}$$

Empleando las leyes de logaritmos, tenemos:

$$pK_a = -\text{LOG} [H^+] - \text{LOG} \left\{ \frac{[A^-]}{[HA]} \right\}$$

$$pK_a = \text{pH} - \text{LOG} \left\{ \frac{[A^-]}{[HA]} \right\}$$

Despejando el pH, obtendremos la ecuación de **HENDERSON-HASSELBALCH**

$$\text{pH} = pK_a + \text{LOG} \left\{ \frac{[A^-]}{[HA]} \right\}$$

$$\text{pH} = pK_a + \text{LOG} \left\{ \frac{[\text{BASE CONJUGADA}]}{[\text{ACIDO}]} \right\}$$

La tendencia de un ácido conjugado a disociarse puede evaluarse a partir de  $K_a$ , tal y como se indicó anteriormente, cuando más pequeño sea el valor de  $K_a$ , menor será la tendencia a ceder un protón y más débil será el ácido y cuanto mayor sea el valor de  $K_a$ , mayor será la tendencia a disociar un protón y más fuerte será el ácido. (13)

Un método útil de representar lo  $K_a$  es en forma de  $pK_a = \log 1/K_a = -\log K_a$

**Tabla 3-7 Constantes De Disociación Y  $pK_a'$  De Algunos Acidos Corrientes A 25°C.**

ACIDO (DADOR DE PROTONES)	$K_a'$ M	$pK_a'$
1.HCOOH	$1,78 \times 10^{-4}$	3,75
2.CH <sub>3</sub> COOH	$1,74 \times 10^{-5}$	4,76
3.CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH	$1,35 \times 10^{-5}$	4,87
4.CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	$1,54 \times 10^{-5}$	4,81
5.CH <sub>3</sub> CHOHCOOH	$1,38 \times 10^{-4}$	3,86
6.H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	$7,25 \times 10^{-3}$	2,14
7.H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	$1,38 \times 10^{-7}$	6,86
8.HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	$3,98 \times 10^{-13}$	12,4
9.H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	$1,70 \times 10^{-4}$	3,77
10.HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	$6,31 \times 10^{-11}$	10,2
11.NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	$5,62 \times 10^{-10}$	9,25

1. ACIDO FÓRMICO.

2. ACIDO ACÉTICO.

3. ACIDO PROPIÓNICO.

4. ACIDO BUTÍRICO

5. ACIDO LÁCTICO.

6. ACIDO FOSFÓRICO.

7. ION DIHIDROGENO FOSFATO.

8. ION MONOHIDRÓGENO FOSFATO.

9. ACIDO CARBÓNICO.

10. IÓN BICARBONATO.

11. IÓN AMONIO.

FUENTE: LEHNINGER, 1991 Y MATHEWS, 1990

### 3.1. AMORTIGUADORES Y CAPACIDAD DE AMORTIGUACION

**AMORTIGUACION.** Es la capacidad de resistencia de una disolución a variar su pH cuando se le añade un ácido o una base. (12)

El mejor intervalo para el uso de un par conjugado como amortiguador está en la zona de pH cercana al pK del ácido débil. (28)

Empezando desde un pH inferior en una unidad hasta un pH superior en una unidad al pK, alrededor del 82% de un ácido débil en solución estará disociado, y por tanto se puede neutralizar una cantidad de base equivalente al 82% aproximadamente del ácido original con un cambio de pH de 2. Se considera que la máxima capacidad amortiguadora de un par conjugado se encuentra entre una unidad de pH por debajo y una por encima del pK. Un ácido débil tal como el ácido acético con  $pK=4,76$  es un amortiguador efectivo en el intervalo de  $pH = 3,76-5,76$ , pero tiene poca capacidad amortiguadora a los demás rangos de pH, la figura 3-13 muestra la curva de valoración de este ácido débil. (13)(27)

Después de cada adición de NaOH valorado a la disolución de ácido acético, se mide el pH de la mezcla. Este valor se representa frente a la fracción de la cantidad total de NaOH necesaria para neutralizar el ácido acético; es decir, llevarlo a pH = 7. Los puntos obtenidos de esta manera, dan la curva de valoración. Aparecen encuadrados las formas iónicas predominantes del ácido acético en los puntos designados. En el punto medio de la valoración las concentraciones del dador de protones y del aceptor de protones son iguales. El pH en este punto es igual, numéricamente al pK' del ácido acético. La zona delimitada a la derecha de la curva es la región de tamponamiento. (27)

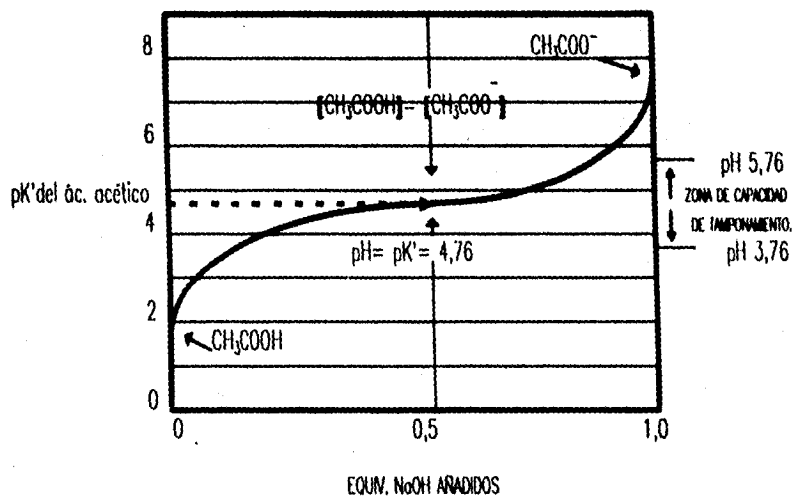
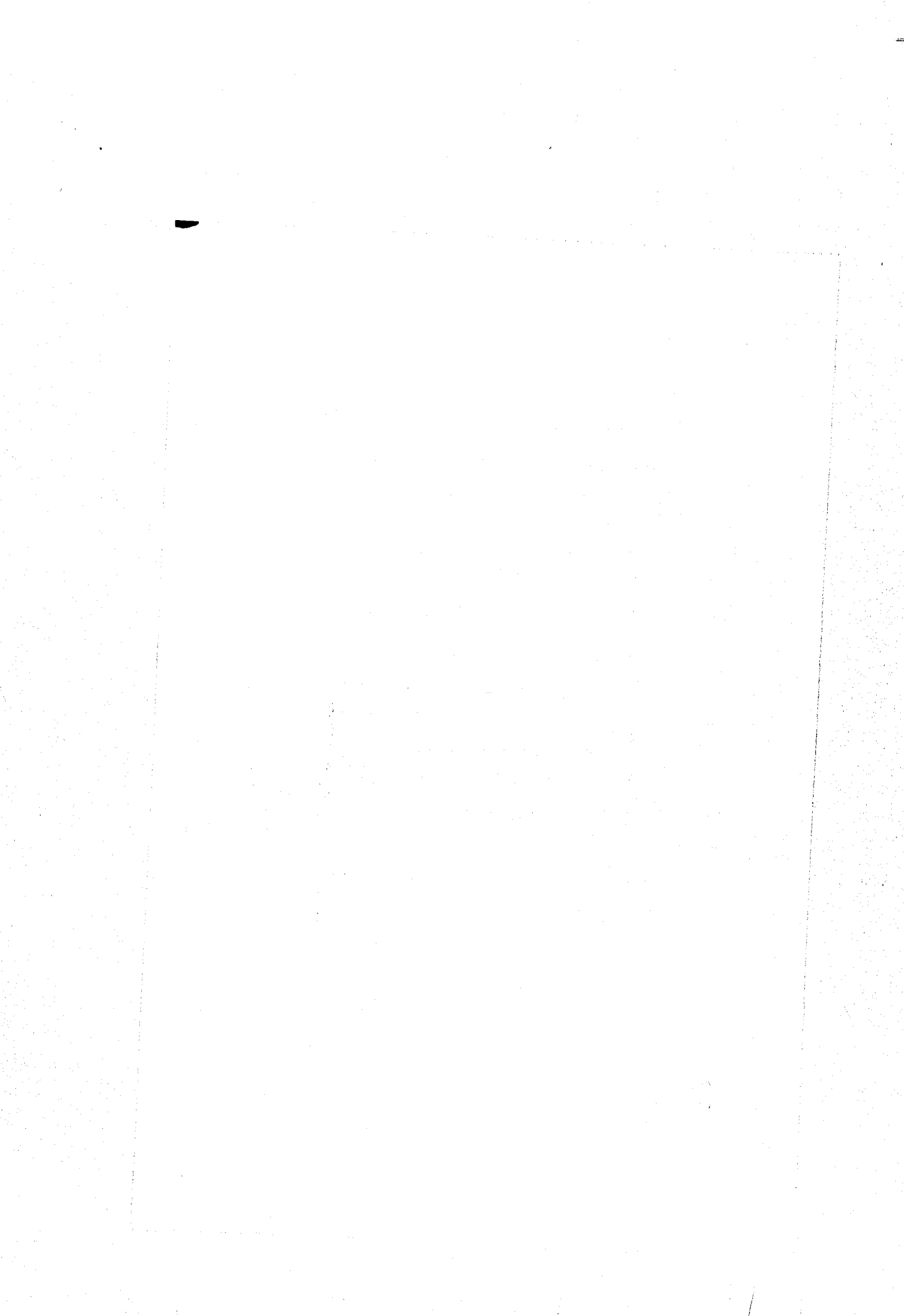
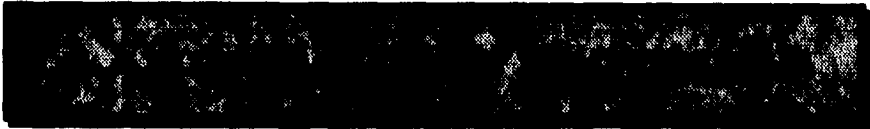


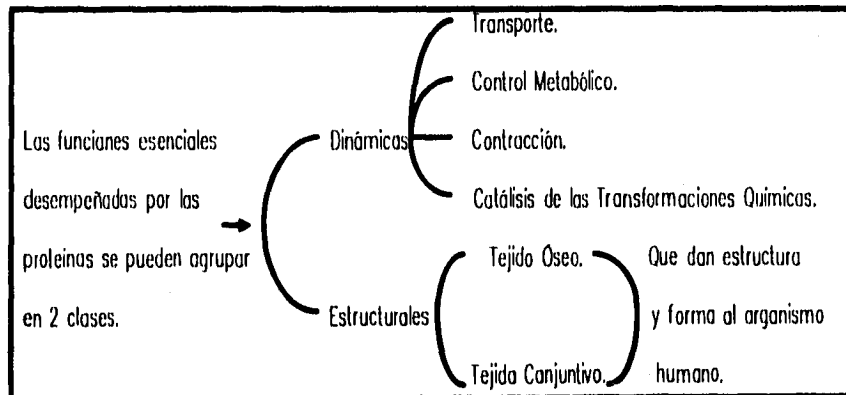
Figura 3-13 Curva de valoración del ácido acético.

FUENTE: LISBONCER, 1991





Es lógico continuar el estudio de la bioquímica ocupándonos de las proteínas, pues este grupo de sustancias químicas tiene una posición clave tanto desde el punto de vista estructural como dinámico de la materia viva. Desde el punto de vista bioquímico, la vida se caracteriza singularmente por su asociación con las proteínas; el único sistema actualmente conocido capaz de realizar la síntesis de las proteínas es la célula viva. Las proteínas juegan un papel esencial en todas las actividades de la materia viva. Es evidente que el conocimiento tanto del funcionamiento normal como patológico del organismo del mamífero requiere un conocimiento claro de la estructura y propiedades de las proteínas. (13)



FUENTE: DEVLIN, 1966 Y ARMSTRONG, 1969

Por otro lado, debido a su escasez y a la importancia que tienen como nutrimento, estos compuestos se han convertido actualmente en el principal foco de atención de la mayoría de los tecnólogos de



alimentos en el mundo; a pesar de existir una gran cantidad de nitrógeno en la Tierra, éste se encuentra en forma elemental en la atmósfera y no es aprovechable para llenar las necesidades biológicas del ser humano, ya que para la síntesis de sus proteínas, de ácidos nucleicos y de otras sustancias nitrogenadas de gran interés sólo utiliza el nitrógeno orgánico proveniente de los polipéptidos que obtiene de su dieta. Por lo contrario, los vegetales pueden producir estos nutrimentos a partir de moléculas sencillas, como nitrógeno inorgánico, agua y anhídrido carbónico. La gran importancia que tienen las proteínas está incluso implícita en su nombre, que deriva del griego y que significa "ser primero". (3)

Estas sustancias desempeñan funciones biológicas en el organismo humano, entre las que se cuenta principalmente la regeneración y la formación de tejidos, la síntesis de enzimas, anticuerpos y hormonas, y como constituyente de la sangre, entre otros; forman parte del tejido conectivo y muscular de los animales y de otros sistemas rígidos estructurales. Los órganos del hombre están compuestos fundamentalmente por proteínas y se calcula que existen aproximadamente 5 millones de tipos con propiedades y características muy específicas. (3)

Los alimentos ricos en estas macromoléculas, como la carne, la leche y el huevo, son escasos en la mayoría de los países en vías de desarrollo, y además, por ser los más costosos de producir son los más difíciles de adquirir. Debido al alto índice de crecimiento demográfico, varios países realizan investigaciones sobre el uso de proteínas no convencionales para el consumo humano con el fin de poder satisfacer las necesidades de este nutrimento en las poblaciones de pocos recursos. (3)

No sólo es necesario producir más alimentos ricos en toda clase de nutrimentos; hay que cuidar, almacenar, procesar, etc., los que actualmente se tienen; por esta razón, es indispensable conocer todas las posibles rutas de modificación, tanto positiva como negativa, que sufren en especial las proteínas para obtener mayores beneficios de ellas. (3)

## 4.2. CLASIFICACIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS

### 4.2.1. DEFINICIÓN DE AMINOÁCIDOS

Son las unidades constitutivas de las proteínas, unidos entre sí por medio de enlaces covalentes también llamados enlaces peptídicos (fig. 4-9 y 4-10). (2)(22)

### 4.2.2. ESTRUCTURA GENERAL DE UN AMINOÁCIDO

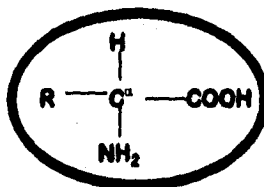


Figura 4-1 Estructura general de los aminoácidos.  
REVUE WHITE ET AL., 1978

### 4.2.3. ESTEREOISOMEROS DE $\alpha$ -AMINOÁCIDOS

Todos los aminoácidos, excepto uno, poseen un átomo de carbono *asimétrico*, el átomo de carbono  $\alpha$ , al que se hallan unidos cuatro grupos sustituyentes diferentes (el grupo carboxilo, un grupo amino, un grupo R y un átomo de hidrógeno). El átomo de carbono  $\alpha$ , asimétrico, es, por tanto, un *centro quiral* (fig. 4-1). (48)

Como se ha visto los compuestos con un centro quiral aparecen en dos formas isómeras diferentes, que son idénticas en todas las propiedades físicas y químicas excepto una, la dirección en la que provocan el giro del plano de la luz polarizada en un *polariómetro*. Con la única excepción de la glicina que no posee átomo de carbono asimétrico (fig. 4-4), todos los demás 20 aminoácidos (que son los constituyentes de las proteínas) son *activos ópticamente* es decir, que pueden desviar el plano de la luz polarizada en una u otra dirección. Debido a la disposición tetraédrica de los enlaces de valencia alrededor del átomo de carbono  $\alpha$  de los aminoácidos los cuatro grupos sustituyentes diferentes pueden ocupar dos

distribuciones diferentes en el espacio, los cuales son imágenes especulares no superponibles (fig. 4-2 y 4-3). Estas dos formas se llaman *isómeros ópticos, enantiómeros o estereoisómeros*. Una disolución de un estereoisómero de un aminoácido determinado que haga girar el plano de la luz polarizada hacia la izquierda (en sentido contrario de las manecillas del reloj) es la del isómero *levorrotatorio* (representado por "-"); el otro estereoisómero hará girar el plano de la luz polarizada la misma magnitud pero hacia la derecha (representado por "+"), se llama *dextrorrotatorio*. (4)(48)

La actividad óptica de un estereoisómero se expresa cuantitativamente por su *rotación específica* (tabla 4-1) determinada por medidas de su grado de rotación de una disolución del estereoisómero puro a una concentración determinada en un tubo de una longitud determinada en un polarímetro:

$$\alpha_D^{25C} = \frac{\text{rotación observada, grado}}{\text{longitud tubo, dm} \times \text{concentración, g/ml}}$$

en la que la abreviatura dm indica decímetros (0,1m). La temperatura y la longitud de onda de la luz empleada (habitualmente la línea D del sodio, 589 nm) deben especificarse. (27)(51)

Los estereoisómeros de todas las compuestas quirales que poseen una configuración relacionado con la del L-gliceraldehído (azúcar de 3 carbonos, es el azúcar más pequeño que posee un átomo de carbono asimétrico, ver capítulo 8), se designan por L, y los estereoisómeros relacionados con el D-gliceraldehído, se designan por D, independientemente de la dirección en la que hacen girar el plano de la luz polarizada (fig. 4-2): los símbolos L y D se refieren de este modo a la configuración absoluta de los 4 sustituyentes entorno del carbono quiral, y no a la dirección de giro del plano de la luz polarizada.

(27)(34)

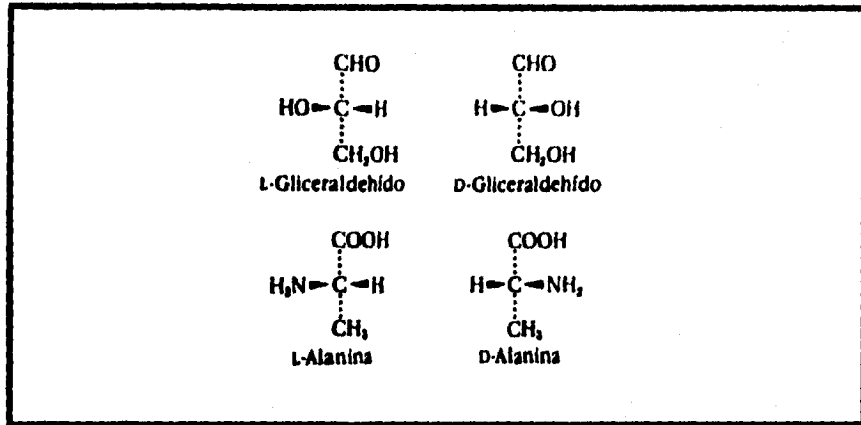


Figura 4-2 Relaciones espaciales de los enantiómeros de la alanina con la configuración absoluta del L- y D-gliceraldehído.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

L- y D-alanina son imágenes especulares no superponibles. (fig. 4-3)

Al colocar la L-alanina frente a un espejo podemos visualizar a su isómero D-alanina.

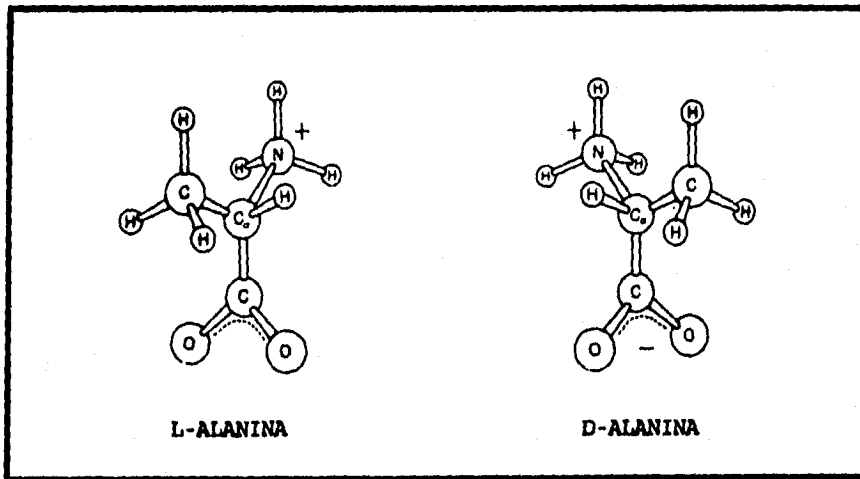


Figura 4-3 Los dos isómeros ópticos de la alanina, con sus grupos de referencia (los grupos carboxilo) situados en el enlace vertical con el centro quiral.

FUENTE: MATTHEWS, 1990

La actividad óptica de un estereoisómero se expresa cuantitativamente por su rotación específica.

**Tabla 4-1** Rotación Específica De Algunos Aminoácidos Aislados De Las Proteínas.

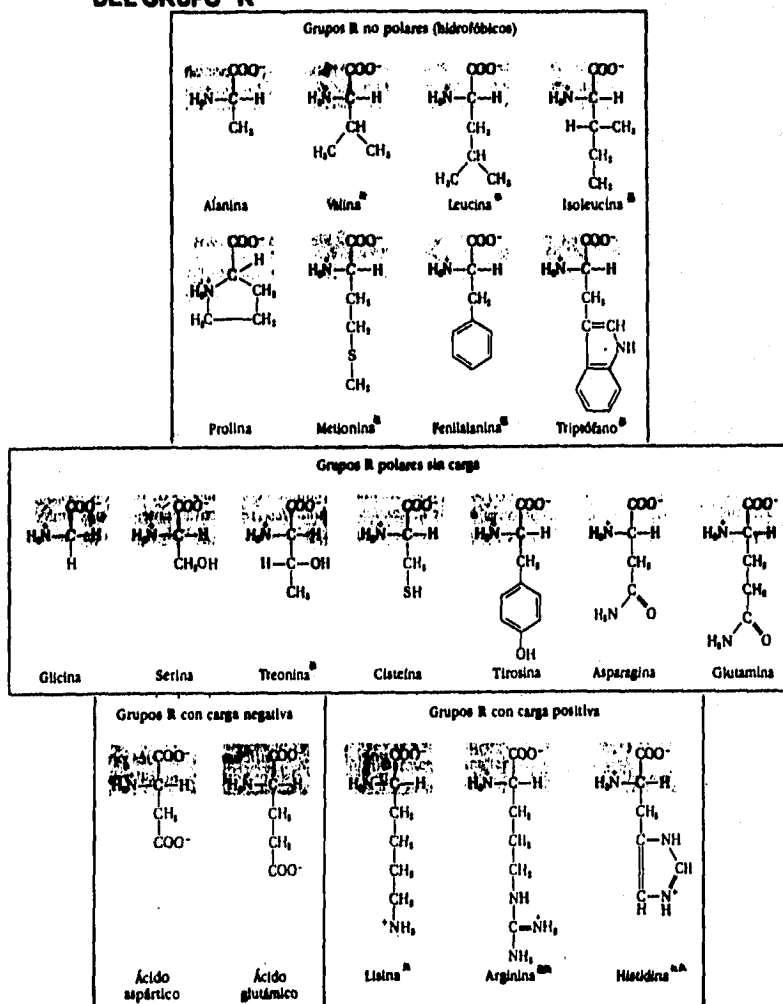
En todos los seres vivos los aminoácidos integrantes de las proteínas son de la serie L, obsérvese que algunos son dextrorrotatorios y otros levorrotatorios.

AMINOÁCIDO	ROTACIÓN ESPECÍFICA $[\alpha]_D^{25C}$
L-ALANINA	+1,8
L-ARGININA	+12,5
L-ISOLEUCINA	+12,4
L-FENILALANINA	-34,5
ÁCIDO L-GLUTÁMICO	+12,0
L-HISTIDINA	-38,5
L-LISINA	+13,5
L-SERINA	-7,5
L-PROLINA	-86,2
L-TREONINA	-28,5

FUENTE: LEHNINGER, 1991

4.2.4. CLASIFICACION DE LOS AMINOACIDOS EN BASE A LA POLARIDAD

DEL GRUPO "R"



\*aminoácidos esenciales

\*\*aminoácidos semiesenciales

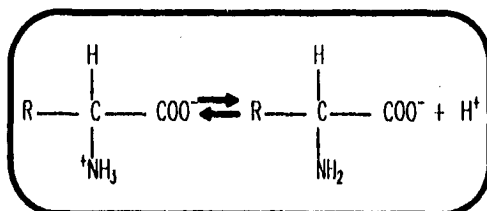
Figura 4-4 Los aminoácidos se muestran con sus grupos amino y carboxilo ionizados, tal como se hallarían a pH 7.0.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

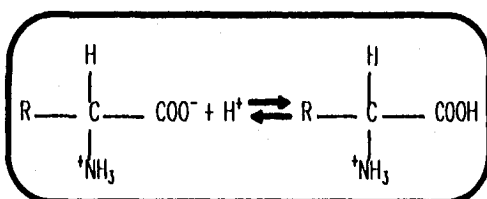
### 4.2.5. PROPIEDADES ACIDO-BASE DE LOS AMINOACIDOS

Los aminoácidos pueden actuar como ácidos (dador de protones).

Como ejemplo esquematizaremos al a.a. alanina.



O bien como base (aceptar de protones)



Del conocimiento del  $pK^a$  de cada una de los grupos ionizables en un aminoácido ó proteína y de la ecuación de Henderson-Hasselbach (ver capítulo 3) puede calcular la forma iónica de la molécula a pH determinado. Este es un cálculo importante, ya que, un cambio en la ionización de una proteína con el pH confiere a la molécula propiedades funcionales diferentes a distintos valores de pH. Por otro lado, el cálculo del pH exacto, al cual un aminoácido es eléctricamente neutro y esta en la forma zwitterión es de gran utilidad. Este pH se conoce como pH isoelectrico de la molécula y su simbolo es  $pI$ . El valor de  $pI$  es una constante para un compuesto determinado a unas condiciones especificas de fuerza iónica y  $I^o$ . En el caso de moléculas sencillas, tales como los aminoácidos. El  $pI$  es el promedio de los dos valores de  $pK^a$  que determinan los limites del zwitterión. (27)(42)

La importancia de las características ácido-base de los aminoácidos radica en que sirven como base de algunos métodos de separación y purificación, (de aminoácidos y de proteínas) específicamente en métodos como lo es la cromatografía y la electroforesis (ver capítulo 11).

A un pH de la solución inferior al pI del aminoácido, el aminoácido está cargado positivamente (fig. 4-5)

A un pH superior al pI, el aminoácido está cargado negativamente lo que ocurre de igual forma en las proteínas (fig. 4-5).

La magnitud de la carga neta de un aminoácido ó bien proteína estará en función de la diferencia entre pH y pI (fig. 4-5).

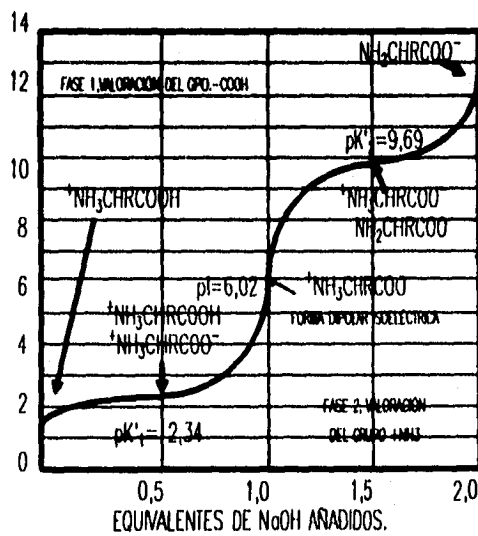


Figura 4-5 Curva de valoración de la alanina 0,1 M. Las especies iónicas que predominan a los diversos valores de pH aparecen en los recuadros. R, representa al grupo metilo de la alanina. Las porciones planas de la curva de valoración, centradas alrededor de  $\text{pK}'=2,34$  y  $\text{pK}'=9,69$ , son las zonas que poseen capacidad de tamponamiento.

FUENTE: LEHNINGER, 1991



Tabla 4-2 Valores De pK De Los Grupos Ionizables De Los 20 Aminoácidos Esenciales A 25°C.

AMINOACIDO (Símbolo)	pK <sub>1</sub> -COOH	pK <sub>2</sub> -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	pK <sub>R</sub> GRUPO R
GLICINA (Gly)	2,34	9,6	
ALANINA (Ala)	2,34	9,69	
LEUCINA (Leu)	2,36	9,60	
SERINA (Ser)	2,21	9,15	
TREONINA (Thr)	2,63	10,43	
GLUTAMINA (Gln)	2,17	9,13	
ASPARAGINA (Asn)	2,0	8,8	
ISOLEUCINA (Ile)	2,4	9,7	
METIONINA (Met)	2,3	9,2	
FENILALANINA (Phe)	1,8	9,1	
PROLINA (Pro)	2,0	10,6	
TRIPTOFANO (Trp)	2,4	9,4	
VALINA (Val)	2,32	9,62	
AC. ASPARTICO (Asp)	2,09	9,82	3,86
AC. GLUTAMICO (Glu)	2,19	9,67	4,25
HISTIDINA (His)	1,82	9,17	6,0
CISTEINA (Cys)	1,71	10,78	8,33
TIROSINA (Tyr)	2,20	9,11	10,07
LISINA (Lys)	2,18	8,95	10,53
ARGININA (Arg)	2,17	9,04	12,48

FUENTE: LEININGER, 1991 y MATHEWS, 1990

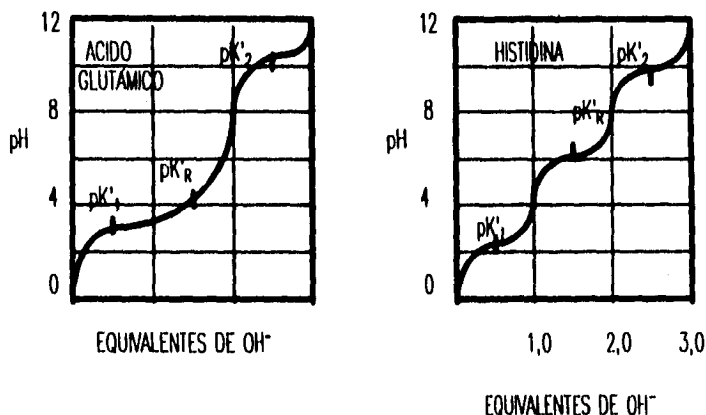


Figura 4-6 Curvas de valoración del ácido glutámico y de la histidina. El pK' del grupo R se representa por pK<sub>R</sub>.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

#### 4.2.6. PRINCIPALES REACCIONES DE AMINOACIDOS

Como en todos los compuestos orgánicos, las reacciones químicas de los aminoácidos son las características de sus grupos funcionales. Existen reacciones que se emplean profusamente para detectar, medir e identificar a los aminoácidos.

##### 4.2.6.1. REACCIONES QUÍMICAS DEL GRUPO ALFA-AMINO

LA PRIMERA ES LA REACCION DE LA NINHIDRINA (fig. 4-7" a"), que se emplea para detectar y valorar cuantitativamente los aminoácidos en cantidades pequeñas. La calefacción con exceso de ninhidrina origina un producto purpúreo con todos los aminoácidos que poseen un grupo α-amino libre, mientras que se forma un producto amarillo cuando se trata de *prolina* aminoácido en el que el grupo amino se halla substituido. En condiciones apropiadas la intensidad del color producida puede emplearse para medir colorimétricamente la concentración del aminoácido, constituyendo un método muy sensible.

(2X19)

LA SEGUNDA REACCIÓN IMPORTANTE DE LOS AMINOÁCIDOS ES LA QUE RINDE CON EL REACTIVO 1-FLUORO-2,4-DINITROBENCENO (FDNB). En disolución alcalina diluida el FDNB reacciona con los aminoácidos y rinde *2,4-dinitrofenilderivados* (fig. 4-7 "b"), útil para la identificación de aminoácidos individuales.

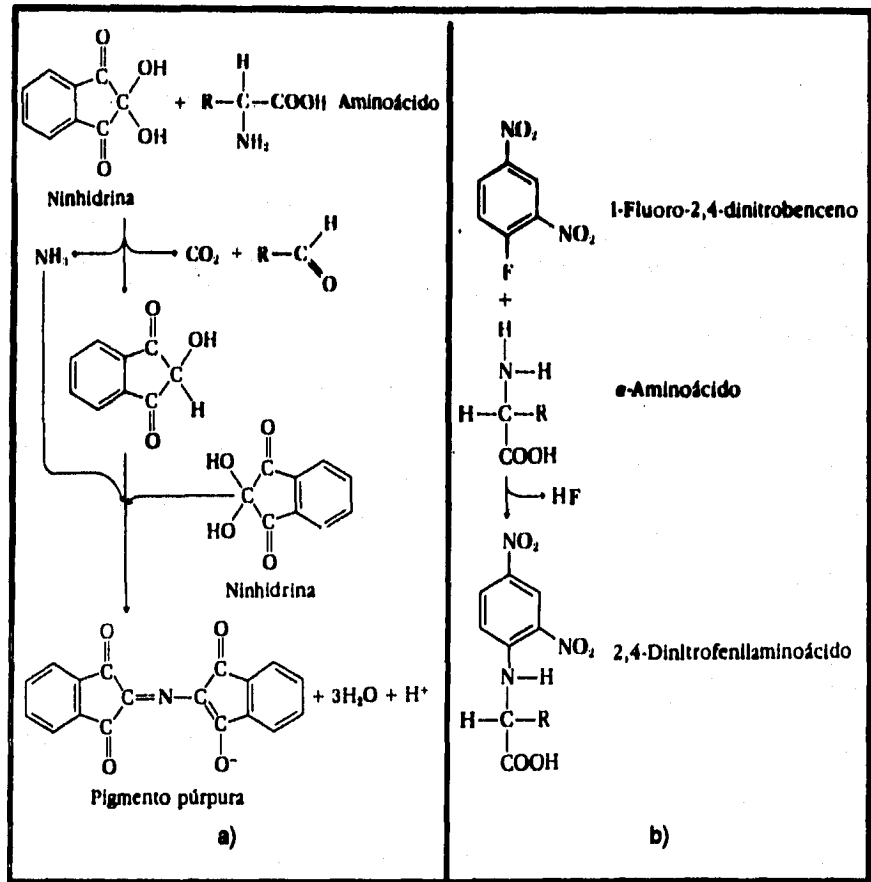
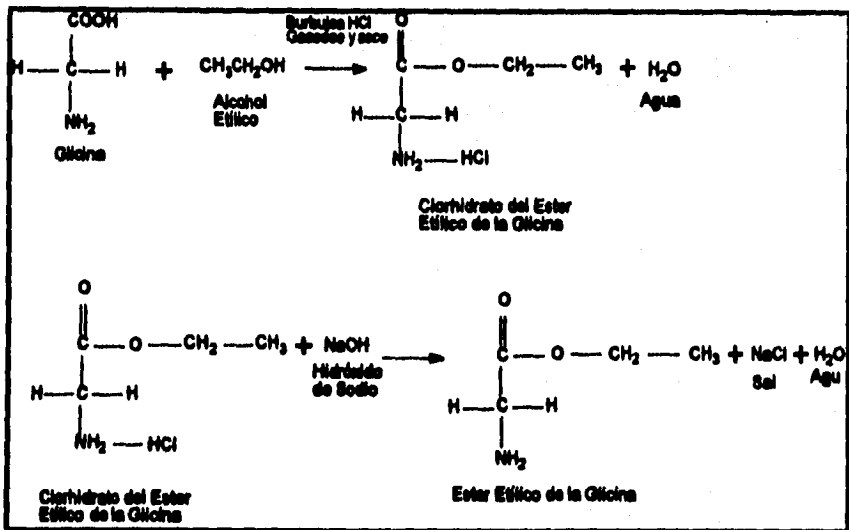


Figura 4-7 Reacciones de aminoácidos. a) Reacción de la ninhidrina para poner de manifiesto y medir los aminoácidos. b) Formación de derivados 2,4-dinitrofenilados de los aminoácidos.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

4.2.6.2. REACCIONES QUÍMICAS DEL GRUPO CARBOXILO

a)



b)

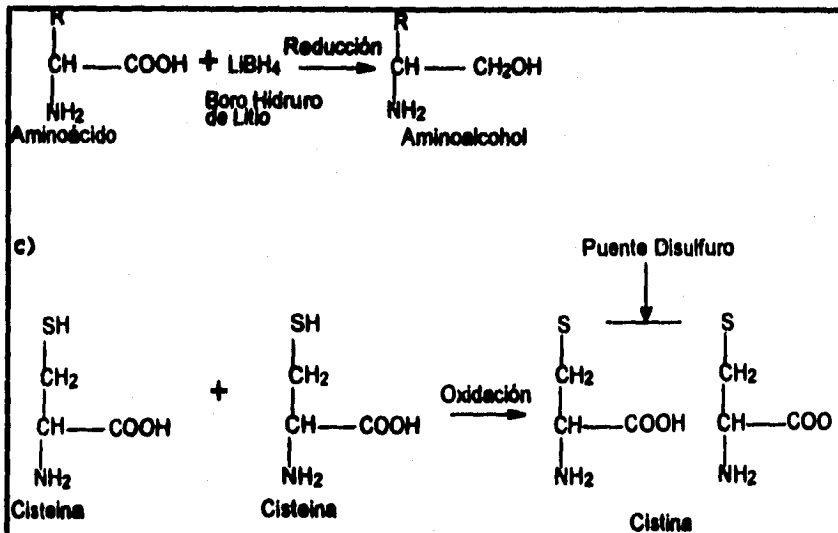
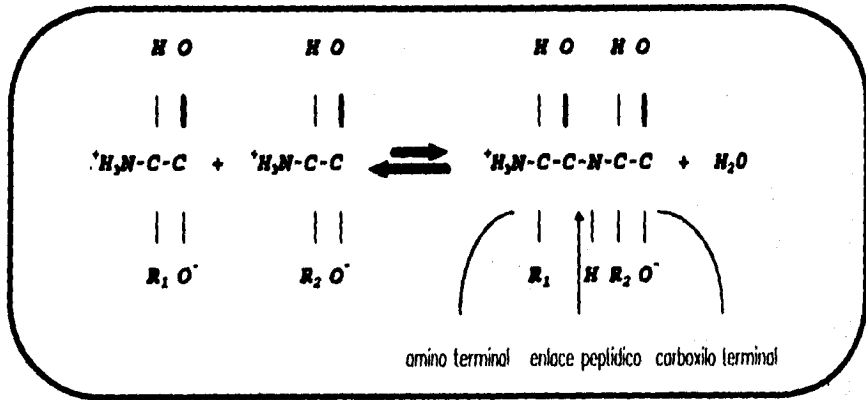


Figura 4-8 a) Formación de éster. Reacciones con alcoholes. b) Reacción con el boro hidruro de litio.

c) Formación de cistina a partir de dos cisteínas.

FUENTE: MERTZ, 1971



NOTA: El grueso de las líneas representan: Doble enlace \_\_\_\_\_ y enlace sencillo \_\_\_\_\_  
 FUENTE: STRYER, 1994

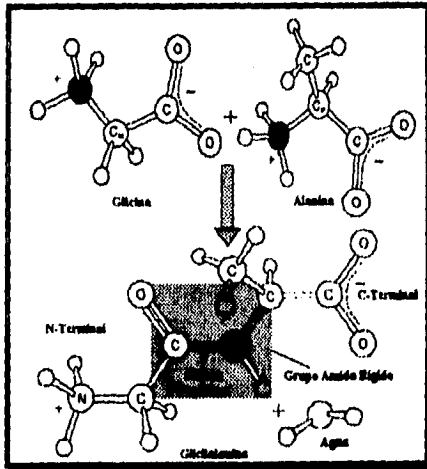


Figura 4-9 Formación de un dipéptido a partir de glicina y alanina.  
 FUENTE: MATTHEWS, 1990

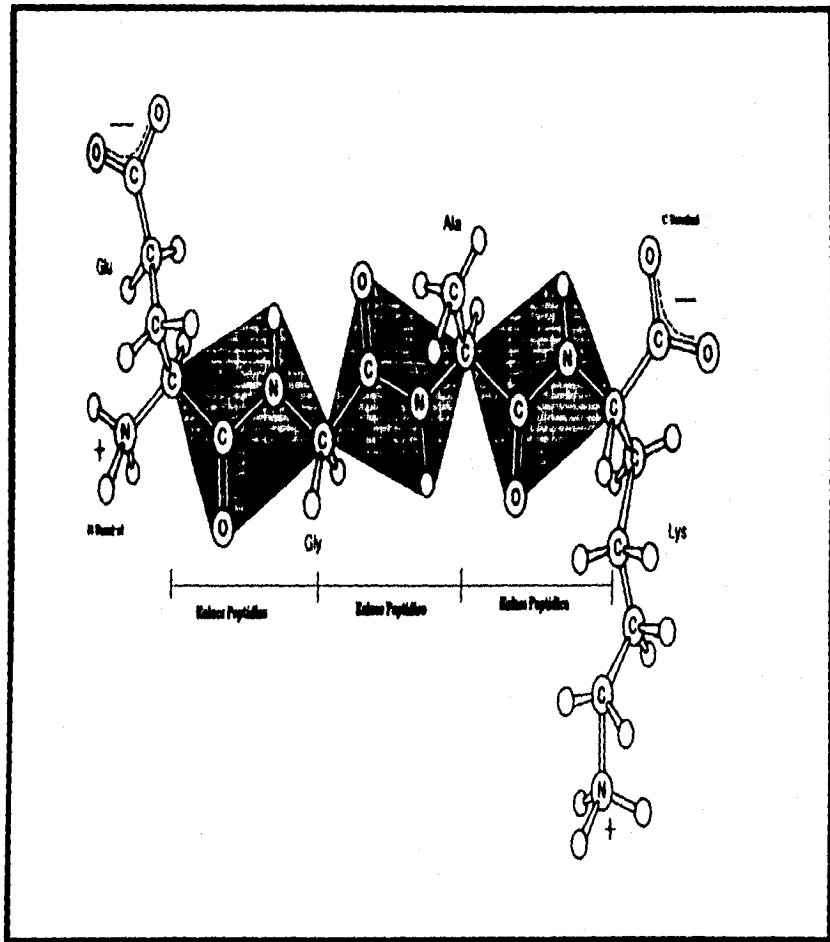


Figura 4-10 Formación de un tetrapéptido, a partir de ác. glutámico, glicina, alanina y lisina.  
FUENTE: MATHEWS, 1960

### 4.3.1. HIDROLISIS DEL ENLACE PEPTÍDICO

La hidrólisis de un péptido puede ser *total* que es cuando se logra la ruptura de todos los enlaces peptídicos que lo conforman, obteniéndose así libres todos sus aminoácidos, o bien podemos hablar de una hidrólisis *parcial* que es la ruptura de uno o varios enlaces peptídicos, pudiendo lograr rupturas en donde se involucran aminoácidos específicas.

**Tabla 4-3 Métodos Químicos.**

TRATAMIENTO	CONDICIONES	PUNTOS DE RUPTURA
ACIDO	HCl, 6N T°= 110°C t= 24-48hrs.	Todos los enlaces peptídicos.
ALCALINO	NaOH, 6N T°= 110°C t= 24-48hrs.	Todos los enlaces peptídicos.
BrCN	----- -----	Enlace peptídico del lado carboxilo de metionina.

FUENTE: LEHNINGER, 1991 Y WINDL ET. AL, 1979

Tabla 4-4 Métodos Biológicos (Enzimas)

TRATAMIENTO	PUNTOS DE RUPTURA (ENLACE PEPTÍDICO EN DONDE EL a.a. APORTA EL GRUPO CARBOXILO)	PUNTOS DE RUPTURA (ENLACE PEPTÍDICO EN DONDE EL a.a. APORTA EL GRUPO AMINO)
TRIPSINA (rompe a.a. polares +)	Arginina Lisina	----- ----- -----
QUIMOTRIPSINA (rompe a.a. aromáticas)	Fenilalanina Triptófano Tirosina	----- ----- -----
PEPSINA	Fenilalanina Triptófano Tirosina	----- ----- -----
PAPAÍNA	Fenilalanina Leucina	----- ----- -----
TROMBINA	Arginina	----- ----- -----
BROMELINA	Lisina Alanina Tirosina Glicina	----- ----- ----- -----
RENINA O QUIMOSINA	Fenilalanina Metionina	----- ----- -----
CARBOXIPEPTIDASA	Último enlace peptídico	----- ----- -----
TERMOLISINA	----- ----- -----	Valina Leucina Isoleucina
AMINOPEPTIDASA	----- ----- -----	Primer enlace peptídico

a.a. = aminoácido  
FUENTE: LEHNINGER, 1991



**4.4. PROTEINAS****4.4.1. DEFINICION Y FUNCION BIOLÓGICA DE LAS PROTEINAS**

Es una molécula que está constituida por un número variable de ~~L~~ aminoácidos, unidos covalentemente por enlaces peptídicos (fig. 4-9 y 4-10); son por consiguiente polímeros de aminoácidos. En general, el término proteína se usa para moléculas compuestas por más de 50 aminoácidos, mientras que el término péptido se utiliza para moléculas de menos de 50 aminoácidos. (4)

Las proteínas desempeñan papeles cruciales en prácticamente todos los procesos biológicos (tabla 4-5)

**Tabla 4-5 Función Biológica De Las Proteínas**

Tipo	Ejemplos	Función
Enzimas	Hexoquinasa Citocromo c Deshidrogenasa láctica	Fosforila a la glucosa Traspasa electrones Deshidrogena al lactato
Proteínas de Almacenamiento	Ovoalbúmina Caseína Ferritina	Proteínas de la clara de huevo. Función reserva. Proteínas de la leche. Función reserva. Almacena hierro en el hígado
Proteínas de transporte	Hemoglobina Seroalbúmina $\alpha_1$ - lipoproteína	Transporta $O_2$ en la sangre de los vertebrados Transporta ácidos grasos en la sangre Transporta lípidos en la sangre
Proteínas Contráctiles	Miosina Actina	Forma los filamentos gruesos de la miofibrilla Forma los filamentos delgados de la miofibrilla
Proteínas Protectoras en la Sangre de los Vertebrados	Anticuerpos Complemento Trombina	Forman complejos con proteínas extrañas Forma complejos con sistemas de antígeno-anticuerpo Componente del mecanismo de coagulación
Toxinas	Toxina diftérica Venenos de serpiente	Toxina bacteriana Enzimas que hidrolizan fosfolípidos
Hormonas	Insulina Hormona adrenocorticotrópica Hormona del crecimiento	Regula el metabolismo de la glucosa Regula la síntesis de corticosteroides Estimula el crecimiento de los tejidos
Proteínas Estructurales	Glucoproteínas $\alpha$ -queratina Colágeno Elastina Translocasas Receptores	Paredes celulares Piel, plumas, uñas, cuernos Tejido conjuntivo o fibroso (tendones, huesos, cartilago) Tejido conjuntivo elástico (ligamentos) Pasan moléculas o iones a través de membranas Se unen a hormonas o neurotransmisores y generan un mensaje

#### 4.4.2. CLASIFICACION DE LAS PROTEINAS EN BASE A SU ESTRUCTURA Y SOLUBILIDAD

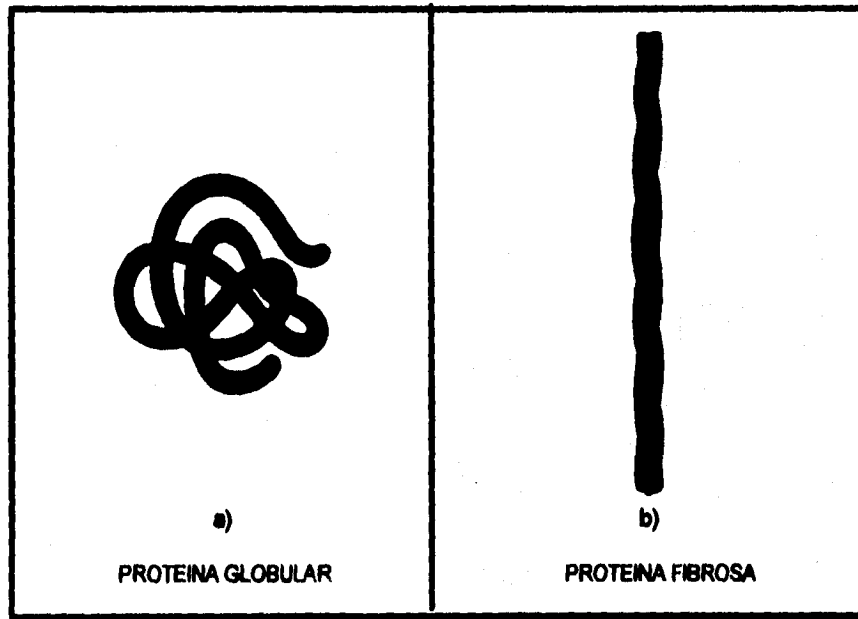


Figura 4-11 a) En éstas, la cadena polipeptídica está plegada apretadamente. Habitualmente son solubles en medio acuoso.

b) En la queratina, proteína fibrosa del pelo, las cadenas polipeptídicas se hallan ordenadas a lo largo de un eje. El dibujo muestra tres moléculas de queratina retorcidas unas alrededor de las otras para constituir una estructura de cordón. Las proteínas fibrosas son insolubles en el agua.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

### 4.4.3. NIVELES ESTRUCTURALES DE LAS PROTEÍNAS

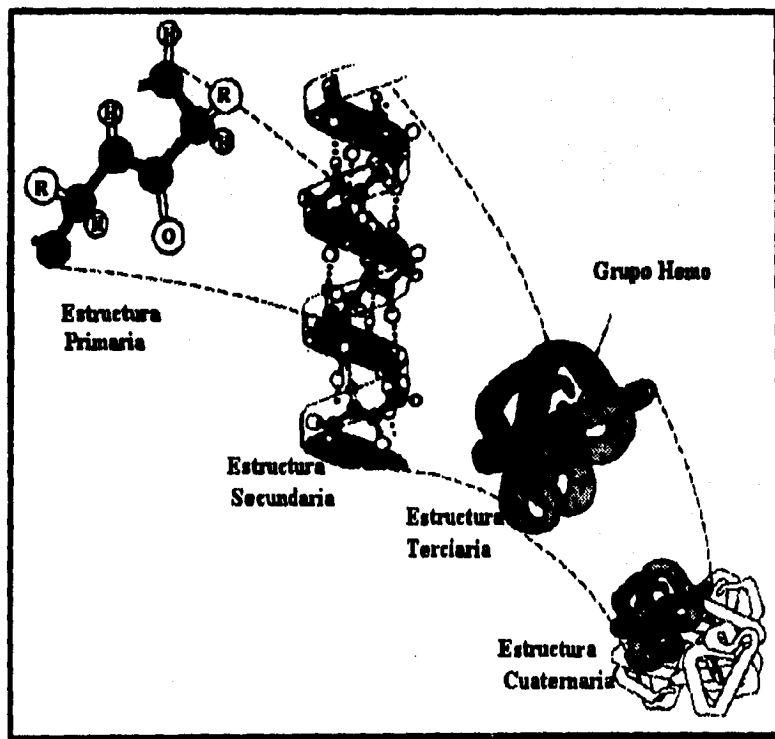
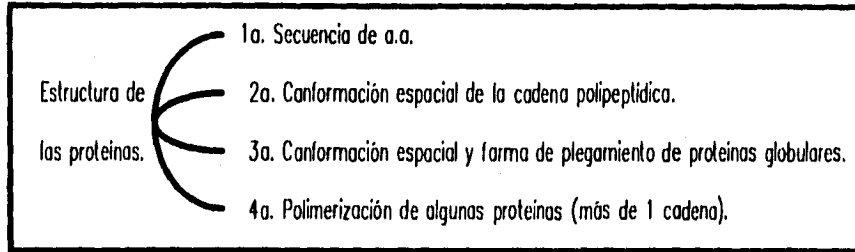


Figura 4-12 Niveles estructurales de las proteínas. Esta figura resume los 4 niveles estructurales, empleando como ejemplo la molécula de hemoglobina.

FUENTE: MATHEWS, 1990

**4.4.3.1. ESTRUCTURA PRIMARIA**

Término que se refiere a la estructura del esqueleto covalente y a la secuencia de los aminoácidos. En 1953, Frederick Sanger determinó la secuencia de aminoácidos de la insulina, una hormona proteica. Este trabajo constituye un logro en la bioquímica porque demuestra por vez primera que una proteína tiene una secuencia de aminoácidos definida con precisión. Además demuestra que la insulina consta únicamente de L-aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos entre los grupos  $\alpha$ -amina y  $\alpha$ -carboxilo (fig. 4-13). Este resultado estimuló a otros muchos científicos a realizar estudios de secuencias en una amplia variedad de proteínas. Hoy día conocemos la secuencia completa de aminoácidos de más de 2000 proteínas diferentes. El hecho más llamativo es que cada proteína tiene una única secuencia de aminoácidos, definida con precisión. (10)(36)(47)

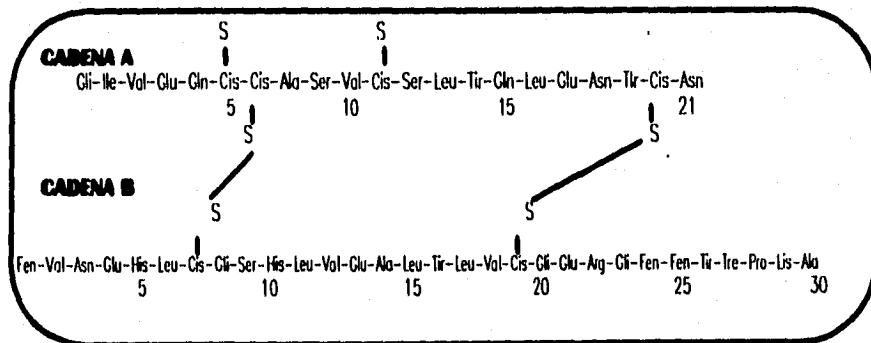


Figura 4-13 Secuencia de aminoácidos de la insulina bovina  
 FUENTE: STEYER, 1994

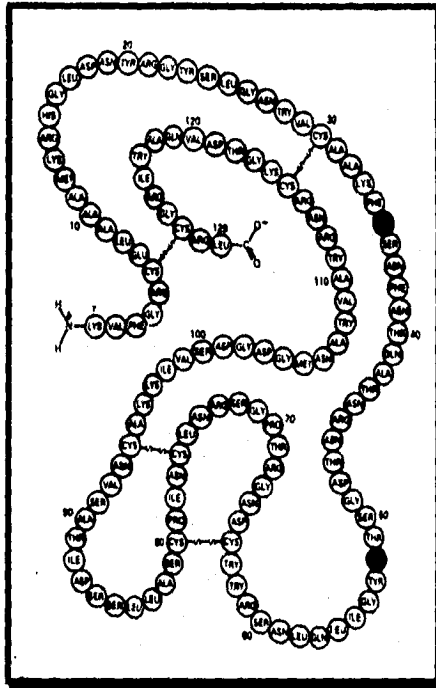


Figura 4.14 Secuencia primaria de la enzima lisozima. Los dos aminoácidos involucrados directamente en la catálisis se muestran más oscuros.

FUENTE: SMIT Y WOOD, 1991

#### 4.4.3.1.1. DETERMINACION DE LA SECUENCIA AMINOACIDA DE LAS CADENAS DE LOS POLIPEPTIDOS

En la actualidad se conocen las secuencias aminoácidas de centenares de proteínas diferentes de muchas especies. La secuencia aminoácido de una cadena polipeptídica se determina por los principios desarrollados inicialmente por Frederick Sanger, quien en 1953 trabajando en la universidad de Cambridge, estableció la secuencia de los aminoácidos en las cadenas polipeptídicas de la hormona insulina. (10)(16)

Las etapas básicas para la resolución de la secuencia aminoácida de cualquier polipéptido son las siguientes. (10)(16)(19)(36)

- ETAPA 1. DETERMINACION DE LA COMPOSICION DE AMINOACIDOS.

1. Hidrolizar todos los enlaces péptidos del polipéptido purificado.
2. La mezcla de aminoácidos que se obtiene de esta manera se analizará después, mediante cromatografía de intercambio iónico (ver capítulo 11), para determinar que aminoácidos se hallan presentes y cuáles son sus números relativos.

- ETAPA 2. IDENTIFICACION DE LOS RESTOS AMINO Y CARBOXILO TERMINALES.

Identificar el resto aminoácido que se halla en el extremo de la cadena, y es portador del grupo  $\alpha$ -amino libre, el extremo amino terminal. Sanger empleo para esta finalidad el reactivo 1-fluoro-2,4-dinitrobenceno (fig. 4-7 "b"), que puede marcar el resto aminoterminal de la cadena originando el derivado amarillo 2,4-dinitrofenilado (DNF), sometiéndose finalmente a una hidrólisis ácida, en donde el enlace covalente entre el grupo 2,4-dinitrofenilo y el grupo  $\alpha$ -amino del residuo amino terminal resiste el tratamiento. Este derivado puede separarse con facilidad de los aminoácidos libres no sustituidos e identificarse por comparación cromatográfica.

- ETAPA 3. FRAGMENTACION DE LA CADENA POLIPEPTIDICA.

A continuación se fragmenta otra muestra de la cadena polipeptídica intacta, se obtienen fragmentos menores, péptidos cortos que poseen por término medio, de 10 a 15 residuos aminoácidos. El objetivo es el de separar estas fragmentos y determinar la secuencia aminoácida de cada uno de ellos.

La fragmentación de la cadena polipeptídica puede conseguirse por diversos métodos. Un procedimiento corriente es la hidrólisis enzimática parcial (tabla 4-4).

● ETAPA 4. IDENTIFICACION DE LAS SECUENCIAS DE LOS FRAGMENTOS PEPTIDICOS.

Se determina, a continuación, la secuencia de cada fragmento peptídico procedente de la etapa 3. Con este objeto se emplea habitualmente un procedimiento llamado DEGRADACION DE EDMAN. El procedimiento químico ideado por Pehr Edman, marca y separa solamente al residuo amino terminal de los péptidos, mientras que deja intactos todos los demás enlaces péptidos (fig. 4-15). Después de la separación e identificación del residuo amino terminal por este método, el nuevo residuo amino terminal que queda expuesto puede ser marcado y separado, repitiendo la misma serie de reacciones, para finalmente deducir la *secuencia primaria de una proteína*.

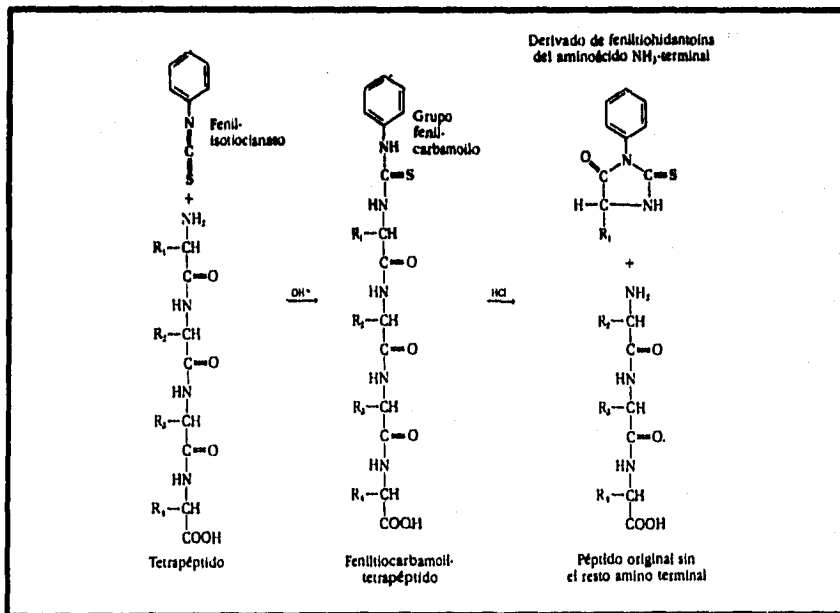


Figura 4-15 Etapas del procedimiento de degradación de Edman. El tetrapéptido de partida reacciona con fenilisocianato y rinde el tiocarbamoilderivado del residuo amino terminal. Este último se libera del resto del péptido sin que se rompan ninguno de los demás enlaces péptidos y se recupera como derivado de la fenilhidantoína, que puede ser identificado cromatográficamente. El tripéptido restante se somete, al mismo procedimiento y así sucesivamente hasta que se han identificado todos los residuos.

FUENTE: WHITE, ET AL. 1978

## 4.4.3.2. ESTRUCTURA SECUNDARIA

Esta estructura esta relacionada con el ordenamiento espacial de los residuos de aminoácidos próximos entre si, en la secuencia lineal. Algunas de estas relaciones estéricas son de naturaleza regular, originando una estructura periódica. Se incluyen en la estructura secundaria la  $\alpha$ -hélice, la lámina plegada  $\beta$  y la hélice del colágeno. (10)(21)(31)

En 1951, Pauling y Corey dedujeron la estructura de la  $\alpha$ -hélice, de igual forma descubrieron la estructura de la  $\beta$ -plegada, que difiere profundamente de la anterior en que es una hoja en vez de un cilindro ( fig. 4-16 y 4-17). (21)(47)

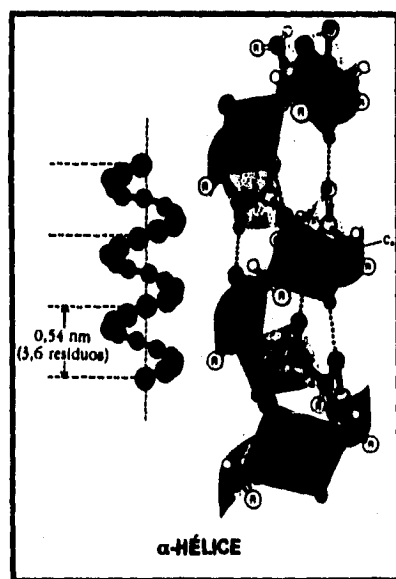


Figura 4-16 Estructura helicoidal.  
Unidad que se repite cada 0,54nm.

FUENTE: MATHEWS,1990 Y LEHNINGER,1991

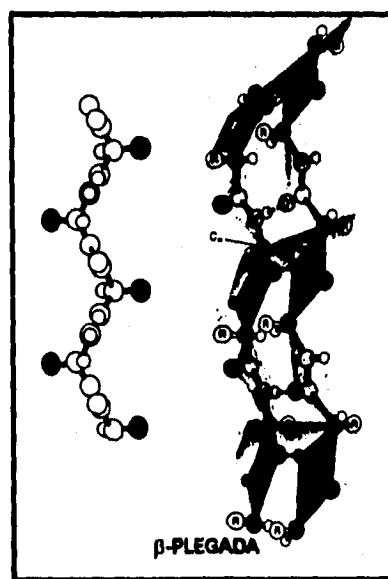


Figura 4-17 La conformación más extendida de  
las cadenas polipeptídicas.

Unidad que se repite cada 0,7nm.



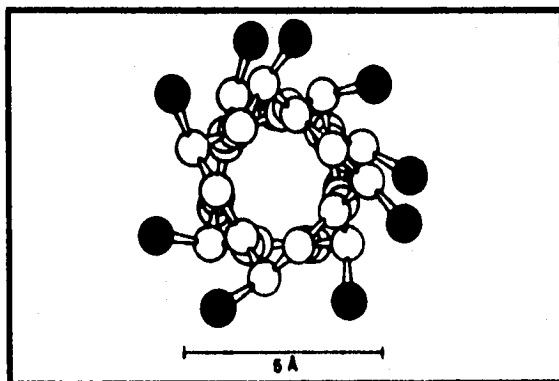


Figura 4-18 Vista superior de una sección transversal del  $\alpha$ -hélicoidal.

Los radios de van der Waals de los átomos son mayores de como se representan aquí; por consiguiente, casi no hay espacio libre dentro de la hélice. Nótese que las cadenas laterales quedan por fuera de la hélice.

FUENTE: STIVER, 1994

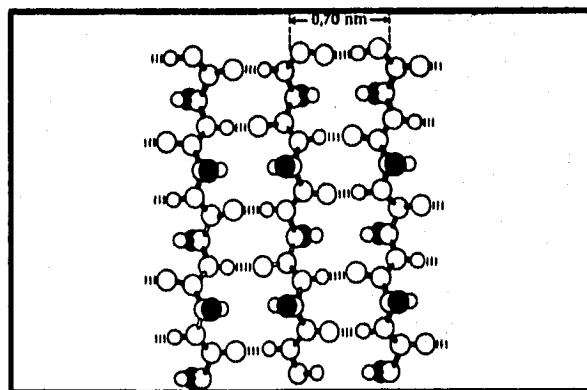


Figura 4-19 Vista superior de tres cadenas ordenadas en forma de hoja plegada ( $\beta$ ).

Se muestran los enlaces de hidrógeno transversales entre las cadenas adyacentes. Los grupos R aparecen sombreados.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

En 1930 William Astbury en Inglaterra efectuó los estudios iniciales de rayos X sobre las proteínas.

Encontrando que se obtenían 3 tipos distintos de difracción con rayos X con a) queratínas y elastina

(fig. 4-20), b) colágeno (posee una estructura superespiralizada a la que se denomina triple hélice), y c) fibroina (de la seda consta de varias cadenas  $\beta$ -laminares). Esto se debe a que las cadenas polipeptídicas pueden plegarse en estructuras regulares: la  $\alpha$ -hélice y la  $\beta$ -plegado. (4)(42)

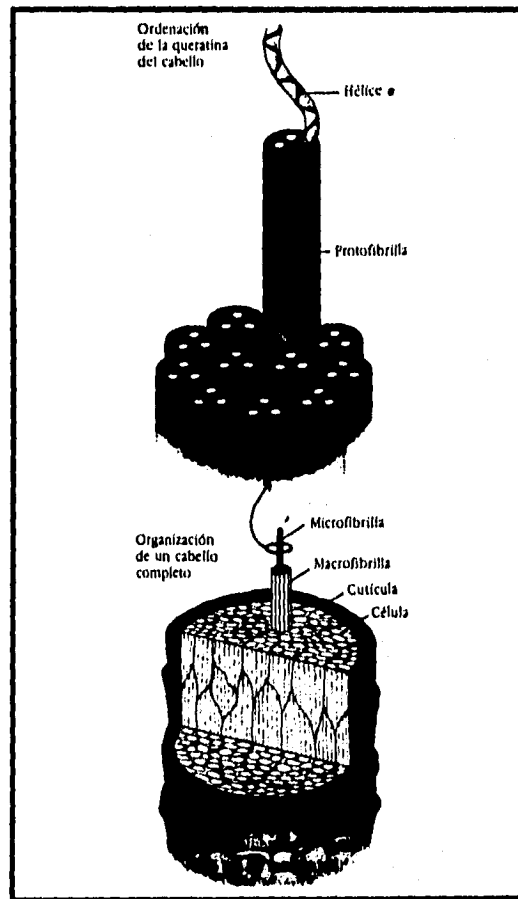


Figura 4-20 Estructura del pelo y de la  $\alpha$ -queratina del pelo.

La unidad básica de la estructura es una cadena polipeptídica de  $\alpha$ -queratina en su forma nativa de hélice- $\alpha$ . Tres cadenas de hélice- $\alpha$  forman un cordón superarrollado de tres hebras y 11 de tales cordones constituyen una microfibrilla del pelo.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

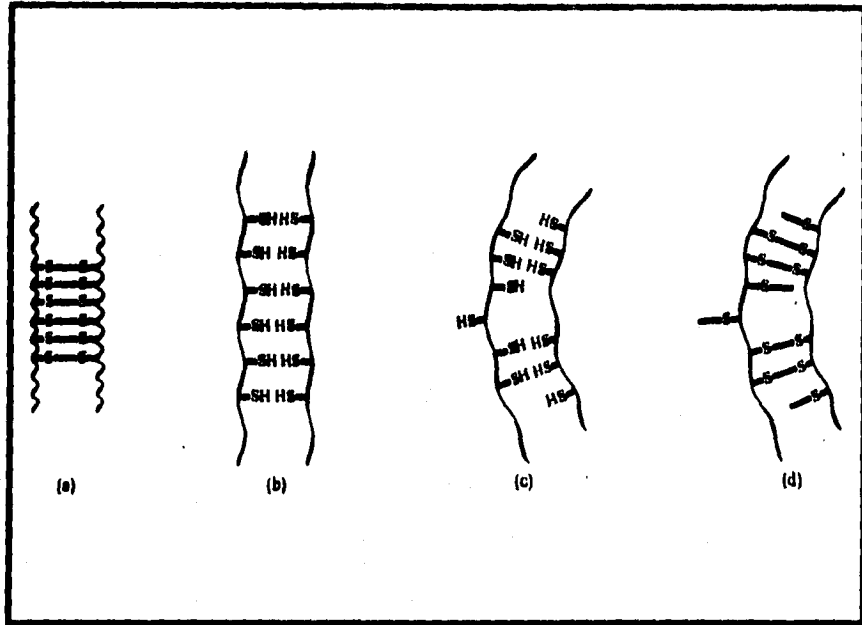


Figura 4-21 Etapas de la ondulación permanente.

A) En el pelo liso los arrollamientos en hélice- $\alpha$  de la queratina se mantienen en posición recta por intervención de los enlaces disulfuro transversales.

B) Para conferir el rizado se rompen los enlaces transversales por intervención de los reductores, lo que convierte los enlaces disulfuro de la cistina en los grupos tiol de los residuos de cisteína, uno en cada cadena.

C) El pelo se riza en una forma. A medida que los arrollamientos polipeptídicos se curvan, los correspondientes grupos tiol se desplazan unos de otros.

D) Se establecen nuevos enlaces transversales de cistina por oxidación de los grupos  $-SH$ . Los nuevos enlaces transversales convierten a los rizos en "permanentes".

FUENTE: LEININGER, 1991

**Tabla 4-6 Estructuras Secundarias Y Propiedades De Las Proteínas Fibrosas.**

ESTRUCTURA	CARACTERÍSTICAS	EJEMPLOS
Hélice $\alpha$ , enlaces transversales por cistina	Estructuras protectoras insolubles, resistentes de dureza y flexibilidad variables.	Pelo, plumas, uñas.
Conformación $\beta$	Filamentos blandos, flexibles.	Seda
Triple hélice del colágeno	Elevada fuerza tensil, sin estiramiento	Tendones, matriz ósea
Cadenas de elastina enlazadas transversalmente por desmosina	Dos direcciones estiramiento con elasticidad	Ligamentos

FUENTE. LEHNINGER, 1991

**Tabla 4-7 Resumen De La Estructura Secundaria De Las Proteínas.**

Fibrosa	Exclusivamente helicoidal.
	Exclusivamente laminar.
Globular	En parte helicoidal, en parte laminar y en parte aleatoria.
	En parte helicoidal y en parte aleatoria.
	En parte laminar y en parte aleatoria.
	Totalmente aleatoria.

FUENTE. BOHINSKI, 1991

#### 4.4.3.3. ESTRUCTURA TERCIARIA

Se emplea el término de estructura terciaria para designar el modo cómo se hallan plegadas las cadenas polipeptídicas de las proteínas globulares para que puedan adoptar las formas esféricas o globulares (fig. 4-22). (10)(47)

La deducción de la estructura tridimensional de las proteínas globulares lo constituyeron los estudios por rayos X de la mioglobina, globular, efectuados por John Kendrew y Colaboradores en Inglaterra, en los años de 1950. (10)

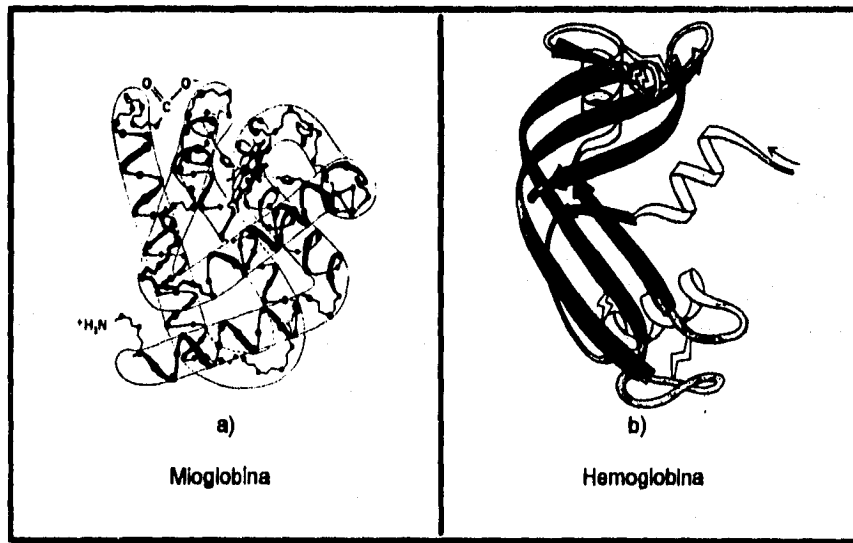


Figura 4-22 Se muestran como ejemplo los modelos de algunas proteínas que presentan estructura terciaria.

- a) En el caso de la mioglobina, sólo se representan los átomos de carbono  $\alpha$ , el grupo hemo y las dos histidinas adyacentes.
- b) En el caso de la ribonucleasa los segmentos de  $\alpha$ -hélice se representan en forma de hélice, las láminas  $\beta$  en forma plana y los puentes disulfuro en forma de rayo.

FUENTE: STRYER, 1994 y MATHEWS, 1991

**Tabla 4-8 Clasificación De Los Aminoácidos De Acuerdo Con La Polaridad Y La Situación En La Estructura De Las Proteínas Globulares.**

---

Los aminoácidos muy hidrofílicos se encuentran casi siempre en la superficie externa de las proteínas globulares.

Acido aspártico  
Acido glutámico  
Asparagina  
Glutamina  
Lisina  
Arginina  
Histidina

---

Los aminoácidos muy hidrofóbicos se encuentran, en su mayor parte, en el interior de las proteínas globulares.

Fenilalanina  
Leucina  
Isoleucina  
Metionina  
Valina  
Triptófano

---

Los aminoácidos de polaridad intermedia se encuentran tanto en el interior como en el exterior de las proteínas globulares.

Prolina  
Treonina  
Serina  
Cisteina  
Alanina  
Glicina  
Tirosina

FUENTE: LEININGER, 1991

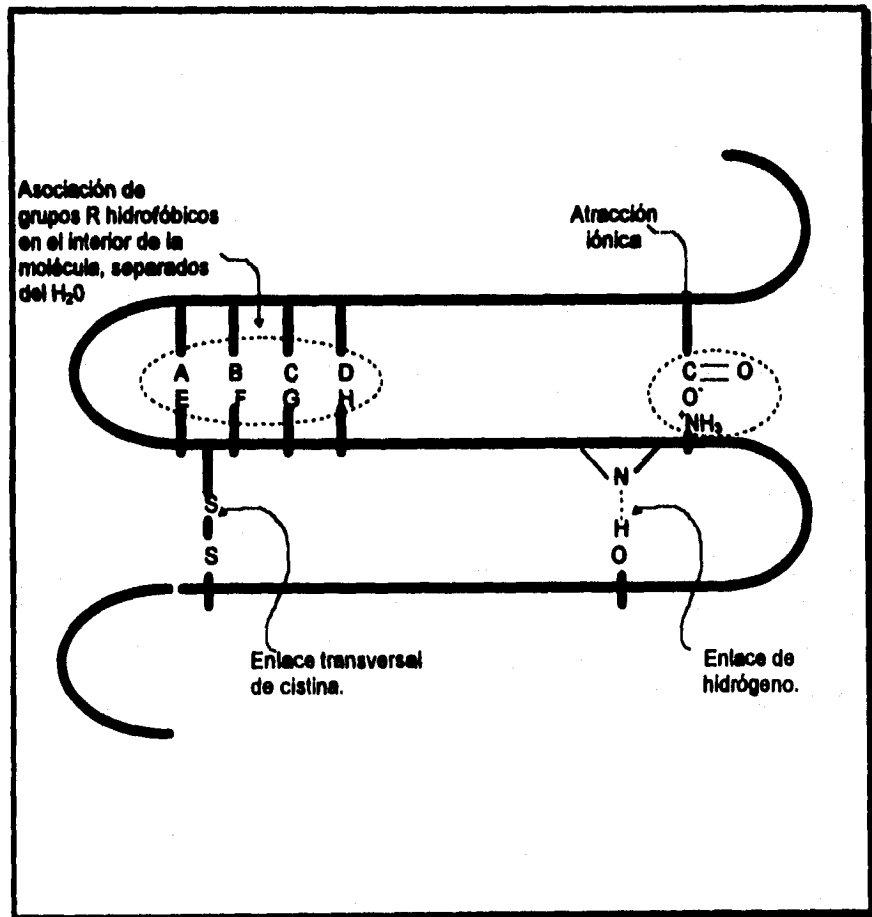


Figura 4-23 Factores que mantienen la estructura terciaria de las proteínas globulares.  
FUENTE: LEHNINGER, 1991

#### 4.4.3.4. ESTRUCTURA CUATERNARIA

El nivel cuaternario es una asociación de dos a más cadenas polipeptídicas unidas tan sólo por fuerzas de atracción no covalentes entre los grupos "R" de la superficie de las cadenas. No hay formación de enlaces covalentes, como los puentes -S-S-, entre las cadenas.

Las proteínas de este grupo se conocen como oligómeros (dímeros, trímeros, tetrameros, etc.) y las cadenas individuales suelen llamarse subunidades. Si las cadenas subunitarias son idénticas, la proteína es un oligómero homogéneo; si son diferentes (como en la hemoglobina), se llaman oligómeros heterogéneos. La hemoglobina constituye un ejemplo de nivel estructural cuaternario de las proteínas (fig. 4-24). (4)(10)

La estructura tridimensional fue deducida por Max Perutz y sus colegas en Cambridge. El análisis por rayos X ha revelado que la hemoglobina tiene una molécula aproximadamente esférica, con un diámetro de 5,5nm. Las 4 cadenas polipeptídicas se adaptan conjuntamente y adoptan una disposición aproximadamente tetraédrica, para construir la característica estructura cuaternaria de la hemoglobina (fig. 4-24). (10)



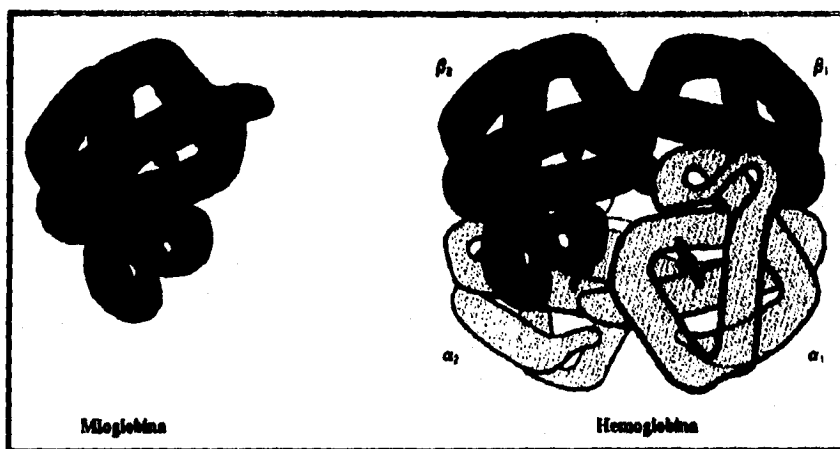


Figura 4-24 Comparación entre las estructuras de la mioglobina y la hemoglobina. Cada una de las 4 cadenas que conforman la hemoglobina presentan una estructura similar a la de la mioglobina. La hemoglobina consta de 2 cadenas  $\alpha$  idénticas y 2 cadenas  $\beta$  idénticas. Las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  se diferencian en su estructura primaria y en el No. de aminoácidos.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

Tabla 4-9 Algunas Proteínas Oligoméricas.

PROTEÍNA	Pm	CADENAS POR MOLECULA
Hemoglobina(mamíferos)	64500	4
Adenilato quinasa(hígado de rata)	18000	3
Hexaquinasa(levadura)	102000	2
Lactato deshidrogenasa(corazón de buey)	140000	4
Citocromo oxidasa	200000	7
Glutamato deshidrogenasa(hígado de buey)	320000	6
F <sub>1</sub> ATPasa	380000	9 o 10
RNA polimerasa( <i>E.coli</i> )	400000	5
Aspartato transcarbamilasa( <i>E.coli</i> )	310000	12
Isocitrato deshidrogenasa(corazón de buey)	1000000	10
Glutamina sintetasa( <i>E.coli</i> )	600000	12
Complejo de la piruvato deshidrogenas	4600000	72

FUENTE: LEHNINGER, 1991

**4.4.4. DESNATURALIZACION DE LAS PROTEINAS**

Dado que se trata de un estado muy frágil, la conformación original de las proteínas globulares está sujeta a alteraciones por diversos agentes químicos, físicos o fisicoquímicos (tabla 4-10), sin que ocurran cambios en la secuencia de los aminoácidos. Esta pérdida de la conformación original se llama desnaturalización. (4)(8)(31)(47)

Según Mertz, la desnaturalización puede definirse como cualquier cambio en una proteína globular que disminuye su solubilidad en el punto isoelectrónico. (31)

Dependiendo del grado de desnaturalización, el término posee varios significados (fig. 4-25). Nótese que en algunas proteínas el proceso es reversible. El restablecimiento de la conformación y la actividad biológica es otra prueba de que los niveles estructurales secundario, terciario y cuaternario de las proteínas dependen de la estructura primaria (fig.4-26). (4)(31)(47)

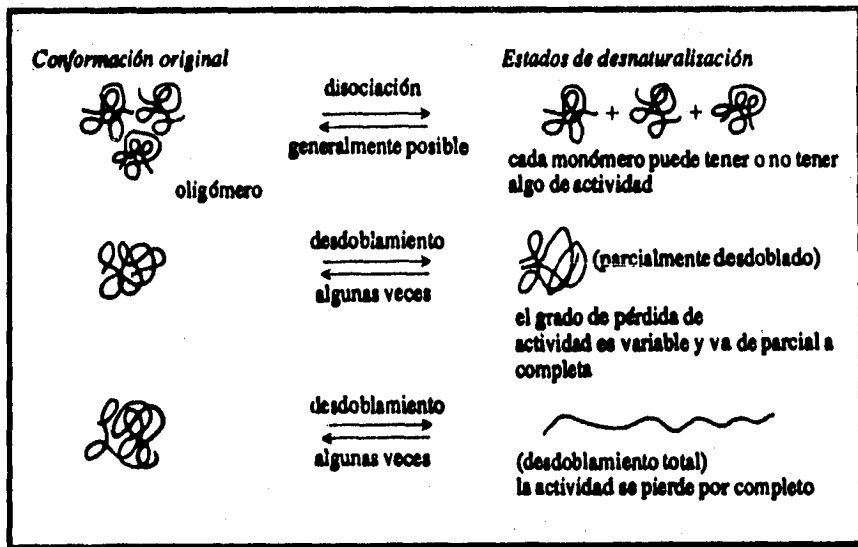


Figura 4-25 Conformación original y estados de desnaturalización.

FUENTE: BOHINSKI, 1991

La estructura rígida de una proteína globular se mantiene en su forma mediante 3 tipos principales de enlaces cruzados: (31)

1. S-S dítio.
2. Puentes de sal (entre los ácidos aspártico y glutámico, y lisina y arginina).
3. Enlaces de hidrógeno (entre enlaces peptídicos  $-C=O\dots H-N-$ , y grupos "polares" semejantes).

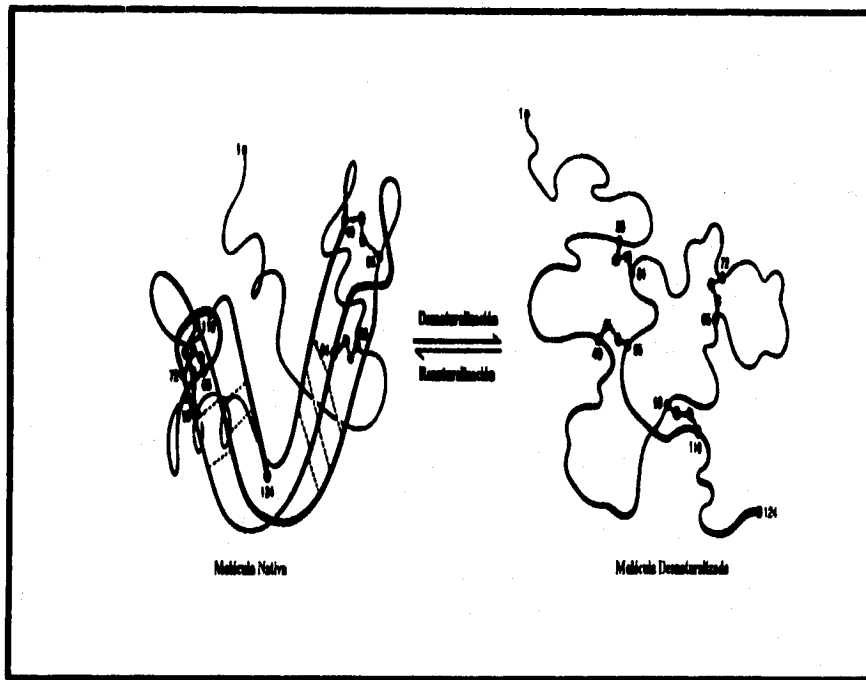


Figura 4-26 Desnaturalización térmica de la ribonucleasa. Este esquema muestra el cambio en la conformación de la molécula nativa de ribonucleasa, debido, a la ruptura de algunos enlaces que la estabilizaban. Nótese que los enlaces disulfuro (de color más claro) no fueron atacados. El calor y otros tratamientos pueden desnaturalizar o desplegar a las proteínas nativas globulares sin que se rompa el enlace covalente del esqueleto. La proteína desnaturalizada puede adoptar muchas formas diferentes, las cuales, habitualmente, son inactivas biológicamente.

FUENTE: MATHEWS, 1991 y LEININGER, 1991

Tabla 4-10 Desnaturalizantes De Proteínas.

AGENTE	CAUSA PROBABLE DE DESNATURALIZACIÓN
Calor.	Ruptura térmica de los puentes de sal, "fusión" del agua retenida como cristal de hielo.
Ácidos minerales y álcalis.	Ruptura de los puentes de sal.
Acetona.	Ruptura de los enlaces de hidrógeno.
Alcoholes	Ruptura de los enlaces de hidrógeno.
Urea.	Ruptura de los enlaces de hidrógeno.
Ácidos tungstíco, picríco, tricloroacético.	Ruptura de los puentes de sal.
Trituración vigorosa.	Desconocida.
Batido o agitación.	Desplazamiento de las cadenas peptídicas (la proteína de monocapas se forma en la superficie y en la espuma).
Luz visible + sensibilizador.	Desconocida.
Ondas ultrasónicas.	Agitación mecánica, efectos térmicos, liberación de (O) del agua.
Luz ultravioleta; también, rayas X.	Absorción de energía, ruptura de los enlaces.

FUENTE: MERTZ, 1971

Cuando las cadenas peptídicas, fuertemente plegadas, de una proteína globular se desdoblaron en un grado notable debido a la desnaturalización, la proteína globular soluble se transforma en proteína insoluble de tipo fibroso. De esta manera, se producen fibras comerciales a partir de proteínas globulares. (8)(31)

En 1964 el trabajo de Christian Anfinsen sobre la ribonucleasa, un enzima que hidroliza el RNA, vino a dar una nueva visión de las relaciones entre la secuencia de los aminoácidos de una proteína y su conformación. La ribonucleasa es una cadena polipeptídica que contiene 124 residuos de aminoácidos. (42)

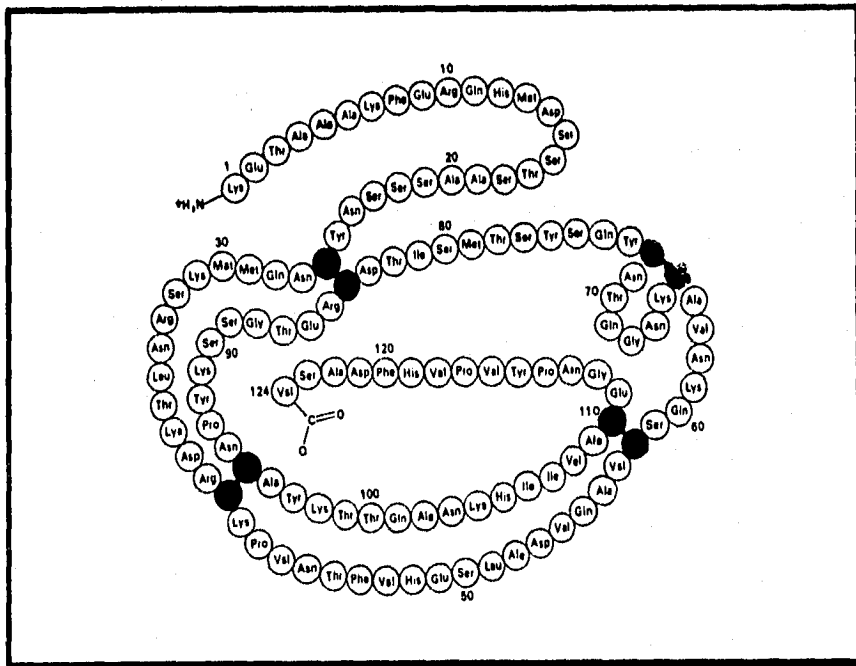


Figura 4-27 Secuencia de aminoácidos de la ribonucleasa bovina. Los cuatro enlaces disulfuro se representan más oscuros.

FUENTE: MOORE, 1973

Cuando las cadenas peptídicas, fuertemente plegadas, de una proteína globular se desdoblaron en un grado notable debido a la desnaturalización, la proteína globular soluble se transforma en proteína insoluble de tipo fibroso. De esta manera, se producen fibras comerciales a partir de proteínas globulares. (8)(31)

En 1964 el trabajo de Christian Anfinsen sobre la ribonucleasa, un enzima que hidroliza el RNA, vino a dar una nueva visión de las relaciones entre la secuencia de los aminoácidos de una proteína y su conformación. La ribonucleasa es una cadena polipeptídica que contiene 124 residuos de aminoácidos. (42)

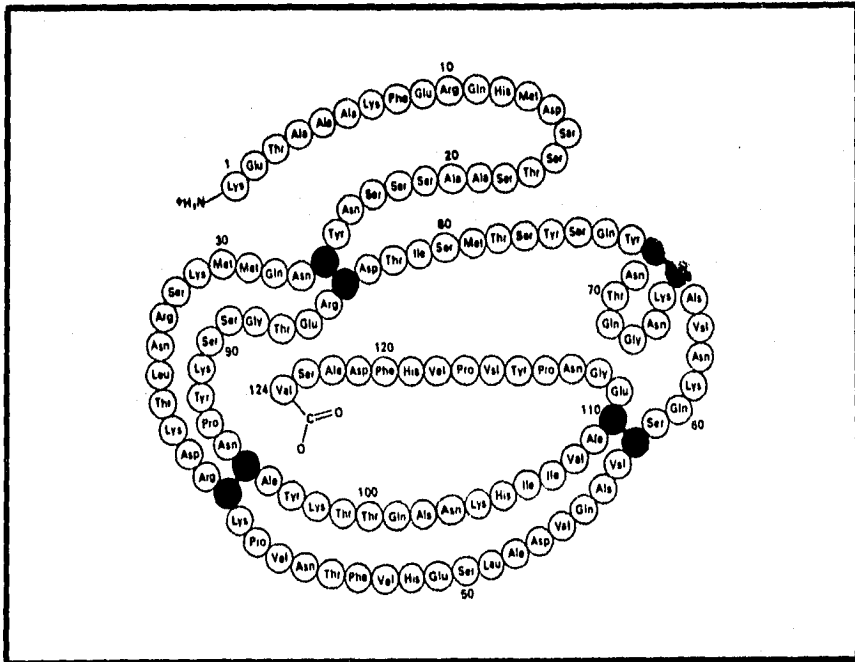


Figura 4-27 Secuencia de aminoácidos de la ribonucleasa bovina. Los cuatro enlaces disulfuro se representan más oscuros.

FUENTE: MOORE, 1973

Sus cuatro puentes disulfuro pueden escindirse reversiblemente reduciéndolos con un reactivo, tal como el  $\beta$ -mercaptoetanol, que forma disulfuros mixtos con las cadenas laterales de cisteína. En presencia de gran exceso de  $\beta$ -mercaptoetanol, los disulfuros mixtos también son reducidos, de modo que el producto final es una proteína en la cual los disulfuros (cistina) están completamente transformados en sulfhidrilos (cisteína). La estructura del  $\beta$ -mercaptoetanol es  $\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$

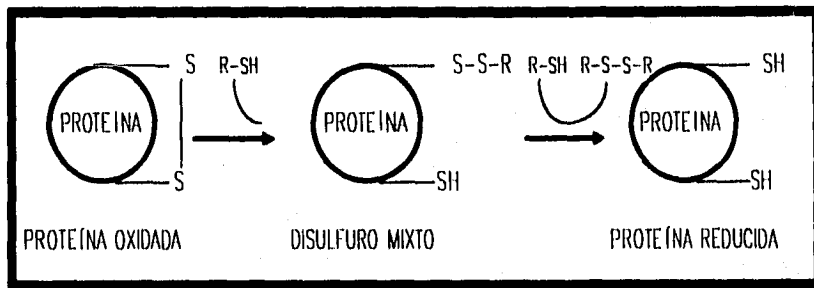


Figura 4-28 Reducción de los enlaces disulfuro en una proteína por exceso de reactivo sulfhidrilo tal como el  $\beta$ -mercaptoetanol.

FUENTE: STRYER, 1994

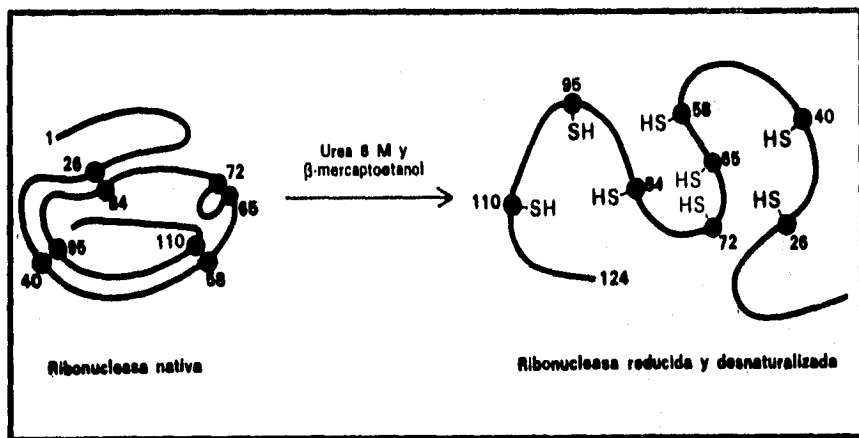


Figura 4-29 Reducción y desnaturalización de la ribonucleasa.

FUENTE: STRYER, 1994

Anfinsen hizo entonces la observación crucial de que la ribonucleasa desnaturalizada, liberada de la urea y del  $\beta$ -mercaptoetanol por diálisis, recuperaba lentamente la actividad enzimática. Inmediatamente percibió el significado de este hallazgo casual: los sulfhidrilos del enzima desnaturalizado quedaban oxidados por el aire y de esta forma el enzima se plagaba espontáneamente en una forma catalíticamente activa. Todas las propiedades físicas y químicas medidas en el enzima reconvertido eran virtualmente idénticas a las del enzima nativo. (42)

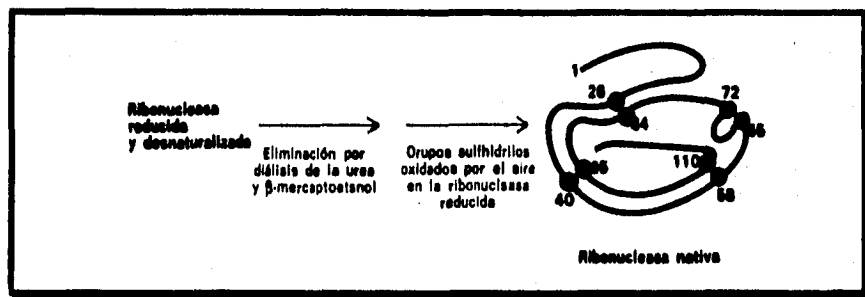


Figura 4-30 Renaturalización de la ribonucleasa.

FUENTE: STRYER, 1994

Existen 105 formas diferentes de aparear 8 cisteínas para formar cuatro enlaces disulfuro; solamente una de estas combinaciones es enzimáticamente activa. Los 104 apareamientos equivocados han sido denominados de forma pintoresca ribonucleasa "revuelta". Anfinsen encontró entonces que la ribonucleasa "revuelta" podía convertirse espontáneamente en ribonucleasa nativa, completamente activa, cuando se añaden pequeñas trazas de  $\beta$ -mercaptoetanol a la disolución de la proteína reoxidada (fig. 4-31). (42)

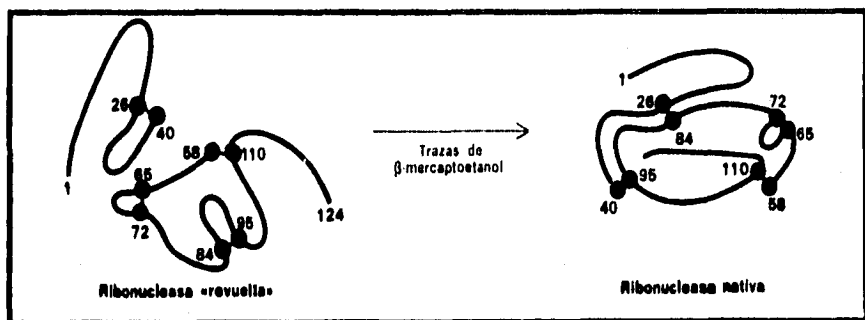


Figura 4-31 Formación de la ribonucleasa nativa a partir de la ribonucleasa "revuelta".

FUENTE: STRYER, 1994



## 5.1. INTRODUCCION

Una enzima es un catalizador biológico que lleva a cabo reacciones bioquímicas a muy altas velocidades y con un elevado grado de especificidad; en su ausencia, la mayoría de las transformaciones químicas requeridas para mantener activas las células tardarían mucho tiempo en efectuarse o simplemente no procederían. Su nombre proviene del griego y significa "en la levadura", ya que a finales del siglo pasado, cuando se creó el término, se pensaba que estas compuestas sólo actuaban en el interior de las células. (3)

Todos los animales y vegetales, al igual que los hongos, levaduras y bacterias sintetizan las enzimas; de hecho, su acción está estrechamente ligada con cualquiera de las etapas biológicas (nacimiento, germinación, desarrollo, crecimiento, reproducción, senectud, muerte, etc.) de todos los tejidos activos. Debido a esto, los alimentos contienen una gran variedad de enzimas endógenos (es, decir propias del alimento) que les provocan cambios benéficos y dañinos, además de las que provienen de las distintas contaminaciones microbianas. Por esta razón, es muy importante conocer las diversas actividades enzimáticas de cada producto, para así obtener ventajas de ellas y evitar los problemas indeseables que puede traer consigo su presencia. (3)

La enzimología así como las tecnologías que emplean enzimas pertenecen a la era moderna; sin embargo, su uso para la producción de alimentos se remonta a muchos siglos atrás. El vino lo

conocían los egipcios y los asirios 3000 años antes de Cristo, pero fué sólo hasta nuestro siglo cuando se descubrieron los mecanismos de la fermentación. En la antigüedad, muchos pueblos utilizaban las hojas de ciertas plantas para envolver diferentes derivados cárnicos; esto facilitaba la acción de las proteasas vegetales (papaina, bromelina y ficina) sobre las proteínas animales, y se provocaba el ablandamiento de la carne. Asimismo, algunas tribus utilizaban el estómago de corderos y becerros para elaborar alimentos menos perecederos a partir de la leche de distintas especies; ahora se sabe que la acción de la renina sobre las caseínas provoca la coagulación de la leche, que es uno de los primeros pasos en la manufactura de la gran mayoría de los quesos conocidos. (3)

Actualmente se conoce la existencia de más de 2000 enzimas, de las cuales muchas ya han sido aisladas, purificadas y cristalizadas; su estructura química es de carácter proteínico globular. Su especificidad de catálisis es única pues es mucho mayor que la de la gran mayoría de otros compuestos orgánicos e inorgánicos que se emplean en los distintos procesos industriales. En relación con su velocidad de acción, algunas de ellas tienen la capacidad de transformar más de un millón de moléculas de sustrato, por segundo, por molécula de enzima; cabe indicar que, al igual que otros catalizadores, sólo aceleran la velocidad de aquellas reacciones que termodinámicamente son posibles. (3)

El técnico en alimentos trabaja continuamente con sistemas en los que las enzimas desempeñan un papel muy importante; muchos productos alimenticios se fabrican a través de reacciones químicas que se efectúan por medio de las enzimas endógenas, por las que se añaden o por las de los microorganismos. (3)

Todos los enzimas son proteínas, tienen una estructura tridimensional globular, están formados generalmente por una sola cadena polipeptídica, y sólo logran ser activos cuando las polímeros desarrollan una conformación que permite establecer su centro activo. En muchos casos están integradas por una parte proteínica (apoenzima) y otra que no lo es (cofactor). Este último es un compuesto de peso molecular bajo, muy estable al calor, que presenta varios grados de unión con la apoenzima; los principales cofactores son las vitaminas (tiamina, niacina, piridoxina, riboflavina y ácido pantoténico), los cationes (cobre, molibdeno, zinc, magnesio, hierro, manganeso y calcio), los aniones (cloruros) y otras sustancias orgánicas. (3)

*Debido a su naturaleza química, a las enzimas les afectan los mismos factores que afectan a las proteínas por esta razón, cada una de ellas, para actuar en forma óptima, requiere de ciertas condiciones como la temperatura, el pH, etc. (3)*

**5.2. ANTECEDENTES**

**Tabla 5-1 Repercusión Social Del Desarrollo De La Ingeniería Enzimática.**

- Reutilización de desperdicios industriales.
- Uso más eficiente de recursos.
- Nuevos procesos químicos no contaminantes.
- Sustitución de la fermentación por procesos enzimáticos.
- Uso de enzimas como catalizadores en la industria química.
- Mayor flexibilidad en la localización de plantas químicas.
- Desarrollo de nuevos productos y procesos.
- Mejoría en la calidad de los productos.
- Progreso en la terapia de enfermedades congénitas.
- Desarrollo de métodos rápidos y exactos en la medición de efectos de drogas.
- Utilización de técnicas avanzadas de ingeniería enzimática en la práctica médica.
- Disminución de la contaminación de aguas (ríos y mares).
- Disminución de la contaminación del aire.
- Mejoría de la balanza de pagos por pago de regalías y venta de tecnología Enzimática al exterior.

FUENTE: LOPEZ Y QUINTERO, 1987

**Tabla 5-2 Areas De Aplicación Presente Y Potencial De La Tecnología Enzimática.**

Agricultura	Fijación de nitrógeno. Biodegradación.
Química	Síntesis orgánica. Petroquímica.
Energía	Conversión de celulosa. Utilización de alimentos.
Alimentos	Aminoácidos. Modificación de alimentos.
Productos Farmacéuticos.	Antibióticos. Enzimoterapia

FUENTE: LOPEZ Y QUINTERO, 1987

Tabla 5-3 Principales Aplicaciones Industriales De Enzimas En Alimentos.

INDUSTRIA	ENZIMA	USO
Panadería	$\alpha$ -Amilasa fúngica	Mejoramiento general.
	Proteasa fúngica	Ablandamiento de masa.
	Lipoxidasa	Blanqueado de pan.
Cervecería	$\alpha$ -Amilasa bacteriana	Malteado de cebada y otras cereales.
	Proteasa bacteriana	
	Amiloglucosidasa Fúngica	Elimina dextranos y endulza la cerveza.
	Papaina	Clarificación
	$\beta$ -Glucanasa	Disminuye la viscosidad.
Azucarera	$\alpha$ -Amilasa bacteriana	Salubilización de almidón a alta
	Amiloglucosidasa fúngica	temperatura.
	Invertasa	Conversión de almidón a glucosa
	Glucosa isomerasa	Hidrólisis de sacarosa. Conversión de glucosa a fructosa.
Láctea	Renina o sustituto	Cuejado de leche.
	Penicilinas	Eliminación de penicilina en leche.
	Lactasa	Producción de leche y suero sin lactasa.
	Catalasa	Eliminación de $H_2O_2$ .
Helados	Lactasa	Eliminación de lactosa que puede cristalizar.
Frutas	Pectinasas	Mejoras diversas (clarificación, filtrado, etc.)
Vegetales	Celulasas	Ablandamiento y mejora del sabor.
Huevo	Glucosa oxidasa	Eliminación de glucosa antes del secado.
	Lipasas	Propiedades espumantes de clara de huevo.
Carnes	Papaina	Ablandamiento.

FUENTE: GACETA, ET. AL., 1990 Y WISEMAN, ET. AL., 1991

### 6.3. PROPIEDADES GENERALES DE LAS ENZIMAS

1. Son muy específicas.
2. Son de naturaleza proteica. (excepto ribozima-ARN catalítico)
3. Son globulares. (Presentando estructura 1a., 2a., y 3a.)
4. Sufren desnaturalización.
5. La velocidad de reacción es de dos a tres órdenes de magnitud mayor que la de los catalizadores inorgánicos.
6. Las condiciones de reacción, temperatura y presión relativamente bajas, hacen que su uso sea poco costoso.  
Además, los adelantos en diversos áreos han permitido que las enzimas tengan mas aplicaciones porque:
7. Se pueden producir fácilmente y en gran cantidad mediante técnicas genéticas.
8. Se reutilizan mediante técnicas de inmovilización.
9. Se pueden realizar reacciones de síntesis en varios pasos.

FUENTE. LOPEZ Y QUINTERO, 1987

El peso molecular de los enzimas varía considerablemente; el de la lisozima, por ejemplo es de 14400 y el de la  $\beta$ -galactosidasa de 52000 (tabla 5-4).

Tabla 5-4 Peso Molecular De Algunas Enzimas

ENZIMA	PESO MOLECULAR
Lisozima	14400
Fosfatasa alcalina	80000
Proliferol oxidasa	128000
Catalasa	232000
Ureasa	483000
$\beta$ -Galactosidasa	520000
Renina	31000
Bromelina	33000
Papaina	23900
Pepsina	33000

FUENTE: BADUI, 1993

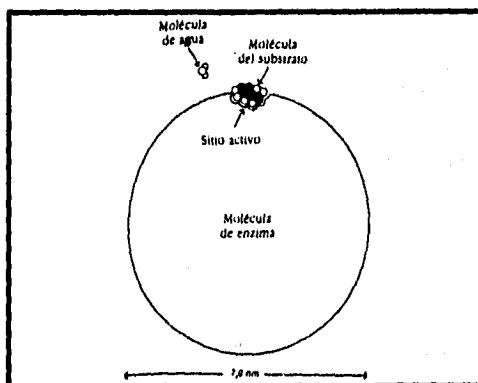
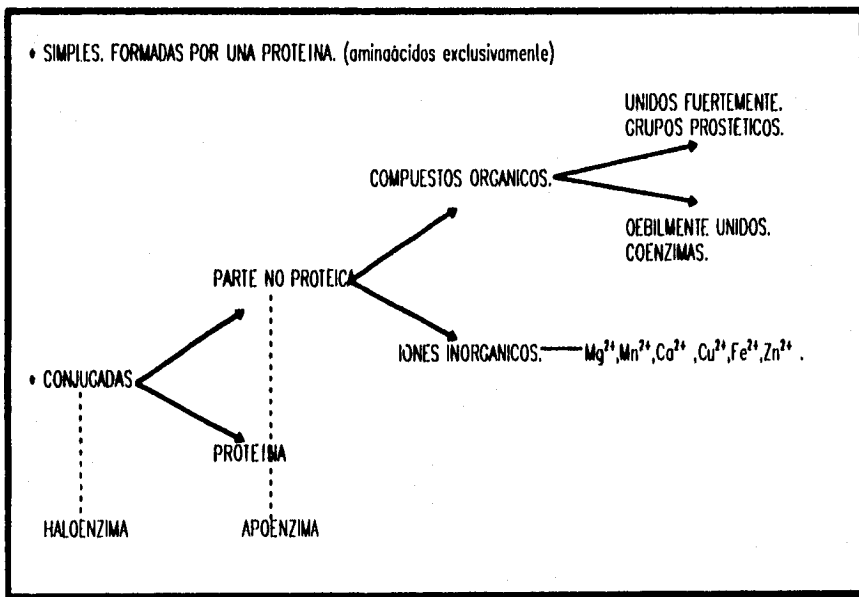


Figura 5-1 Dimensiones relativas de una molécula de enzima de tamaño medio (Pm 100 000, 7nm de diámetro) y de una molécula de sustrato típica (Pm 250, longitud 0,8nm). El sitio activo ocupa solamente una pequeña fracción del área superficial de la molécula del enzima. Se muestra, también, la molécula del agua con fines comparativos.

FUENTE: LEHNINGER, 1991



FUENTE, LEHNINGER, 1991

### 5.4.1. COFACTORES

Algunas enzimas, necesitan para su actividad un componente químico adicional llamado cofactor, este puede ser bien inorgánico, como los iones  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  o  $Zn^{2+}$ , o una molécula orgánica compleja llamada coenzima (tabla 5-5). (27)



Tabla 5-5 Enzimas Que Contienen o Necesitan Elementos Inorgánicos Esenciales Como Cofactores.

$Fe^{2+}$ o $Fe^{3+}$	Citocromo oxidasa. Catalasa. Peroxidasa.
$Cu^{+}$	Citocromo oxidasa.
$Zn^{2+}$	DNA polimerasa. Anhidraso carbónica. Alcohol deshidrogenasa.
$Mg^{2+}$	Hexoquinasa. Glucosa-6-fosfatasa.
$Mn^{2+}$	Arginasa.
$K^{+}$	Piruvatoquinasa (también preciso $Mg^{2+}$ )
$Ni^{2+}$	Ureasa.
Mo	Nitrato reductasa.
Se	Peroxidasa del glutatión.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

### 5.4.2. COENZIMAS

Las coenzimas reciben o ceden un fragmento, químicamente activado proveniente del sustrato, las coenzimas no se consumen en la reacción y solo actúan captando y liberando ciertos grupos participantes. Cuando están fuertemente unidas a la enzima reciben el nombre de grupo prostético.

Tabla 5-6 Coenzimas Que Actúan Como Transportadores Eventuales De Átomos Específicos O De Grupos Funcionales.

COENZIMAS	ENTIDAD TRANSFERIDA
Pirifosfato de tiamina.	Aldehidos.
Dinucleótido de flavina y de adenina.	Átomos de hidrógeno.
Dinucleótido de nicotinamida y de adenina.	Ion hidruro ( $H^{-}$ ).
Coenzima A.	Grupos acilo.
Fosfato de piridoxal.	Grupos amino.
5'-Desoxiadenosilcobalamina. (Coenzima $B_{12}$ )	Átomo de H y grupos alquilo.
Biotina.	$CO_2$
Tetrahidrofolato.	Otros grupos monocarbonadas.

FUENTE: LEHNINGER, 1991



### 5.5.1. LOS ENZIMAS INCREMENTAN LA VELOCIDAD DE LAS RECCIONES QUIMICAS DISMINUYENDO SU ENERGIA DE ACTIVACION

Los enzimas son catalizadores verdaderas. Provocan un aumento grande de la velocidad de reacciones quimicas especificas que de otra modo sólo se producirían muy lentamente. No pueden alterar el punto de equilibrio de la reacción que promueven ni se consumen en ellas o experimentan alteraciones permanentes en las mismas.

Debe recordarse, en primer lugar, que el contenido de energía de las moléculas individuales en una población, a temperatura constante, varía mucha y puede representarse por una curva de forma de campana. Algunas moléculas son muy ricas en energía, algunas son muy pobres, pero la mayor parte tienen un contenido de energía próximo al valor medio. Una reacción química, tal como  $A \longrightarrow P$ , tiene lugar porque una fracción de moléculas de A, en un instante determinado, posee más energía interna que el resto de la población, la suficiente para que pueda ascender la cima de la "colina" de energía, hasta una forma capaz de reaccionar llamada el *estado de transición*. *La energía de activación de una reacción es la cantidad de energía expresada en calorías necesaria para llevar todas las moléculas de 1mol de una substancia a una temperatura determinada al estado de transición en la cima de la barrera de energía* En este punto todas tienen la misma probabilidad de experimentar la reacción y formar los productos o retroceder y reunirse, de nuevo, con el conjunto de moléculas de A que no han reaccionado. La velocidad de cualquier reacción química es proporcional a la concentración de las especies en el estado de transición. Así, la velocidad de una reacción química será muy elevada si se hallan en el estado de

transición una cantidad grande de moléculas de A, pero muy baja si solamente se halla en dicho estado una fracción pequeña de las moléculas de A.

Hay dos métodos generales por los que se puede aumentar la velocidad de una reacción química: Uno es el de aumentar la temperatura, la cual incrementa el movimiento térmico de las moléculas y de este modo lo hace la fracción de moléculas que posee suficiente energía interna para alcanzar el estado de transición. Habitualmente la velocidad de una reacción química se duplica por cada 10°C de aumento de la temperatura.

El segundo método para acelerar una reacción química es el añadir un catalizador. Los catalizadores aceleran las reacciones químicas, porque encuentran un "paso" más bajo para atravesar la barrera de la energía. El catalizador, representado por C, se combina transitoriamente con el reactivo A para producir un nuevo complejo o compuesto CA, cuyo estado de transición posee una energía de activación muy inferior a la del estado de transición de A en la reacción no catalizada. El complejo CA, catalizador-reactivo, reacciona entonces y forma el producto P, con lo que se libera el catalizador libre que puede combinarse de nuevo con otra molécula de A y repetir el ciclo. De este modo el catalizador disminuye la energía de activación de las reacciones químicas, permitiendo que una fracción mucho mayor de las moléculas de una población determinada reaccione por unidad de tiempo que en ausencia del catalizador. Existe mucha evidencia que muestra que los enzimas, al igual que los demás catalizadores, se combinan, también, con los sustratos durante el curso de sus ciclos catalíticos.

FUENTE: LEHNINGER, 1991 Y MONTGOMERY, 1992

La catálisis disminuye la barrera de energía de activación de las reacciones químicas sin alterar la variación de energía libre global de la reacción o la posición final del equilibrio. En el máximo de la barrera de energía de activación existe un estado de transición. (27)(32)

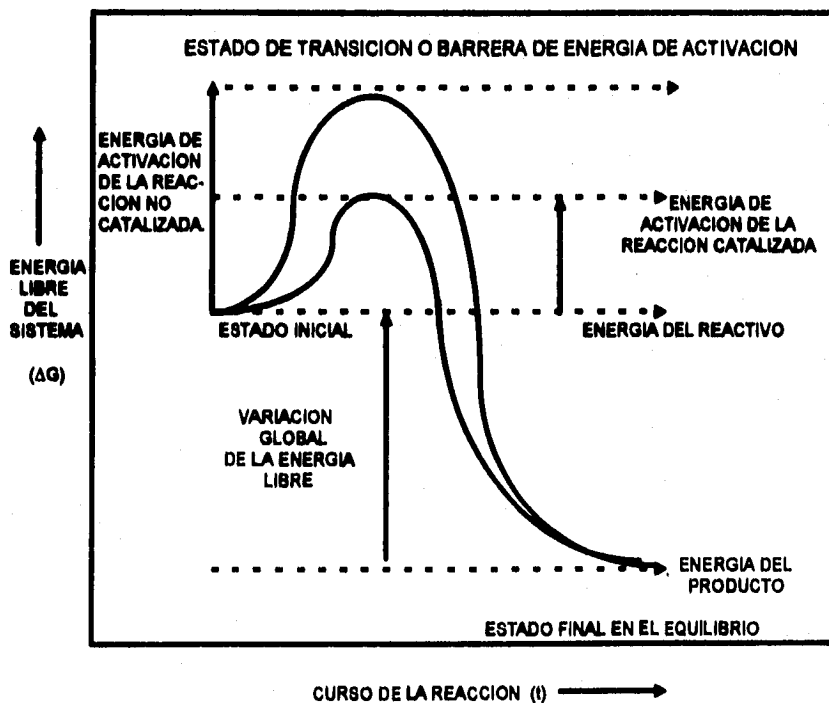


Figura 5-2 Diagrama de la energía de las reacciones catalizadas y no catalizadas.  
FUENTE: MONTGOMERY, 1992.

## 5.6. ESPECIFICIDAD ENZIMÁTICA

Los enzimas son altamente específicos (propiedad que los hace muy diferentes a muchos catalizadores no biológicos), tanto en la reacción que catalizan como en la selección de las sustancias reaccionantes denominadas *sustratos*. Un enzima cataliza normalmente una sola reacción química o un grupo de reacciones estrechamente relacionados. (15)

### 5.6.1. ALGUNAS CARACTERÍSTICAS DE LOS CENTROS ACTIVOS

El centro activo de un enzima es la región que se une al sustrato (y al grupo prostético, si existe) y contiene los residuos que participan directamente en la producción y ruptura de enlaces. Estos residuos se denominan *grupos catalíticos*. Aunque los enzimas difieren ampliamente en estructura, especificidad y modo de catálisis, se puede establecer un número de generalizaciones respecto a sus centros activos: (15)(42)(49)

1. *El centro activo supone una porción relativamente pequeña del volumen total del enzima*. Casi todos los enzimas están constituidos por más de 100 residuos de aminoácidos, lo que les da una masa mayor de 10kd y un diámetro mayor de 25 Å (fig.5-5).
2. *El centro activo es una entidad tridimensional*
3. *Los sustratos se unen a los enzimas por numerosas fuerzas débiles*. Las interacciones no covalentes en los complejos ES son mucho más débiles que los enlaces covalentes, que tienen energías entre -50 y -110 kcal/mol. Las fuerzas de van der Waals llegan a ser importantes en la unión sólo cuando varios átomos de sustrato se acercan simultáneamente a varios átomos del enzima. Por consiguiente, el enzima y el sustrato deben tener formas complementarias. El carácter direccional de los enlaces de hidrógeno entre el enzima y el sustrato a menudo obliga a un alto grado de especificidad (fig. 5-5).

4. *Las centros activos son hoyas o hendiduras* En todos los enzimas de estructura conocida, las moléculas de sustrato quedan ligadas a un hoyo o a una hendidura de la cual el agua ha quedado normalmente excluida, salvo que sea un componente de la reacción. El carácter no polar de esta hendidura aumenta la afinidad por el sustrato.

*La especificidad del enlace depende de la disposición exactamente definida de las átomos del centro activo* Un sustrato debe tener una forma adecuada para introducirse en el centro. La metáfora establecida en 1890 por Emil Fisher, sobre la llave y la cerradura (fig 5-3), ha demostrado ser esencialmente correcta y una forma muy fructífera de contemplar la estereoespecificidad de la catálisis. Sin embargo, está probado que la forma de los centros activos de algunos enzimas se modifican sensiblemente al unirse al sustrato, como fue postulado por Daniel E. Koshland, Jr. en 1958. Los centros activos de estos enzimas tienen formas que son complementarias a la del sustrato solamente *después* de que el sustrato se ha unido. Este proceso de reconocimiento dinámico se denomina *ajuste inducido* (fig. 5-4). (12)

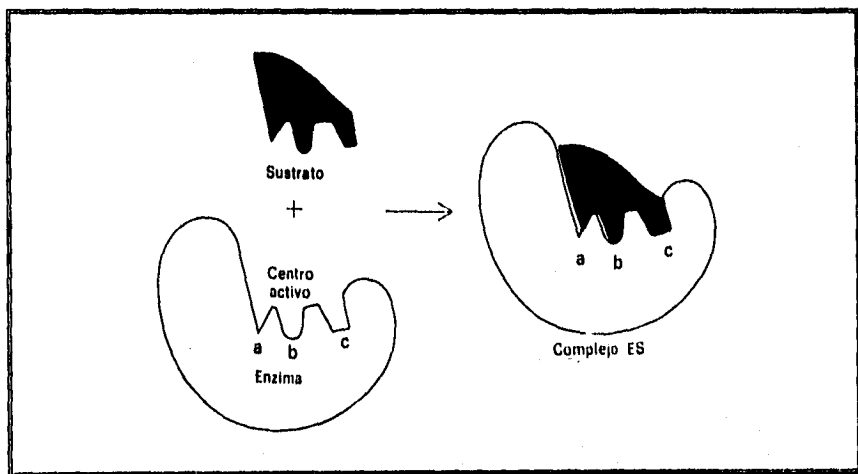


Figura 5-3 Modelo de la llave y la cerradura de la interacción de sustratos y enzimas. El centro activo del enzima por sí mismo es complementario a la forma del sustrato.

FUENTE: STRYER, 1994

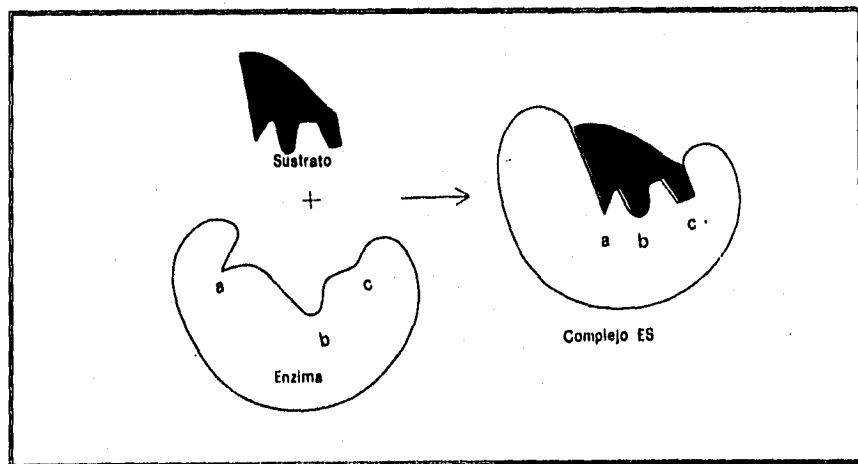
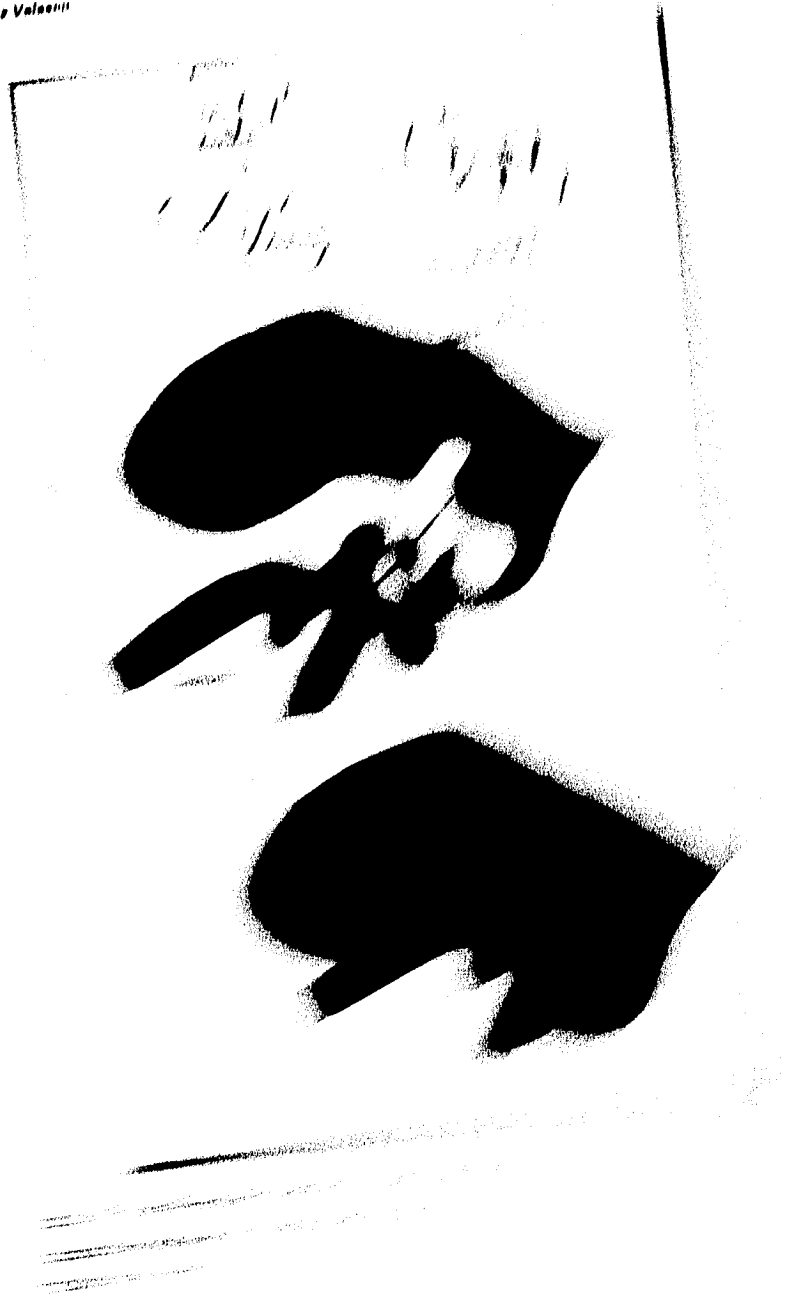


Figura 5-4 Modelo del ajuste inducido para la interacción de los sustratos con los enzimas. El centro activo tiene una forma complementaria a la del sustrato solamente después que el sustrato se une a él.

FUENTE: STRYER, 1994

Miriam Alvarez Valentin





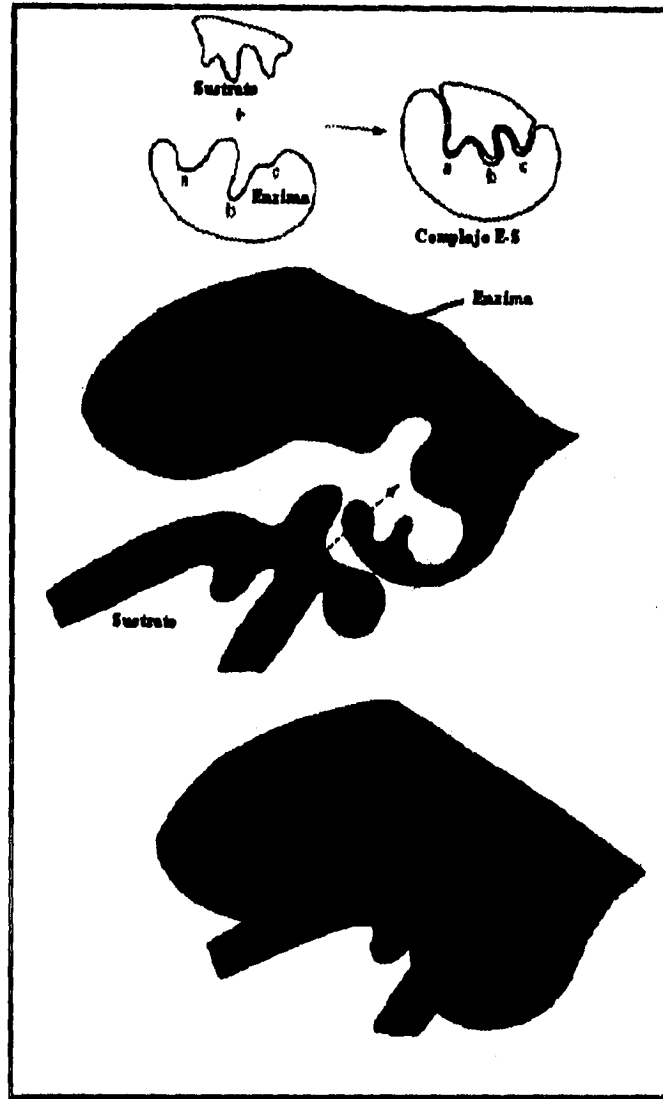


Figura 5-5 En esta figura se muestran los pasos generales para el reconocimiento entre un enzima y su sustrato formando así el complejo enzima-sustrato.  
FUENTE: SMIT Y WOOD, 1991

## 5.7. CLASIFICACION INTERNACIONAL DE ENZIMAS BASADA EN LA REACCION QUE CATALIZAN

La mayor parte de los enzimas catalizan la transferencia de electrones, átomos o grupos funcionales. Por tanto se les clasifica dando números de código y asignándoles nombres de acuerdo con el tipo de reacción de transferencia, el grupo dador y el grupo aceptor. Existen 6 clases principales. (27)

Tabla 5-7 Clasificación Internacional De Enzimas Basadas En La Reacción Que Catalizan.

NUMERO	CLASE	TIPO DE REACCION CATALIZADA
1	Oxidoreductasas	Transferencia de electrones.
2	Transferasas	Reacciones de transferencia de grupos.
3	Hidrolasas	Reacciones de hidrólisis (transferencia de gpos. funcionales al agua).
4	Liasas	Adición de grupos a los dobles enlaces o la inversa.
5	Isomerasas	Transferencia de grupos en el interior de las moléculas para dar formas isoméricas.
6	Ligasas	Formación de enlaces C-C, C-S, C-O Y C-N mediante reacciones de condensación acopladas a la ruptura del ATP.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

## 5.8. NOMENCLATURA DE ENZIMAS

La International Union of Biochemistry ha establecido un sistema por el que todos los enzimas se incluyen en seis clases principales. Cada clase se divide en varias subclases que, a su vez, tienen otras subdivisiones. A cada clase, subclase y sub-subclase se le asigna un número de manera que el enzima tiene un número de cuatro dígitos así como un nombre. El cuarto dígito identifica el enzima concreto. Por ejemplo, a la alcohol; NAD oxidoreductasa se le asigna el número 1.1.1.1. debido a que es una oxidoreductasa, el dador electrónico es un alcohol y el aceptor es el coenzima NAD. Nótese que, al nombrar un enzima, se señalan primero los sustratos, seguidos por

el tipo de reacción al que se añade al sufijo *asa*. El nombre simplificado del enzima 1.1.1.1. es alcohol deshidrogenasa (Tabla 5-9). (15)(18)

**Tabla 5-8 Principales Clases Y Subclases Enzimáticas ,Segun La Nomenclatura De La Unión Internacional De Bioquímica.**

No. de la clase principal.	Nombre.	No. de variedades conocidas.	Catalizan.	Comprenden enzimas usualmente llamadas.
1	OXIDORREDUCTASAS.	216	Reacciones en las cuales un compuesto es reducido y otro es oxidado.	Deshidrogenasas, Oxidasas, Reductasas, Peroxidasas, Catalasa, Oxigenasa, Hidroxilasa.
2.	TRANSFERASAS.	224	Transferencia de gpos. químicos de una molécula a otra sin que haya oxidación o reducción.	Transaldosa y cetolasa, Acil-, metil-, glucosil- y Fosforiltransferasas, Quinasas, Fosfarnutasas.
3.	HIDROLASAS.	206	Rompimiento de moléculas, con adición de los elementos del agua.	Esterasas, Glucosidasas, Peptidasas, Fosfalasa, Tiolasas, Fosfolipasas, Amidasas, Desaminasas.
4.	LIASAS.	105	Remoción de un gpo. químico del sustrato, sin hidrólisis, generalmente originando una doble ligadura.	Descarboxilasa, Aldosas, Cetolasas, Hidrolasas, Deshidratasa, Sintasas, Liasas.
5.	ISOMERASAS.	46	Reordenamientos intramoleculares que modifican la estructura tridimensional del sustrato.	Racemasas, Epimerasas, Isomerasa, Mutasas (no todas)
6.	LIGASAS.	46	Unión de dos moléculas, con hidrólisis de ATP u otro compuesto rico en energía.	Sintetasas, Carboxilasas

FUENTE: JUNKER, 1976 y DEVLIN, 1992

## 5.7. CLASIFICACION INTERNACIONAL DE ENZIMAS BASADA EN LA REACCION QUE CATALIZAN

La mayor parte de los enzimas catalizan la transferencia de electrones, átomos o grupos funcionales. Por tanto se les clasifica dando números de código y asignándoles nombres de acuerdo con el tipo de reacción de transferencia, el grupo dador y el grupo aceptor. Existen 6 clases principales. (27)

**Tabla 5-7** Clasificación Internacional De Enzimas Basadas En La Reacción Que Catalizan.

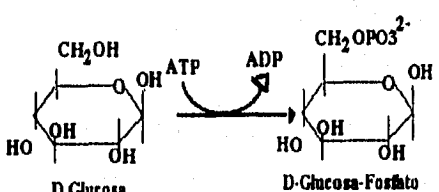
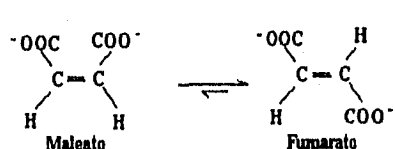
NUMERO	CLASE	TIPO DE REACCION CATALIZADA
1	Oxidoreductasas	Transferencia de electrones.
2	Transferasas	Reacciones de transferencia de grupos.
3	Hidrolasas	Reacciones de hidrólisis (transferencia de gpos. funcionales al agua).
4	Liasas	Adición de grupos a los dobles enlaces o la inverso.
5	Isomerasas	Transferencia de grupos en el interior de las moléculas para dar formas isoméricas.
6	Ligasas	Formación de enlaces C-C, C-S, C-O Y C-N mediante reacciones de condensación acopladas a la ruptura del ATP.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

## 5.8. NOMENCLATURA DE ENZIMAS

La International Union of Biochemistry ha establecido un sistema por el que todos los enzimas se incluyen en seis clases principales. Cada clase se divide en varias subclases que, a su vez, tienen otras subdivisiones. A cada clase, subclase y sub-subclase se le asigna un número de manera que el enzima tiene un número de cuatro dígitos así como un nombre. El cuarto dígito identifica el enzima concreto. Por ejemplo, a la alcohol deshidrogenasa se le asigna el número 1.1.1.1. debido a que es una oxidoreductasa, el dador electrónico es un alcohol y el aceptor es el coenzima NAD. Nótese que, al nombrar un enzima, se señalan primero los sustratos, seguidos por

Tabla 5-9 Ejemplos De Cada Clase De Enzimas.

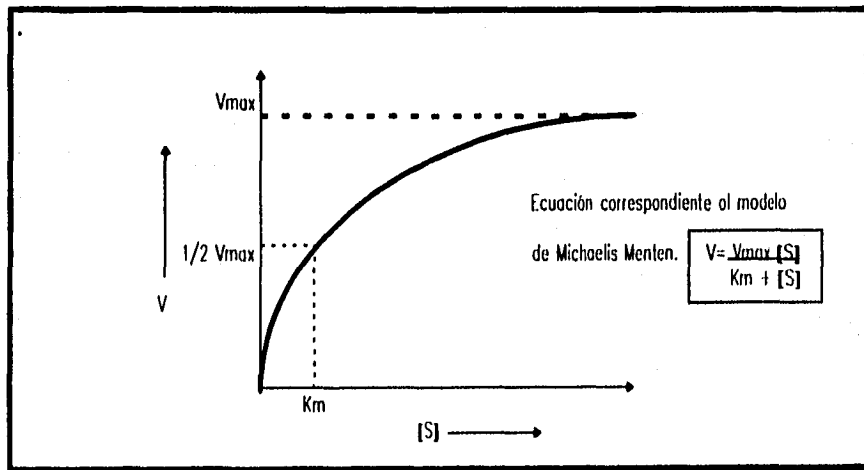
Clase	Ejemplo Tipo de Reacción	Reacción Catalizada
1.- Oxidoreductasas	Alcohol Deshidrogenasa (EC 1.1.1.1) Oxidación con NAD <sup>+</sup>	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} \xrightarrow{\text{NAD}^+} \text{CH}_3\text{-C}(=\text{O})\text{H} + \text{NADH} + \text{H}^+$ <p>Etanol → Acetaldehído</p>
2.- Transferasas	Glucocinasa (EC 2.7.1.2) Fosforilación	 <p>D.Glucosa → D-Glucosa-Fosfato</p>
3.- Hidrolasas	Carboxipeptidasa A EC 3.4.17.1) Ruptura de enlace peptídico)	$\begin{matrix} \text{R}_{n-1} & \text{O} & & \text{R}_n \\   &    & &   \\ \text{-N-C-} & \text{C-} & \text{N-C-} & \text{COO}^- \\   & &   & \\ \text{H} & & \text{H} & \end{matrix} \xrightarrow{\text{H}_2\text{O}} \begin{matrix} \text{R}_{n-1} \\   \\ \text{-N-C-} & \text{COO}^- \\   & \\ \text{H} & \end{matrix} + \begin{matrix} \text{R}_n \\   \\ \text{H}_3\text{N-C-} & \text{COO}^- \\   & \\ \text{H} & \end{matrix}$ <p>Polipéptido Cortado + Residuo C-Terminal</p>
4.- Liasas	Piruvato Descarboxilasa (EC 4.1.1.1.) (Descarboxilación)	$\text{-OOC-C}(=\text{O})\text{-CH}_3 + \text{H}^+ \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H-C}(=\text{O})\text{-CH}_3$ <p>Piruvato → Acetaldehído</p>
5.- Isomerasas	Maleato Isomerasa (EC. 5.2.1.1.) (Cis-Trans isomerización)	 <p>Maleato → Fumarato</p>
6.- Ligasas	Piruvato Carboxilasa (EC 6.4.1.1.) (Carboxilación)	$\text{-OOC-C}(=\text{O})\text{-CH}_3 + \text{CO}_2 \xrightarrow{\text{ATP}} \text{-OOC-C}(=\text{O})\text{-CH}_2\text{-COO}^- + \text{ADP} + \text{P}$ <p>Piruvato → Oxaloacetato</p>

FUENTE: MATTHEWS, 1990



Los enzimas son proteínas que pueden considerarse como catalizadores biológicos que siguen por tanto las reglas generales de la catálisis. Sin embargo, presentan una característica que no se observa en los catalizadores no enzimáticos, y que se conoce como la "saturación del sustrato". En la figura 5-6 se describe el comportamiento que presentan la mayor parte de las enzimas respecto a la concentración del sustrato. (29)

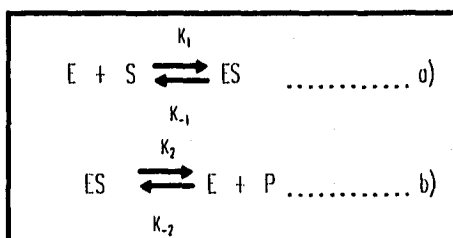
El modelo de catálisis enzimática más simple y mejor conocido es el de Michaelis-Menten desarrollado en 1913 tomando en cuenta el fenómeno de saturación antes descrito. (29)



**Figura 5-6** Velocidad de reacción en función de la concentración de sustrato representación gráfica del comportamiento cinético observado en enzimas que obedecen el modelo de Michaelis-Menten. FUENTE: MONTGOMERY, 1992

**5.9.1. ETAPAS ALGEBRAICAS DE LA DEDUCCION MODERNA DE LA ECUACION DE MICHAELIS-MENTEN**

La deducción comienza inicialmente con las dos reacciones fundamentales que intervienen en la formación y la ruptura del complejo enzima-substrato.



En donde:

[E<sub>t</sub>] representa la concentración total de enzima (la suma del enzima libre y del enzima combinado).

[ES] es la concentración del complejo enzima-substrato y,

[E<sub>t</sub>] - [ES] representan la concentración de enzima libre o sin combinar.

[S], la concentración de sustrato que ordinariamente es mayor que [E<sub>t</sub>], de modo que la cantidad de S unida a E, en cualquier instante dado, es despreciable si se compara con la concentración total de S. La deducción comienza por considerar las velocidades de formación y de descomposición de ES.

1. Velocidad de formación de ES. La velocidad de formación de ES en la reacción a) es

$$\text{Velocidad de formacion} = k_1([E_t] - [ES]) [S] \dots\dots\dots c)$$

Donde:

$k_1$  es la constante de velocidad de la reacción a). La velocidad de formación de ES a partir de E + P, por inversión de la reacción b) es muy pequeña y puede despreciarse.

2. Velocidad de descomposición de ES. La velocidad de descomposición de ES es

$$\text{Velocidad de descomposición} = k_{-1} [ES] + k_2 [ES]$$

Donde:

$k_{-1}$  y  $k_2$  son las constantes de velocidad para la inversa de la reacción a) y la reacción directa b), respectivamente.

3. Estado estacionario Cuando la velocidad de formación de ES es igual a su velocidad de descomposición, la concentración de ES se mantendrá constante y el sistema de reacción se halla en estado estacionario:

$$\text{Velocidad de formación de ES} = \text{Velocidad de descomposición de ES}$$

$$k_1([E_1] - [ES])[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES] \dots \dots \dots d)$$

4. Separación de las constantes de velocidad Se multiplica el primer miembro de la ecuación d) para dar:

$$k_1 [E_1][S] - k_1[ES][S]$$

y el segundo miembro se simplifica dando  $(k_{-1} + k_2) [ES]$ .

Se tiene

$$k_1[E_1][S] - k_1[ES][S] = (k_{-1} + k_2)[ES]$$

Efectuando transposiciones y cambiando el signo del término  $-k_1[ES][S]$ , se obtiene

$$k_1 [E_1][S] = K_1 [ES][S] + (k_{-1} + k_2)[ES]$$



Que puede simplificarse ulteriormente y queda

$$k_1[E_1][S] = (k_{-1} + k_2)[ES]$$

Que puede resolverse para [ES]

$$[ES] = \frac{k_1 [E_1][S]}{k_1[S] + k_{-1} + k_2}$$

Esta puede simplificarse de tal modo que se combinen las constantes de velocidad en una sola expresión

$$[ES] = \frac{[E_1][S]}{[S] + (k_2 + k_{-1})/k_1} \dots\dots\dots e)$$

5. *Definición de la velocidad inicial  $v_0$  en función de [ES].*

La velocidad inicial, de acuerdo con la teoría de Michaelis y Menten, está determinada por la velocidad de descomposición del complejo [ES] en la reacción b), cuya constante de velocidad es  $k_2$ .

Se tiene, por tanto

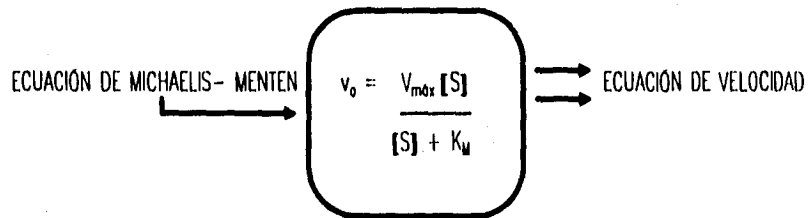
$$v_0 = k_2[ES]$$

Pero como [ES] es el lado derecho de la ecuación e), se tiene

$$v_0 = \frac{k_2[E_1][S]}{[S] + (k_2 + k_{-1})/k_1} \dots\dots\dots f)$$

Que puede simplificarse más, definiendo  $K_M$  (la constante de Michaelis-Menten) como  $(k_2 + k_{-1})/k_1$  y definiendo  $V_{max}$  como  $k_2[E_1]$  que es la velocidad cuando todo el enzima disponible, E, se halla

presente en forma de ES. Por sustitución de estos términos en la ecuación (1) se tiene



FUENTE. LEHNINGER, 1991

De la ecuación de Michaelis-Menten se deduce una relación numérica importante en el caso especial en el que la velocidad inicial de la reacción sea exactamente la mitad de la velocidad máxima, es decir, cuando  $v_0 = 1/2 V_{m\acute{o}x}$ .

Entonces

$$\frac{V_{m\acute{o}x}}{2} = \frac{V_{m\acute{o}x} [S]}{K_M + [S]}$$

Si se divide por  $V_{m\acute{o}x}$  se obtiene

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

Resolviendo para  $K_M$ , se tiene

$$K_M + [S] = 2[S]$$

$$K_M = [S] \text{ cuando } v_0 \text{ es exactamente } 1/2 V_{m\acute{o}x}.$$

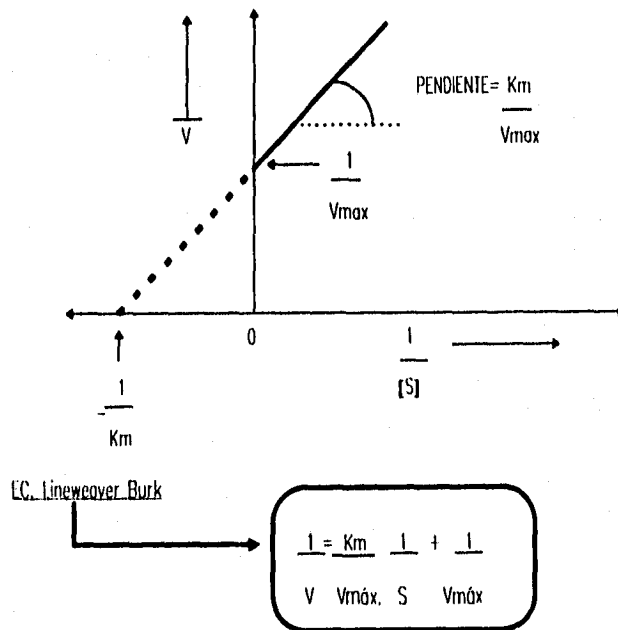
La ecuación de Michaelis-Menten puede transformarse algebraicamente en ecuaciones equivalentes que son útiles en la determinación práctico de  $K_M$  y de  $V_{m\acute{o}x}$  y en el análisis de la acción inhibitoria.

FUENTE. LEHNINGER, 1991

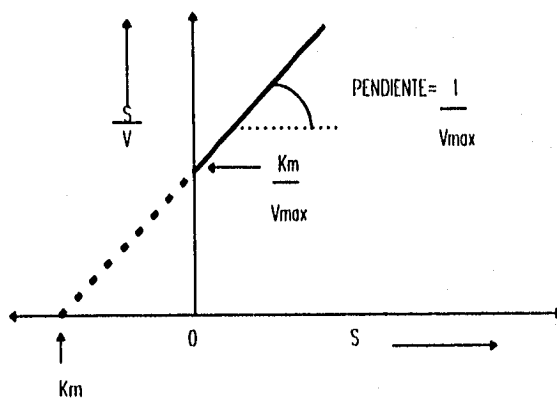
**5.9.2. MODIFICACIONES ALGEBRAICAS A LA ECUACION DE MICHAELIS (V vs. S)**

Para realizar el estudio cinético de una enzima dada se debe determinar la variación de la velocidad inicial de reacción a diferentes concentraciones de sustrato, en condiciones óptimas de pH y temperatura, y una determinada concentración de enzimas. La información cinética ( $K_m$  y  $V_{m\acute{a}x}$ ) se puede obtener directamente de una gráfica tipo Michaelis (V vs. S), aunque con bastante frecuencia se emplean algunas de las modificaciones algebraicas de la ecuación de Michaelis, según se ilustra en la fig. 5-7. (29)

**TRANSFORMACIÓN DE LINEWEAVER-BURK DE LAS CURVAS DE MICHAELIS-MENTEN.**



**TRANSFORMACIÓN DE HANES DE LAS CURVAS DE MICHAELIS-MENTEN.**

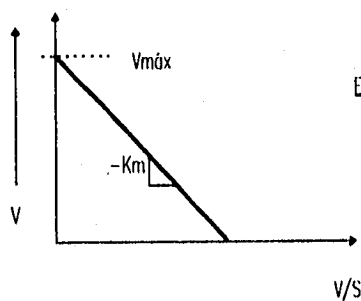


EC. HANES

$$\frac{S}{V} = \frac{K_m}{V_{m\acute{o}x}} + \frac{S}{V_{m\acute{o}x}}$$

FUENTE LÓPEZ Y QUINTERO, 1987

**TRANSFORMACIÓN DE EADIE HOFSTEE DE LAS CURVAS DE MICHAELIS-MENTEN.**



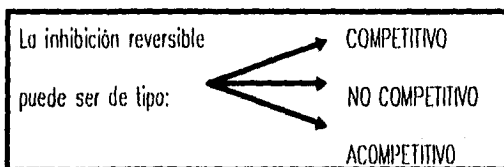
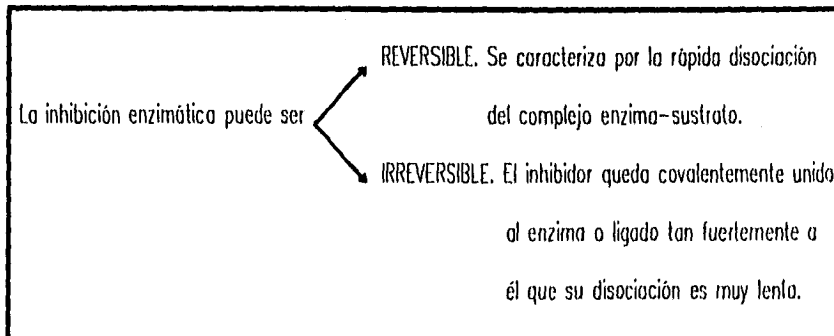
EC. EADIE HOFSTEE

$$V = V_{m\acute{o}x} - K_m \frac{V}{S}$$

**Figura 5-7** Diferentes representaciones de la cinética de Michaelis-Menten.

FUENTE LÓPEZ Y QUINTERO, 1987

### 5.9.3. INHIBICION ENZIMATICA



- Un *inhibidor competitivo* compite con el sustrato por la unión al sitio activo pero, una vez unido, no puede ser transformado por el enzima. En esta inhibición, la enzima puede unirse al sustrato (formando un complejo ES) o al inhibidor (EI) pero no a ambos (ESI), muchos inhibidores competitivos se parecen al sustrato y se unen al centro activo del enzima engañandola. De este modo, se impide la unión del sustrato al mismo centro activo. Un inhibidor competitivo, disminuye la velocidad de catálisis reduciendo la proporción de moléculas de enzima que quedan ligadas al sustrato. La inhibición competitiva puede superarse al aumentar la concentración de sustrato. (15)(42)

- Un *inhibidor no competitivo* se une al enzima en un sitio diferente del que se une el sustrato, alterando la conformación de la molécula del enzima de modo que se produce la inactivación reversible del sitio catalítico. Aquí el inhibidor y el sustrato pueden unirse simultáneamente a una molécula de enzima (ESI). La inhibición no competitiva, en contraste con la competitiva, no puede superarse al aumentar la concentración del sustrato. (42)

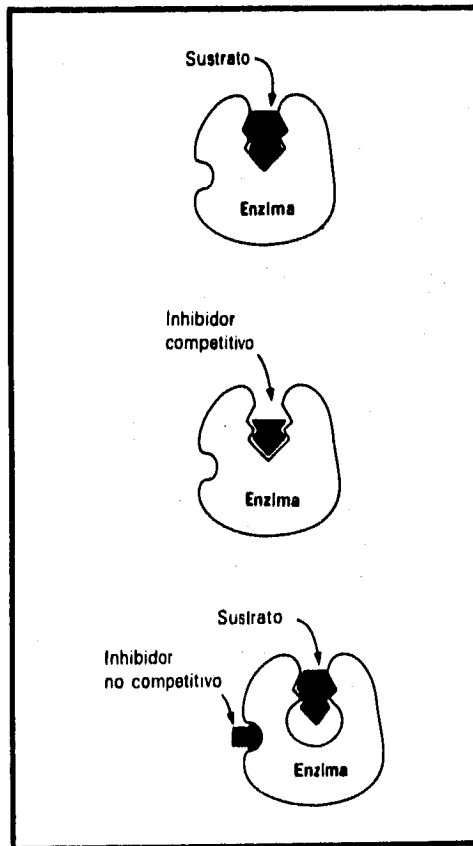


Figura 5-8 Distinción entre un inhibidor competitivo y no competitivo: (arriba) complejo enzima-sustrato; (centro) un inhibidor competitivo; (abajo) un inhibidor no competitivo, no impide la unión al sustrato.

FUENTE: STRYER, 1994

5.9.3.1. PRINCIPALES MECANISMOS DE INHIBICION ENZIMATICA Y

MODIFICACIONES A LA REPRESENTACION GRAFICA DE

LINeweaver-BURK (PARA DIFERENCIAR LOS TIPOS DE INHIBICION)

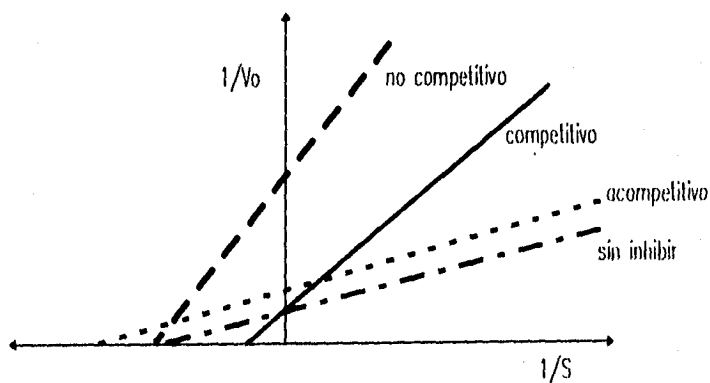
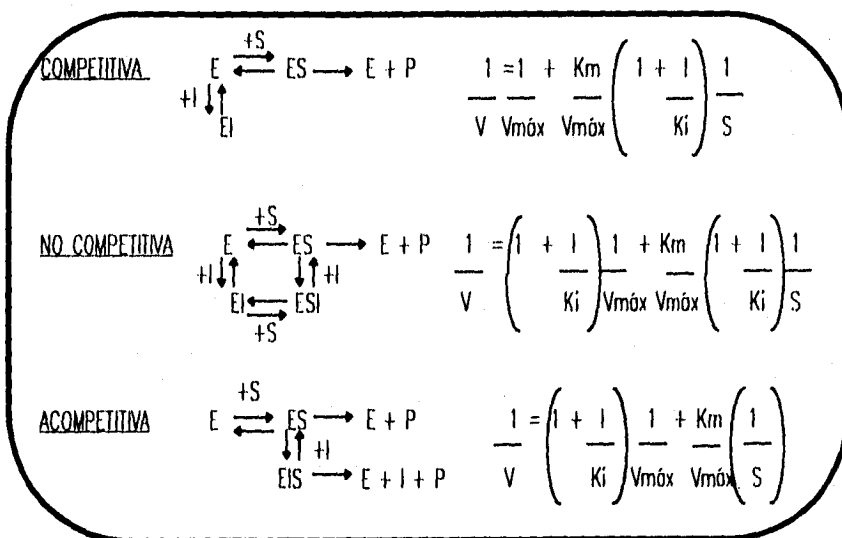


Figura 5-9 Comparación del comportamiento gráfico de los diferentes tipos de inhibición, con respecto a la enzima libre de inhibidor.

FUENTE: LOPEZ Y QUINTERO, 1987

### 5.9.4. FACTORES QUE MODIFICAN LA ACTIVIDAD ENZIMATICA

#### 5.9.4.1. EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA

Como toda reacción química, las reacciones enzimáticas se modifican con la temperatura; el fenómeno común de aumento en la velocidad de reacción cuando aumenta la temperatura, dada la mayor energía de las moléculas, se sobrepone a la desnaturalización de la enzima debido a su origen proteico. El resultado global de estas dos interacciones da como resultado un perfil con un máximo de velocidad a una temperatura que se ha denominado óptima (fig. 5-10). (32)

La parte correspondiente al efecto cinético se puede describir con la Ley de Arrhenius:

$K = A e^{-E_a/RT}$  Donde: K es la constante de velocidad de reacción, R es la constante general del estado gaseoso, T la temperatura en °K y  $E_a$  la energía de activación característica de cada enzima. (32)

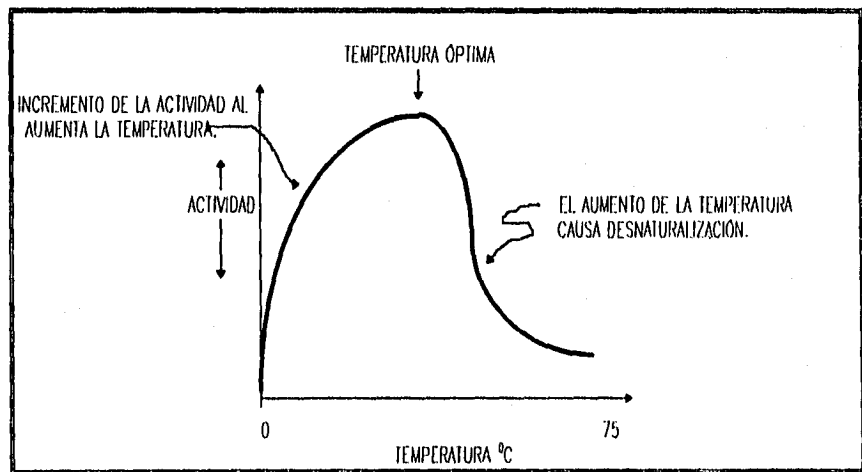


Figura 5-10 Efecto de la temperatura ( $T^{\circ}$ ) en una reacción catalizada por enzimas.

FUENTE: MONTGOMERY, 1992



**5.9.4.2. EFECTO DEL pH SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA**

El comportamiento que siguen las enzimas es similar al descrito para la temperatura (fig.5.10); este efecto se puede deber a tres fenómenos independientes:

- Desnaturalización irreversible de las enzimas a pH extremos (fig. 5-11); debido a la pérdida de su estructura espacial por ruptura de enlaces no covalentes.
- Ionización del sustrato si es que posee grupos polares.
- Estado de ionización de la enzima.

Es necesario insistir en que el pH al cual la enzima alcanza su máxima actividad no coincide necesariamente con el pH al que se observa su máxima estabilidad. Los valores de pH óptimo de las enzimas son muy variables, por ejemplo para la pepsina es de 1,5; para la tripsina de 7,7; para la catalasa de 7,6; para la arginasa de 9,7; para la ribonucleasa de 7,8 al igual que para la fumarasa. (15)(32)

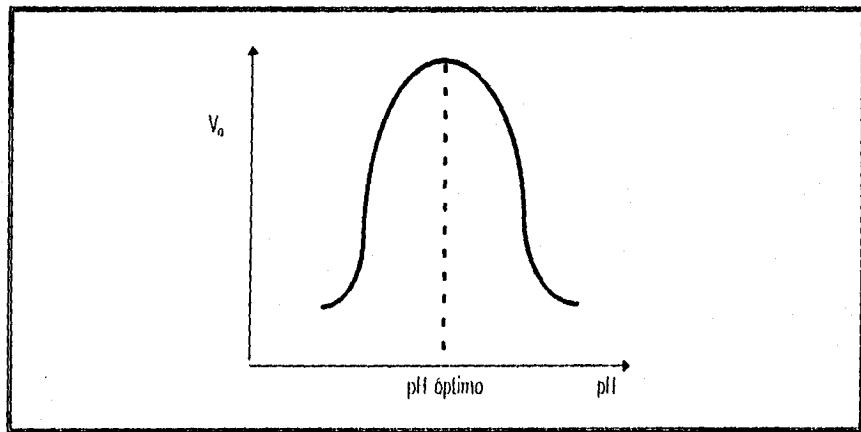


Figura 5-11 Efecto del pH en una reacción catalizada por enzima

FUENTE: MONTGOMERY, 1992

En el metabolismo celular grupos de enzimas actúan conjuntamente en cadenas secuenciales o sistemas para llevar a cabo un proceso metabólico, tal como la conversión de glucosa en ácido láctico en el músculo esquelético. En tales sistemas enzimáticos, el producto de la reacción del primer enzima se convierte en el sustrato de la reacción siguiente y así sucesivamente (fig. 5-12). Los sistemas multienzimáticos pueden tener hasta 15 o más enzimas trabajando en una secuencia específica. (15)(27)

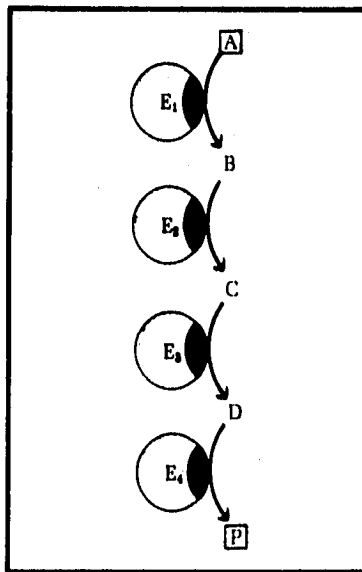


Figura 5-12 Dibujo esquemático de un sistema multienzimático responsable de la conversión de A en P a través de una secuencia de cuatro etapas catalizadas por enzimas.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

En cada sistema enzimático hay al menos un enzima, el "regulador", que establece o rige la velocidad de la secuencia global porque cataliza la etapa más lenta o limitante de la velocidad.

Tales enzimas reguladores no solamente poseen una función catalítica sino que son también

capaces de aumentar o disminuir su actividad catalítica en respuesta a ciertas señales. Por acción de tales enzimas reguladores la velocidad de cada secuencia metabólica se ajusta de modo constante, minuto a minuto, a las variaciones en la demanda de las células respecto a sus necesidades de energía y de moléculas similares necesarias para el crecimiento celular y su mantenimiento. En la mayor parte de los sistemas multienzimáticos el *primer* enzima de la secuencia es el enzima regulador. Las demás enzimas de la secuencia, que se hallan habitualmente presentes en cantidades que proporcionan un exceso grande de actividad catalítica, siguen simplemente al enzima regulador, pueden promover sus reacciones solamente con la rapidez que les permite la asequibilidad de sus sustratos que proceden de las etapas anteriores. (27)

Estos enzimas que regulan el ritmo, y cuya actividad está modulada por diversos tipos de señales moleculares se llaman *enzimas reguladores*. Existen dos clases principales de enzimas reguladores: *enzimas alostéricas o regulados no covalentemente, y enzimas regulados covalentemente* (27)

#### 5.10.1. ENZIMAS ALOSTERICAS

En algunos sistemas multienzimáticos el primer enzima, o regulador, posee una característica diferencial: es inhibido por el producto final del sistema enzimático, indicando que está siendo producido en exceso sobre las necesidades de la célula. Este tipo de regulación se llama *inhibición por retroceso o retrahinibición*. Un ejemplo clásico de esta retrahinibición alostérica, una de las primeras descubiertas, es la del sistema enzimático bacteriano que cataliza la conversión de L-treonina en L-isoleucina (fig. 5-13).

El término alostérico se deriva del griego allo, "otro" y stereo, espacio o "sitio". Las enzimas alostéricas son las que tienen "otros sitios". Las enzimas alostéricas poseen sitio catalítico, al que se une el sustrato y se transforma, pero también poseen uno o más sitios reguladores o

alostéricos a los que se unen las moléculas del metabolito que ejerce el efecto regulador que recibe el nombre de efector o modulador (fig. 5-14). (15)(27)

- Al igual que el sitio catalítico de un enzima es específico para su sustrato, el sitio alostérico es específica para su modulador.
- Las moléculas del enzima alostérico son generalmente mayores y más complejas que las de los enzimas simples. La mayor parte de ellas poseen dos o más cadenas polipeptídicas o subunidades.
- Los enzimas alostéricos muestran, habitualmente, desviaciones del comportamiento clásico de Micaelis-Menten, que es una de las características mediante la cual fueron reconocidas al principio.

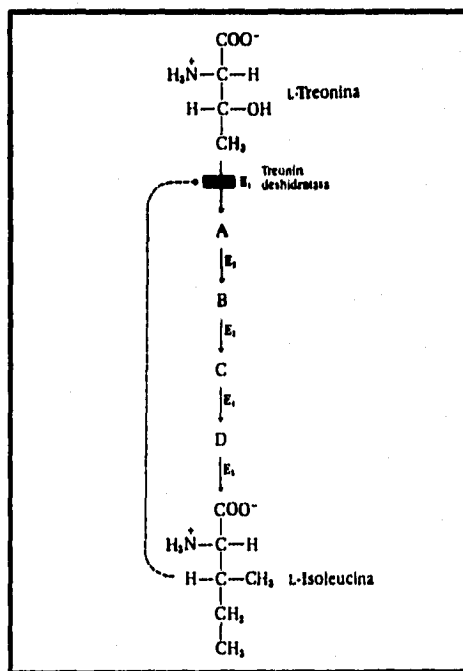


Figura 5-13 Retroinhibición de la conversión de L-treonina en L-isoleucina que es catalizada por una secuencia de cinco enzimas ( $E_1$  a  $E_5$ ) a través de cuatro intermediarios A,B,C y D. El primer enzima, treonin deshidratasa ( $E_1$ ) es inhibido específicamente por L-isoleucina.

Esta inhibición aparece indicada por la línea punteada que retrocede y el trazo que atraviesa la flecha de la reacción de la treonin deshidratasa.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

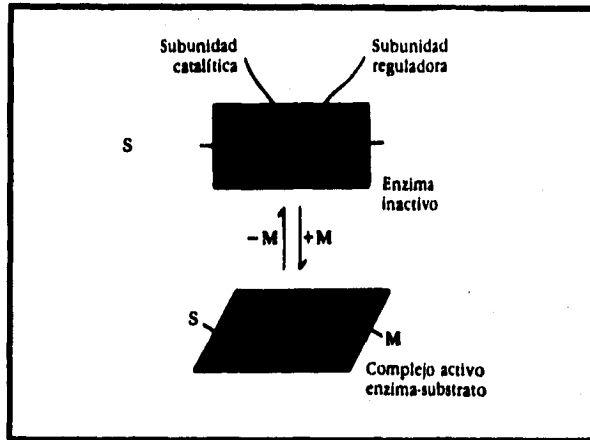


Figura 5-14 Modelo esquemático de las interacciones de las subunidades en un enzima alostérico. En muchos enzimas alostéricos el sitio de unión del sustrato y el sitio de unión del modulador se hallan en subunidades diferentes, las subunidades catalítica (C) y reguladora (R), respectivamente. La unión del modulador positivo, M, a su sitio específico sobre la subunidad reguladora se comunica a la subunidad catalítica mediante un cambio de conformación que hace que se active la subunidad catalítica y sea capaz de unir al sustrato S con afinidad elevada. Por disociación del modulador M de la subunidad reguladora, el enzima vuelve a adoptar la forma inactiva o menos activa.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

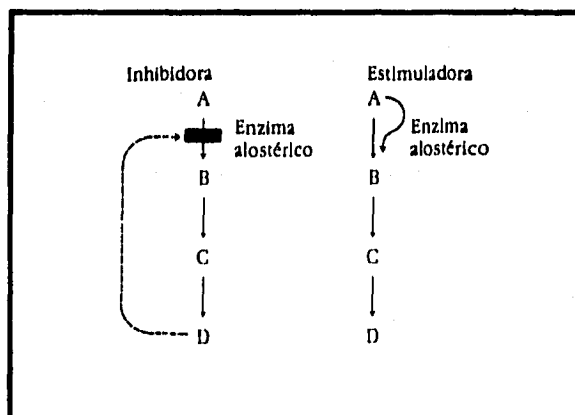


Figura 5-15 Representación de regulación alostérica inhibitoria y estimuladora.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

Los enzimas alostéricos exhiben relaciones entre las concentraciones de sustrato y la velocidad, que se diferencian del comportamiento clásico de Michaelis-Menten en varios aspectos, dependiendo de si el enzima posee un modulador inhibidor o estimulador. Los enzimas alostéricos exhiben "saturación" por el sustrato cuando este último se añade en cantidad suficiente, pero cuando se representa la velocidad inicial en algunos enzimas alostéricos frente a la concentración del sustrato (fig. 5-16) se obtiene una curva de saturación *sigmoide* en lugar de la clásica curva de saturación por sustrato *hiperbólica* que caracteriza a los enzimas no reguladores. (27)

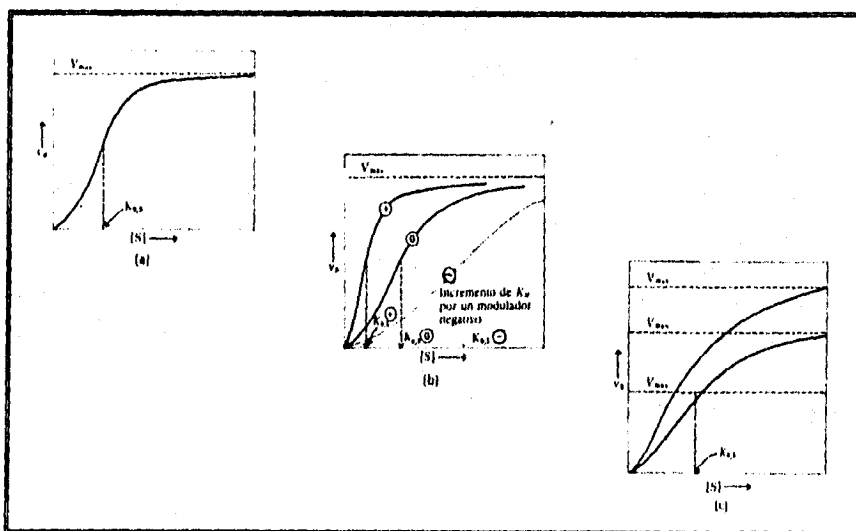


Figura 5-16 Curvas de actividad-sustrato de los enzimas alostéricos representativos. a) Curva sigmoide de un enzima homotrópico en la que el sustrato actúa, también, como modulador positivo (estimulador).  $K_{0,5}$  es la concentración del sustrato que proporciona la mitad de la velocidad máxima. Obsérvese que un incremento pequeño de la concentración del sustrato, en la parte ascendente de la curva puede provocar un incremento grande de la velocidad de reacción.

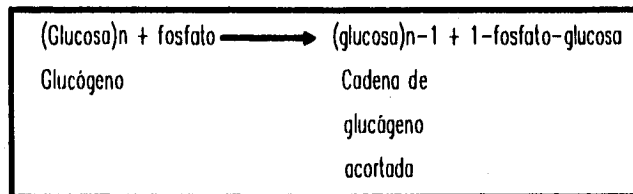
b) Efectos de un modulador positivo o estimulador (+), un inhibidor o modulador negativo (-) y sin modulador (0) sobre un enzima alostérico en el que  $K_{0,5}$  del enzima está modulada sin que varíe la  $V_{max}$ . c) Un tipo menos frecuente de modulación en la que  $V_{max}$  resulta modulada, mientras que  $K_{0,5}$  es casi constante.

Estos son ejemplos de una variedad de respuestas, a veces muy complejas, dadas por enzimas alostéricas a la acción de sus moduladores.

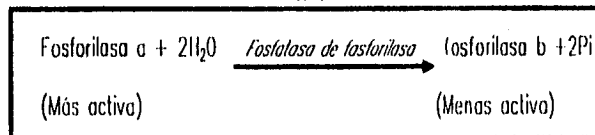
FUENTE: LEHNINGER, 1991

### 5.10.2. ENZIMAS REGULADOS COVALENTEMENTE

Otra clase de enzimas reguladores importantes está modulada por interconversión de sus forma activa e inactiva por modificación covalente de la molécula del enzima. Un ejemplo importante es la fosforilasa del glucógeno, de músculo y de hígado, enzima regulador que cataliza la reacción. (27)(42)



El 1-fosfato-glucosa así formada puede degradarse hasta ácido láctico en el músculo o transformarse en glucosa libre en el hígado. La fosforilasa del glucógeno se encuentra en dos formas, la forma activa, *fosforilasa a* y la forma relativamente inactiva, *fosforilasa b* (fig. 5-17). La fosforilasa a está constituida por dos subunidades polipeptídicas, cada una de las cuales posee un residuo de serina específico en su secuencia que se fosforila en su grupo hidroxilo. Estos residuos de fosfato de serina se necesitan para que el enzima desarrolle su actividad máxima. Los grupos fosfato pueden eliminarse hidrolíticamente de la fosforilasa a por la acción catalítica de un enzima llamado *fosfatasa de la fosforilasa*. (27)(42)



En esta reacción la fosforilasa a se convierte en fosforilasa b, que es mucho menos activa que la primera como catalizador de la escisión del glucógeno. La fosforilasa b puede, a su vez, reactivarse; es decir, transformarse de nuevo covalentemente en fosforilasa a activa, por interconversión de otro enzima, la *quinasa de la fosforilasa*, que cataliza la transferencia de grupos fosfato desde el ATP a







### 6.1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, más que en ninguna época anterior, se es consciente que la energía, la capacidad para efectuar trabajo, es vital para la civilización moderna. Se necesita energía para manufacturar mercancías, para transportar materiales y a la gente, para la calefacción de los hogares y de los lugares de trabajo y para llevar a cabo muchas tareas menos importantes. De un modo semejante la energía resulta exactamente tan vital en el microcosmos de una célula viva. Las células siempre requieren de energía para realizar los trabajos en los que están especializadas.

Las células sintetizan constantemente sustancias nuevas, efectúan trabajo mecánico de movimiento, transportan sustancias y producen calor. A través de billones de años de evolución las células han aprendido a emplear la energía de modo más económica y con mayor eficacia que la mayor parte de las máquinas ideadas por el hombre. (27)

La bioenergética es el campo de la bioquímica relacionado con la transformación y el empleo de la energía por las células vivientes. (27)

Las células vivas están compuestas por un sistema complejo, regulada de forma intrincada, de reacciones químicas que producen energía y de reacciones químicas que utilizan energía. (12)

Se conoce que la energía utilizada por las células eucariontes, tanto animales como vegetales, proviene de la lenta descomposición de compuestos orgánicos, (los alimentos). (22)

En la célula vegetal, esos compuestos son el resultado de la transformación de la energía solar en energía química durante el proceso de fotosíntesis (photon=luz; synthesis=síntesis), y en el cual, gracias al pigmento clorofila, se realiza el proceso de transformar la energía solar acumulada bajo la forma de enlaces químicos en los hidratos de carbono, grasas y proteínas. Por tanto, estos compuestos son verdaderos depósitos concentrados de energía, que las células van utilizando según sean sus necesidades. Sin embargo, las células por lo general, no utilizan directamente la energía liberada de los alimentos, pero sí aprovechan de una serie de compuestos intermediarios que sirven como depósitos provisionales de energía. (22)

Existen varios compuestos ricos en energía, siendo uno de ellos la adenosina-trifosfato (ATP) que, es sin duda, el más abundante en la célula y el más utilizado. (2)

Para extraer de los alimentos la energía que contienen, la célula tuvo que desarrollar un sistema que los oxidará lentamente, liberando energía y produciendo agua y gas carbónico, gradualmente y en pequeñas cantidades. A este proceso se le llama respiración celular y fue en el año de 1780 que los genios Lavoisier y Laplace definieron la respiración como "un tipo de combustión muy lenta, pero no obstante enteramente análogo a la del carbón". (22)

En este capítulo veremos los mecanismos por medio de los cuales la célula promueve esa combustión lenta de los alimentos y acumula la energía liberada principalmente en la molécula de ATP.

## 6.2. CONCEPTOS DE TERMODINAMICA

### 6.2.1. ENERGIA LIBRE

El calor no es una forma significativa de la energía para las células vivas ya que el calor sólo puede efectuar trabajo si se transmite desde una zona u objeto a una temperatura determinada a otra que se halle a una temperatura inferior. Además, la eficacia de una máquina térmica en la realización de trabajo se halla relacionada con la diferencia de temperaturas a través de la que pasa el calor; cuanto mayor es el descenso de temperatura, tanta mayor es la cantidad de energía calorífica que puede transformarse en trabajo realizada. Como las células vivas poseen esencialmente la misma temperatura en todas sus partes no pueden utilizar de modo significativo la energía calorífica. El calor sólo es útil para las células a fin de conservar una temperatura óptima de trabajo. (2)(27)

La forma de energía que las células pueden y deben emplear es la energía libre que pueda realizar trabajo a temperatura y presión constantes. Las células heterotróficas obtienen su energía libre de las moléculas de sus nutrientes ricas en energía y las células fotosintéticas obtienen su energía libre de la radiación solar que absorben. Ambas clases de células transforman las entradas de energía libre en formas corrientes de energía química y las emplean para efectuar trabajo en procesos que no implican diferencias de temperatura significativas. Es muy simple, las células son máquinas químicas que funcionan a temperatura y a presión constantes. (27)

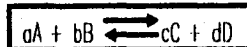
Se debe considerar ahora cómo se mide y se expresa cuantitativamente la energía libre de las reacciones químicas.

### 6.2.2. ENERGIA LIBRE ESTANDAR

Cada reacción química posee una variación de *energía* libre estándar  $\Delta G^\circ$ . [Como se verá,  $\Delta G^\circ$  no es lo mismo que  $\Delta G$ , tal como se define más adelante]. La variación de energía libre estándar es una constante para una reacción determinada y puede calcularse a partir de la constante de equilibrio de la reacción en condiciones estándar, es decir, a temperatura de 25°C (298°K) y una presión de 1,00 atm (760mmHg). La constante de equilibrio para la reacción  $A + B \rightleftharpoons C + D$ , por ejemplo viene dada por

$$K'_{eq} = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

en la que [A], [B], [C] y [D] son las concentraciones molares de las componentes de la reacción en el punto de equilibrio de la reacción en las condiciones estándar. En las reacciones en las que participan más de una molécula de cualquiera de los reaccionantes o de los productos, como en la reacción general.



en la que a, b, c y d son el número de moléculas de A, B, C y D que participan, la constante de equilibrio viene dada por la expresión

$$K'_{eq} = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

Una vez que se ha determinado la constante de equilibrio  $K'_{eq}$  de una reacción química, se puede calcular la variación de la energía libre estándar, expresándola en calorías por mol de reaccionante. La caloría, que es la unidad de energía empleada más profusamente en biología, se define como la

cantidad de energía en forma de calor que puede elevar 1°C la temperatura de 1,00g de agua que se halle a 15°C. Para calcular la variación de energía libre estándar  $\Delta G^\circ$  se emplea la relación

$$\Delta G^\circ = -2,303 R T \log K'_{eq}$$

en la que R es la constante de las gases (1,987 cal/mol °K) y T es la temperatura absoluta, en este caso 298°K. (27)

**Tabla 6-1 Relaciones Entre  $K_{eq}$ ,  $\Delta G^\circ$  Y La Dirección De Las Reacciones Químicas En Condiciones Estándar.**

Cuando $K_{eq}$ es:	$\Delta G^\circ$ es:	Si se inician con componentes 1M la reacción
>1,0	Negativo	Se desplaza hacia la derecha
1,0	Cero	Se halla en equilibrio
<1,0	Positivo	Se desplaza en sentido inverso

FUENTE: ARMSTRONG, 1989

**Tabla 6-2 Relación Entre Las Constantes De Equilibrio De Las Reacciones Químicas Y Sus Variaciones De Energía Estándar**

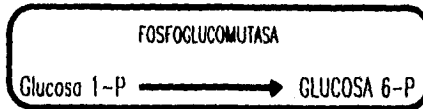
Cuando $K'_{eq}$ es:	$\Delta G^\circ$ (cal/mol) es:
0,001	+4089
0,01	+2726
0,1	+1363
1,0	0
10,0	-1363
100,0	-2726
1000,0	-4089

FUENTE: LEHNINGER, 1991

Puede ser interesante el definir la variación de energía libre estándar de otra manera.  $\Delta G^\circ$  es la diferencia entre el contenido de energía libre de los reactivos y la energía libre de los productos de la reacción en las condiciones estándar, es decir cuando la temperatura es 298° K y la presión es de 1,0 atm. y los reactivos y los productos se hallan todos presentes en sus concentraciones estándar, es decir, 1,0 M. Cuando  $\Delta G^\circ$  es negativo, significa que los productos contienen menos energía libre que los reactivos y por ello la reacción transcurrirá hacia la formación de productos en las condiciones estándar ya que todas las reacciones químicas tenderán a desplazarse en la dirección que dé por resultado una disminución de la energía libre del sistema. Cuando  $\Delta G^\circ$  es positivo, significa que los productos de la reacción contienen más energía libre que los reactivos. Por ella, la reacción tenderá a transcurrir en el sentido inverso, si se inicia con todos los componentes en concentración 1,0M. La tabla 6-1 resume todos estos puntos. Fundamentalmente, la valoración de energía libre estándar de una reacción química es simplemente un modo matemático diferente de expresar su constante de equilibrio. La tabla 6-2 muestra las relaciones numéricas entre  $\Delta G^\circ$  y la constante de equilibrio. (28)

Cabe mencionar que como las reacciones bioquímicas suceden en las proximidades de pH 7,0 y, con frecuencia interviene la formación o el empleo de  $H^+$ , se ha adoptado convencionalmente el pH 7,0 como pH estándar en la energética bioquímica. La variación de energía libre estándar a pH 7,0 en los sistemas bioquímicos se representa por  $\Delta G^\circ$ . (28)

Ejemplo de cálculo de la variación de la energía libre estándar de la reacción catalizada por el enzima *fosfoglucomutasa*:



El análisis química demuestra que si se parte, por ejemplo de glucosa 1-fosfato 0,0200M, en presencia de exceso de fosfoglucomutasa y se dejó transcurrir la reacción en el sentido directo, o si se parte de glucosa 6-fosfato 0,0200M y se deja transcurrir la reacción en el sentido inverso, la mezcla final en el equilibrio, en ambos casos, contendrá 0,00100M de glucosa 1-fosfato y 0,019M de glucosa 6-fosfato a 25°C y pH 7,00 (Recuérdese que las enzimas no afectan al punto de equilibrio de una reacción y que solamente aceleran el que se alcance). A partir de estos datos se puede calcular la constante de equilibrio con tres cifras significativas:

$$K'_{eq} = \frac{[\text{glucosa 6-fosfato}]}{[\text{glucosa 1-fosfato}]} = \frac{0,019}{0,00100} = 19,0$$

A partir de este valor de  $K'_{eq}$  se puede calcular la variación de energía libre estándar

$$\begin{aligned} \Delta G^{\circ} &= -2,303 R T \log K'_{eq} \\ &= -2,303 (1.987) (298) \log 19,0 \\ &= -1363,667(1,28) = -1745,49 \text{ cal/mol} \end{aligned}$$

Como el signo de la variación de energía libre estándar es negativo, la conversión del glucosa 1-fosfato en glucosa 6-fosfato tiene lugar con pérdida de energía libre cuando se inicia con 1-fosfato de glucosa 1 M y 6-fosfato de glucosa 1M. En las reacciones bioquímicas resulta más conveniente el expresar  $\Delta G^{\circ}$  en kilocalorías; así  $\Delta G^{\circ}$  en este ejemplo vale  $-1,74 \text{ kcal/mol}$ . (27)

**DIFERENCIA ENTRE  $\Delta G^{\circ}$  y  $\Delta G$ .**

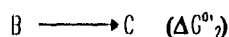
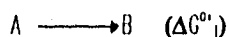
$\Delta G^{\circ}$  es una constante inmutable; posee una característica, tiene un valor inalterable característico para una reacción determinada. Pero la variación de energía libre,  $\Delta G_{real}$ , de una reacción química determinada depende de las concentraciones, del pH y de la temperatura que prevalecen durante la reacción, los cuales no son necesariamente los de las condiciones estándar. Además, el valor de  $\Delta G$  de cualquier reacción que tiene lugar tendiendo a alcanzar su equilibrio, es siempre negativo, disminuye (es decir menos negativo) a medida que transcurre la reacción y su valor es cero en el punto de equilibrio, indicando que la reacción no puede efectuar más trabajo. (2)(27)

Los valores de  $\Delta G$  y  $\Delta G^{\circ}$ , para cualquier reacción  $A + B \longrightarrow C + D$ , se hallan relacionados por la ecuación

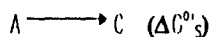
$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + 2,303 R T \log \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

**LOS VALORES DE LA ENERGIA LIBRE ESTANDAR DE LAS REACCIONES QUÍMICAS SON ADITIVOS**

En el caso de dos reacciones químicas que se verifican secuencialmente



cada reacción posee su propia constante de equilibrio y cada una de ellas posee su variación de energía libre estándar,  $\Delta G^{\circ}_1$  y  $\Delta G^{\circ}_2$  característica. Como las dos reacciones se verifican en una secuencia, se anula B y la reacción global es

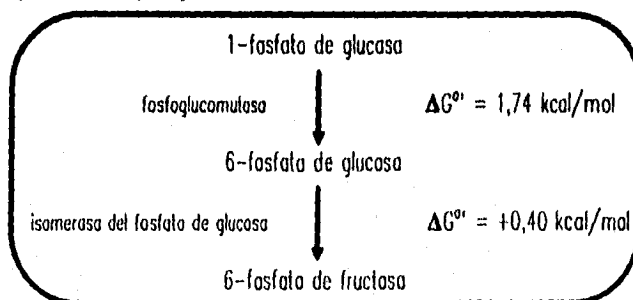




La reacción  $A \longrightarrow C$  tendrá, también, por su propia constante de equilibrio y su propia variación de energía libre estándar  $\Delta G^{\circ}$ 's. Se llega ahora a una propiedad muy importante de las variaciones de energía libre estándar; los valores de  $\Delta G^{\circ}$  de las reacciones químicas que se verifican en una secuencia son aditivos. En la reacción global  $A \longrightarrow C$ ,  $\Delta G^{\circ}$ 's es la suma algebraica de las variaciones de energía libre estándar,  $\Delta G^{\circ}_1$  y  $\Delta G^{\circ}_2$ , de las dos reacciones por separado:

$$\Delta G^{\circ}s = \Delta G^{\circ}_1 + \Delta G^{\circ}_2$$

Esta relación es muy útil ya que facilita el cálculo de la variación de energía libre estándar en una secuencia de reacciones metabólicas. Por ejemplo, la siguiente secuencia de reacciones tiene lugar durante la degradación del glucógeno en el músculo:



Lo suma de las dos reacciones



tiene una variación de energía libre estándar de:  $\Delta G^{\circ}s = -1,74 + (+0,40) = -1,34 \text{ kcal/mol}$

(27)

### 6.3. ATP

Después de haber expuesto algunos principios fundamentales de las variaciones de energía en los sistemas químicos se pueden examinar los ciclos de la energía en las células.

#### 6.3.1. CICLO DEL ATP

El trifosfato de adenosina (ATP) (fig. 6-4) desempeña el papel de intermediario de enlace principal entre las reacciones químicas que rinden energía y las que la consumen. Durante el catabolismo, o degradación de los combustibles de la célula ricos en energía, cierta cantidad de su energía libre se halla en disposición de sintetizar ATP a partir del difosfato de adenosina (ADP) y del fosfato (Pi), proceso que precisa del consumo de energía libre. A continuación, el ATP cede la mayor parte de su energía química a los procesos que la precisan, mediante la escisión en ADP y fosfato (fig. 6-4). El ATP desempeña de este modo el papel de transportador de la energía química desde los procesos que rinden energía hasta las actividades fundamentales de la célula que precisan de energía. (2)(12)

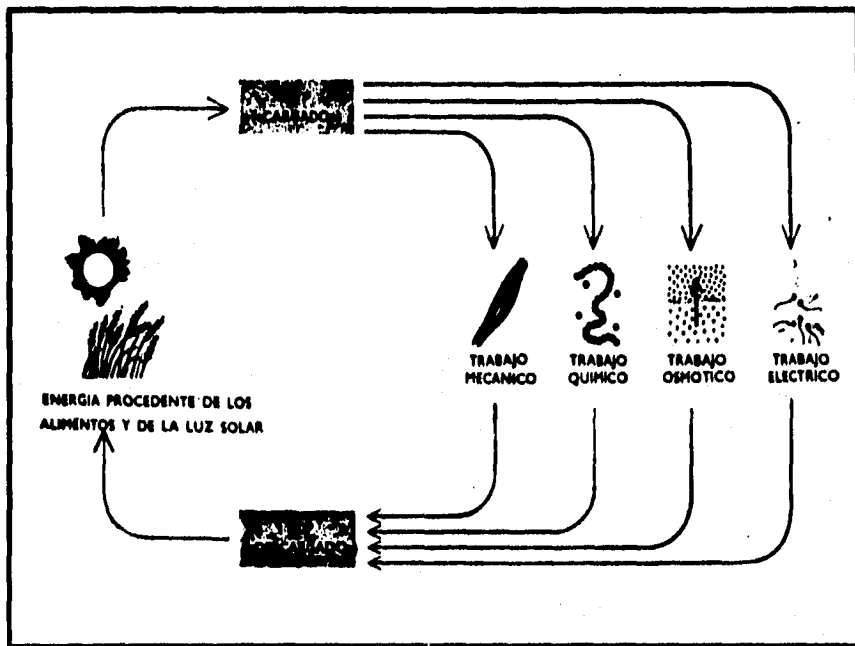


Figura 6-1 Ciclo del ATP. El ADENOSINTRIFOSFATO (ATP), es el transportador común de energía en las células animales y vegetales, se fabrica en las mitocondrias y los cloroplastos. Suministra la energía para la contracción muscular, síntesis de proteínas, absorción o secreción contra un gradiente osmótico y transmisión del impulso nervioso. El adenosindifosfato "descargado" que así se genera se "carga" de nuevo a partir de la energía solar o la de los alimentos.

FUENTE: VILLANUEVA, 1970

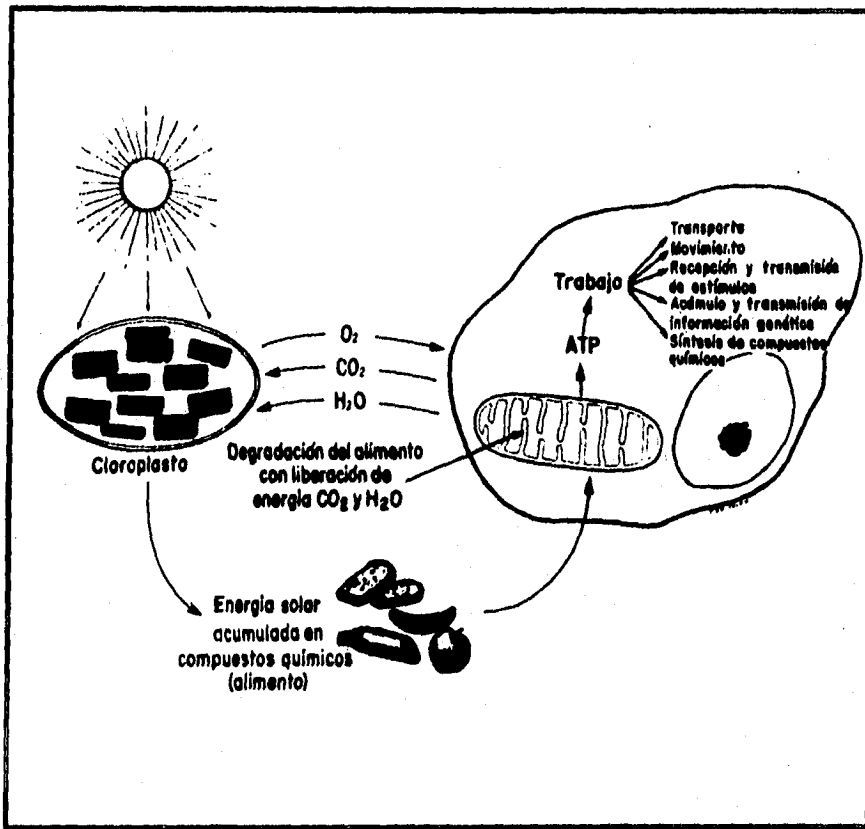


Figura 6-2 Dibujo que ilustra la captación de la energía por la fotosíntesis, su acumulación en los alimentos y utilización por las células a fin de realizar sus funciones.

FUENTE: JUNKEIRA, 1976

Las reacciones metabólicas implicadas en la generación de energía rompen de forma secuencial combustibles macromoleculares ingeridos o almacenados tales como los glúcidos, lípidos o proteínas en las denominadas rutas catabólicas. Las reacciones catabólicas dan lugar, normalmente, a la conversión de grandes moléculas complejas en moléculas más pequeñas ( $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  en último término), o a la producción de energía almacenable o conservable y requieren frecuentemente el consumo de oxígeno durante el proceso. Tales reacciones se aceleran en los períodos de carencia de combustible a "stress" en un organismo. (12)(13)

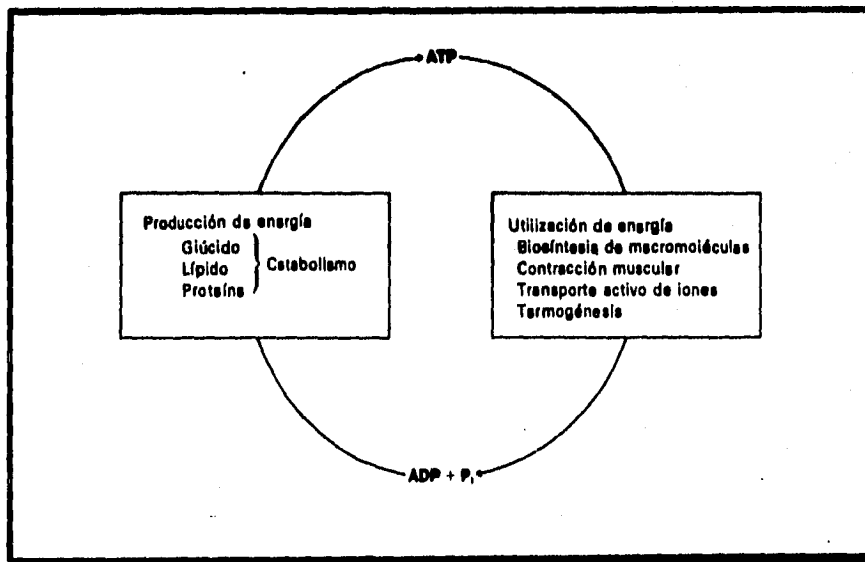


Figura 6-3 Relación entre la producción y la utilización de energía.

FUENTE: DEVLIN, 1985

**6.3.2. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DEL ATP**

El ATP y sus productos de hidrólisis sucesiva, el difosfato de adenosina (ADP) y el monofosfato de adenosina (AMP), son nucleótidos( ver capítulo 7), los cuales están constituidos por una base heterocíclica de purina o de pirimidina, un azúcar de 5 carbonos y uno o más grupos fosfato. En el ATP, el ADP y el AMP, la base es la purina adenina y el azúcar de 5 carbonos es la D-ribosa. (30)

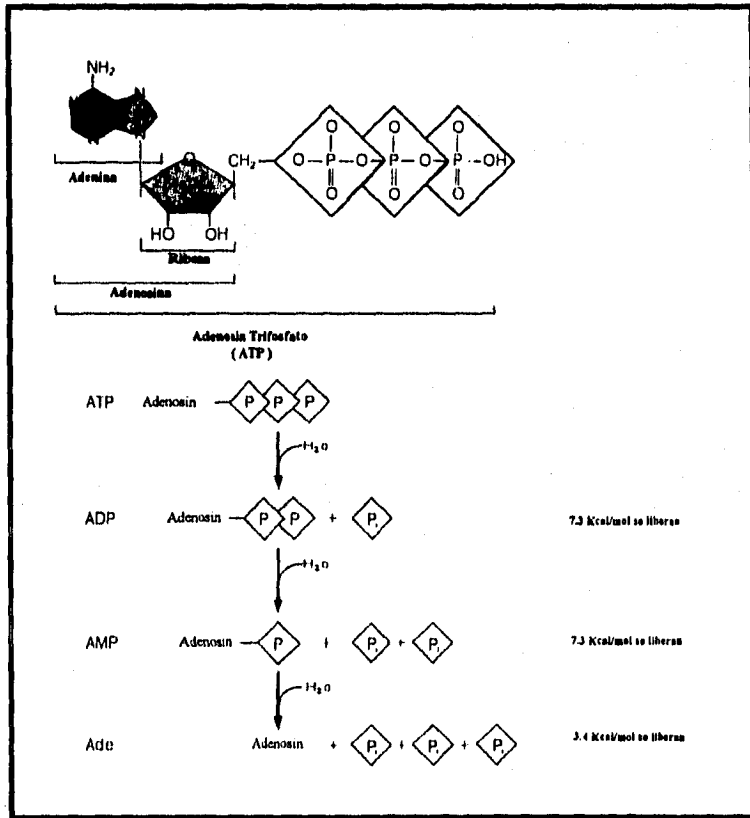


Figura 6-4 Estructura del ATP, ADP y AMP.  
FUENTE. MATHEWS, 1990

### 6.3.3. ENERGIA LIBRE DE HIDROLISIS DEL ATP EN LAS CELULAS

#### INTACTAS

La energía libre estándar de hidrólisis del ATP vale  $-7,3$  kcal/mol. (27)

La energía libre real de hidrólisis del ATP en las condiciones intracelulares ( $\Delta G_p$ ) es diferente de la energía libre estándar  $\Delta G^\circ$ . Se puede calcular con facilidad la variación de energía libre real,  $\Delta G^\circ$  de hidrólisis del ATP en la célula. Por ejemplo, en los eritrocitos humanos las concentraciones de ATP, ADP y  $P_i$  son 2,25, 0,25 y 1,65 mM, respectivamente. Se supone, para mayor sencillez, que el pH es 7,0 y la temperatura es  $25^\circ\text{C}$ , pH y temperatura estándar. La energía libre real  $\Delta G$  de hidrólisis del ATP en las células rojas de la sangre, en estas condiciones, viene dado por la relación

$$\Delta G = \Delta G^\circ + 2,303 R T \log \frac{[\text{ADP}][\text{P}_i]}{[\text{ATP}]}$$

Sustituyendo los valores apropiadas se obtiene

$$\begin{aligned} \Delta G &= -7300 + 1360 \log (2,50 \times 10^{-4})(1,65 \times 10^{-3}) / 2,25 \times 10^{-3} \\ &= -7300 + 1360 \log 1,83 \times 10^{-4} = -7300 + 1360(-3,74) = -7300 - 5100 \\ &= -12400 \text{ cal/mol} = -12,4 \text{ kcal/mol} \end{aligned}$$

Así la variación de energía libre real  $\Delta G_p$ , para la hidrólisis del ATP en el eritrocito intacto ( $-12,4$  kcal/mol) es mucho mayor que la variación de energía libre estándar ( $-7,3$  kcal/mol). Por la misma razón la energía libre que se necesita para sintetizar 1 mol de ATP a partir de ADP y de fosfato, en las condiciones que prevalecen en la célula roja de la sangre, sería de  $+12,4$  kcal/mol.

(27)

La tabla 6-3 contiene las variaciones de energía libre estándar de algunos compuestos fosforilados.

Tabla 6-3 Energía Libre Estándar De Hidrólisis De Algunos Compuestos Fosforilados.

	$\Delta G^\circ$ , Kcal/mol
Fosfoenolpiruvato	-14,8
Fosfato de 3-fosfoglicerilo ( $\rightarrow$ 3-fosfoglicerato + Pi)	-11,8
Fosfocreatino	-10,3
ADP ( $\rightarrow$ AMP + Pi)	-7,3
ATP ( $\rightarrow$ ADP + Pi)	-7,3
AMP ( $\rightarrow$ adenosina + Pi)	-3,4
1-Fosfato de glucoso	-5,0
6-Fosfato de fructoso	-3,8
6-Fosfato de glucosa	-3,3
1-Fosfato de glicerilo	-2,2

FUENTE: DEVLIN, 1992



## 6.4 ETAPAS EN LA EXTRACCIÓN DE ENERGÍA DE LOS ALIMENTOS

Comencemos por una visión de conjunto del proceso de la generación de energía en los organismos superiores antes de considerar estas reacciones en detalle en los temas siguientes:

Hans Krebs ha descrito 3 etapas en la generación de energía a partir de la oxidación de los alimentos. (42)

"En la primera etapa, las grandes moléculas de los alimentos son fragmentados hasta unidades más pequeñas". En esta fase no se genera energía útil. (42)

"En la segunda etapa, estas numerosas moléculas pequeñas se degradan hasta unas pocas unidades simples que juegan un papel central en el metabolismo". De hecho, la mayoría de ellas se convierten en el fragmento acetilo del acetil-CoA. En esta etapa se genera algo de ATP, pero la cantidad total es pequeña comparada con la que se obtiene en la oxidación completa del fragmento acetilo del acetil-CoA. (42)

"La tercera etapa consta del ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa", que son las vías finales, comunes en la degradación de las moléculas oxidables. El acetil-CoA aporta fragmentos acetilo a este ciclo, en donde son completamente oxidados hasta  $\text{CO}_2$ . Se transfieren 4 pares de electrones al  $\text{NAD}^+$  y  $\text{FAD}$  por cada grupo acetilo que se oxida. Se genera ATP a medida que los electrones fluyen desde las formas reducidas de estos transportadores hasta el  $\text{O}_2$ , en un proceso que se llama fosforilación oxidativa. La mayoría del ATP que se genera por la degradación de los alimentos se forma en esta tercera etapa. (42)

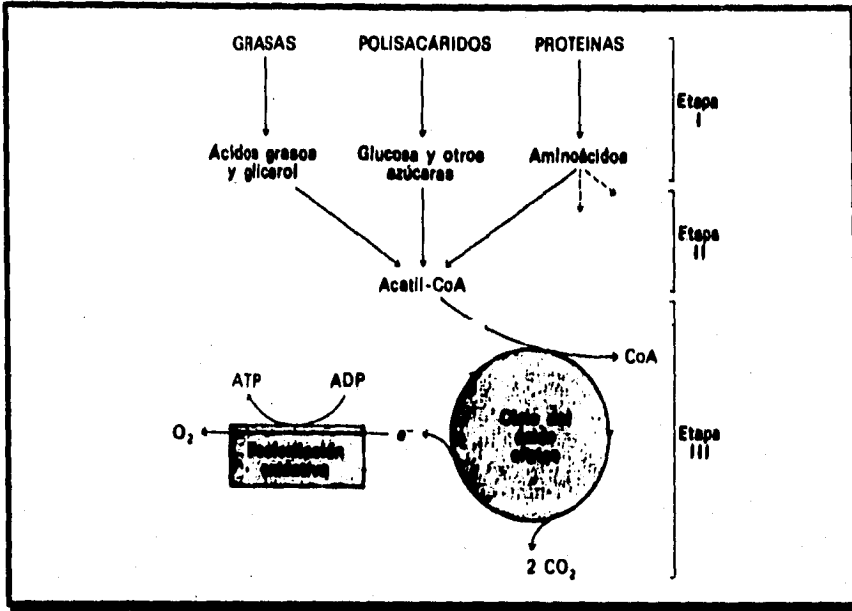


Figura 6-5 Etapas en la extracción de energía de los alimentos.  
FUENTE: STRYER, 1994

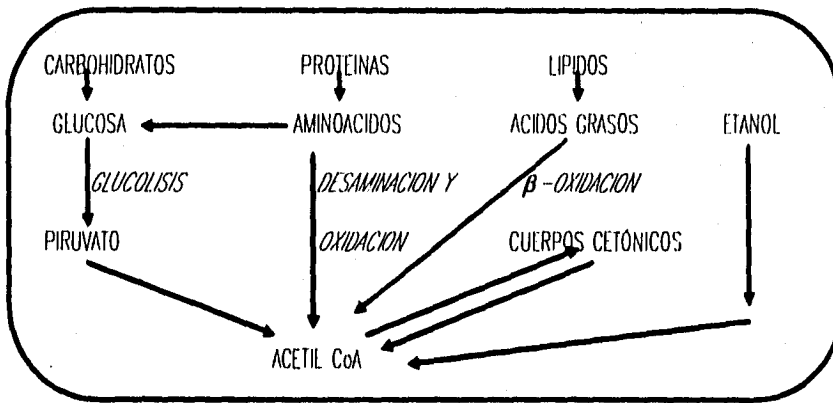


Figura 6-6 Precursores generales del acetil CoA.  
FUENTE: MONTGOMERY, 1992 Y DEVLIN, 1992

### 6.4.1. GLUCOLISIS o GLICOLISIS o VIA DE EMBDEN-MEYERHOF

La glucólisis es el proceso por el cual una secuencia de aproximadamente 11 enzimas promueve en una molécula de glucosa, una serie de transformaciones graduales con la producción de 2 moléculas de ácido pirúvico, con la producción concomitante de ATP.

Ahora bien el piruvato puede tener varios caminos:

#### BAJO CONDICIONES AEROBICAS,

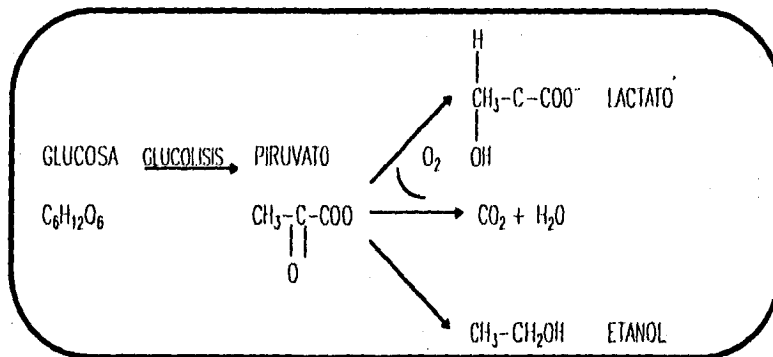
El piruvato entra en la mitocondria donde es completamente oxidado hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ .

#### BAJO CONDICIONES ANAEROBIAS O CON SUMINISTRO INSUFICIENTE DE $\text{O}_2$ .

Como en el musculo en contracción, el piruvato se convierte en lactato. En algunos organismos anaeróbicos, como las levaduras, el piruvato se convierte en etanol.

La formación de etanol y lactato a partir de glucosa son ejemplos de FERMENTACIONES.

El producto final de la glucólisis anaeróbica no es el mismo para todos los organismos, ya que se pueden formar alcohol, ó ácido cítrico, ó ácido butírico; por consiguiente hay varios tipos de fermentación.



FUENTE: STRYER, 1994

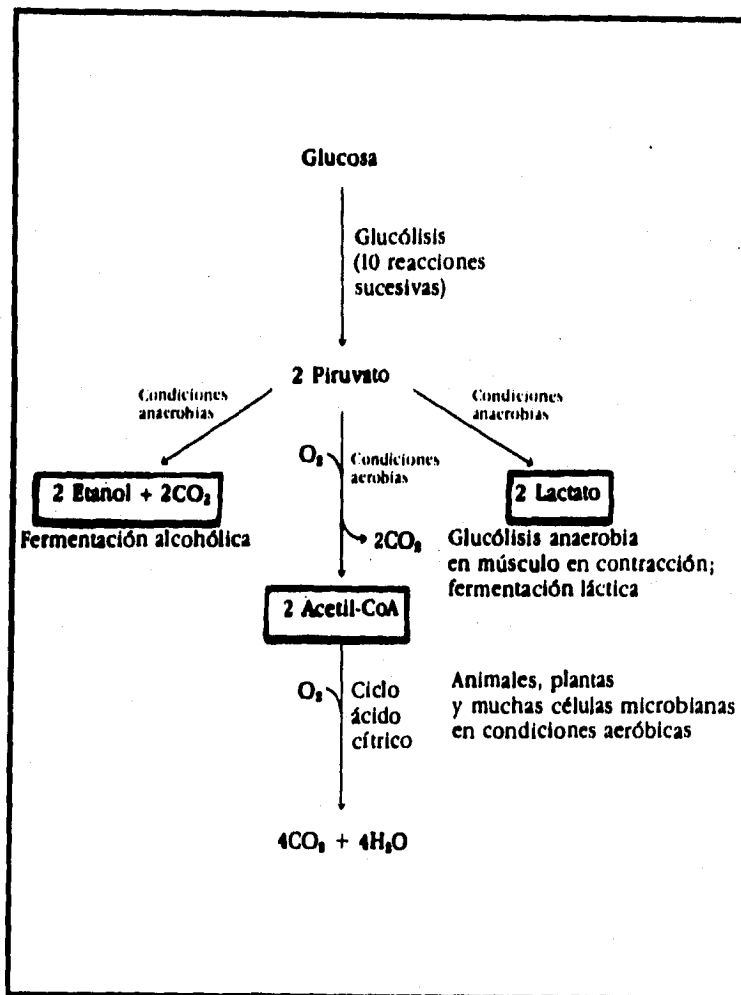


Figura 6-7 El piruvato producto final de la glucólisis , sigue rutas catabólicas diferentes que dependen del organismo y de las condiciones metabólicas.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

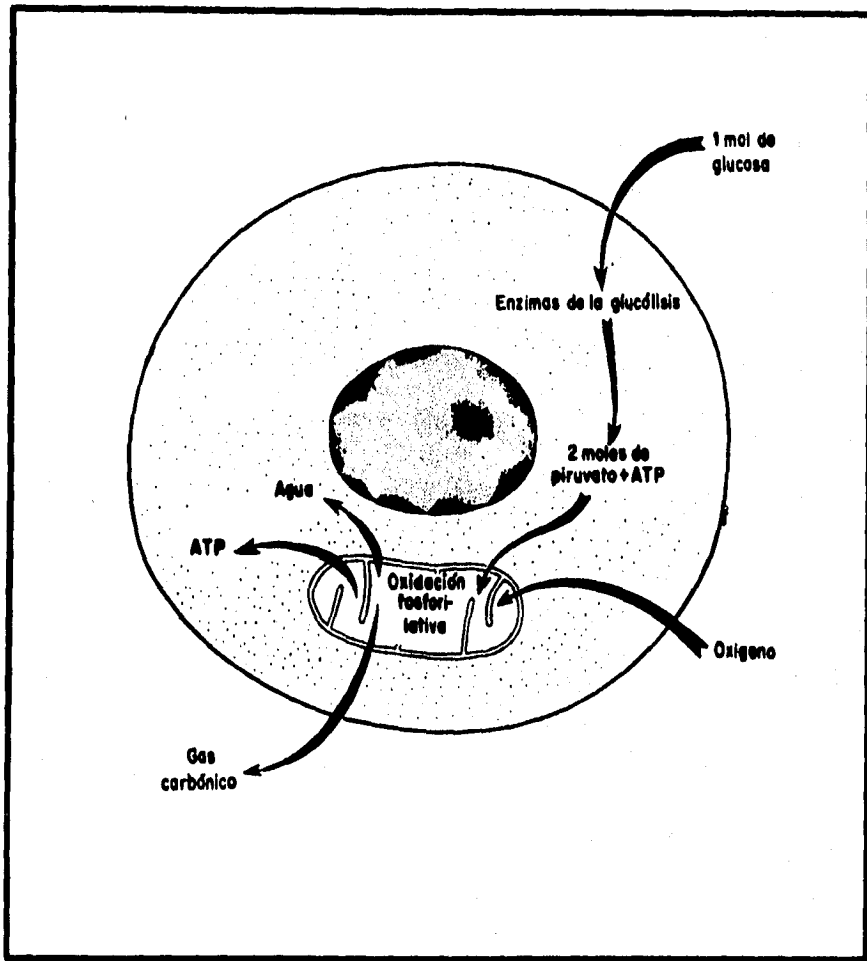
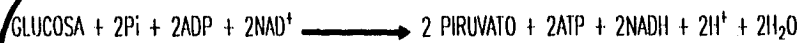


Figura 6-8 Dibujo esquemático mostrando que la glucólisis se realiza en el citoplasma, mientras que la producción de acetilcoenzima A y la fosforilación oxidativa se procesan dentro de las mitocondrias.

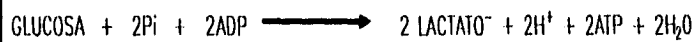
FUENTE: JUNKER, 1976

**RENDIMIENTO EN ENERGIA DE LA TRANSFORMACION DE GLUCOSA EN PIRUVATO**

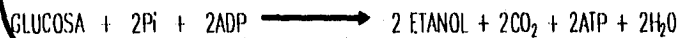
La reacción neta de la transformación de glucosa en piruvato es:



La ecuación completa de la glucólisis anaerobia en el musculo y de la fermentación láctica en algunos microorganismos es:



Y para la fermentación alcohólica es:



En las células aeróbicas, el piruvato se oxida a acetil-CoA y  $\text{CO}_2$  en lugar de reducirse a lactato (o etanol +  $\text{CO}_2$ ). La glucólisis es por tanto, la primera etapa obligatoria en el metabolismo aerobio de la glucosa en muchos organismos. (2)(12)

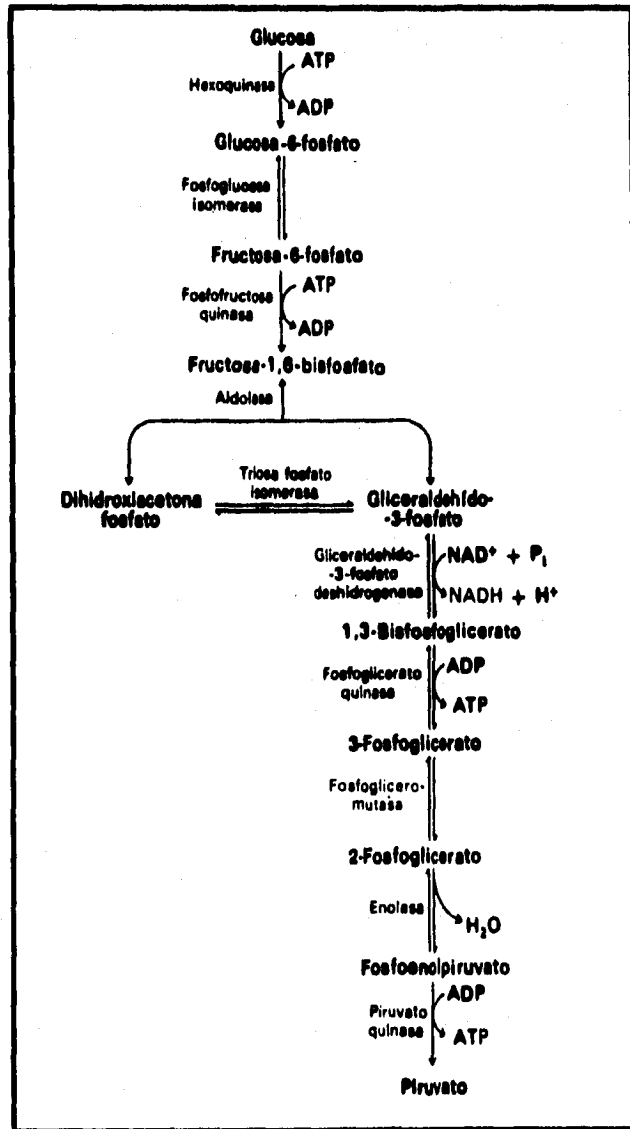


Figura 6-9 La vía de la glucólisis

FUENTE: STRYER, 1994

## LA RESPIRACION CELULAR

Para extraer de los alimentos la energía que contienen, la célula tuvo que desarrollar un sistema que los oxidara lentamente, liberando energía y produciendo agua y gas carbónico en el caso de plantas y animales aeróbicos. A este proceso se le llamó respiración celular.

FASES DE LA RESPIRACION  
CELULAR

FASE 1. MOVILIZACION DEL ACETIL-CoA PROCEDENTE DE LA GLUCOSA, DE LOS ACIDOS GRASOS Y DE ALGUNOS AMINOACIDOS.

FASE 2. CICLO DEL ACIDO CITRICO. EN DONDE LOS GRUPOS ACETILO SE INCORPORAN A ESTE CICLO, QUE LOS DEGRADA ENZIMATICAMENTE PARA DAR ATOMOS DE HIDROGENO RICOS EN ENERGIA Y LIBERAR CO<sub>2</sub>, QUE ES EL PRODUCTO FINAL DE OXIDACION DE LOS COMBUSTIBLES ORGANICOS.

FASE 3. TRANSPORTE ELECTRONICO Y FOSFORILACION OXIDATIVA. EN ESTA FASE LOS ATOMOS DE HIDROGENO SE SEPARAN DANDO PROTONES (H<sup>+</sup>) Y ELECTRONES RICOS EN ENERGIA QUE SON TRANSFERIDOS A LO LARGO DE UNA CADENA DE MOLECULAS LO TRANSPORTADORAS DE ELECTRONES, LA CADENA RESPIRATORIA, HASTA EL OXIGENO MOLECULAR, AL QUE REDUCEN PARA FORMAR AGUA. DURANTE ESTE PROCESO DE TRANSPORTE ELECTRONICO, GRAN PARTE DE LA ENERGIA SE LIBERA Y SE CONSERVA EN FORMA DE ATP, EN UN PROCESO LLAMADO F.O.



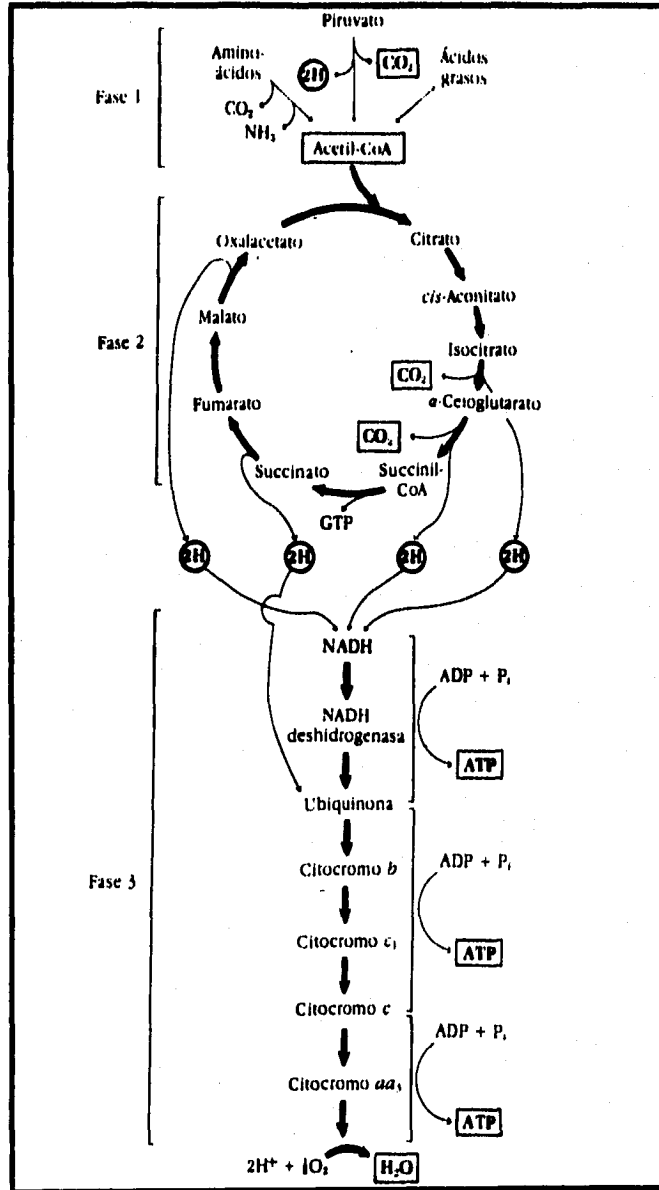


Figura 6-10 Fases de la respiración celular.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

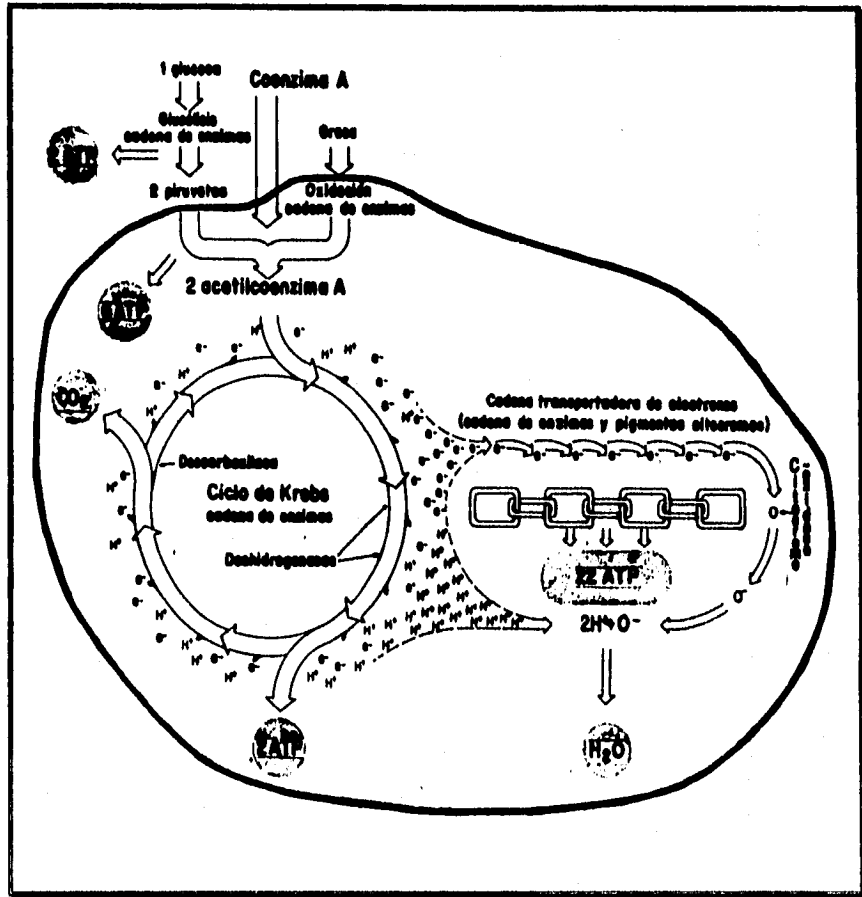


Figura 6-11 Dibujo que ilustra los principales procesos que ocurren en la respiración aeróbica de la célula. El puntillado indica los límites de una mitocondria. Al comienzo hay producción de acetilcoenzima A que ingresa en el ciclo de Krebs, de lo cual resulta la producción de electrones, protones,  $CO_2$  y reducida cantidad de ATP. Los electrones recorren la cadena transportadora de electrones y producen mucho ATP. Los protones se combinan con el oxígeno activado por el sistema citocromooxidasa, produciendo agua.

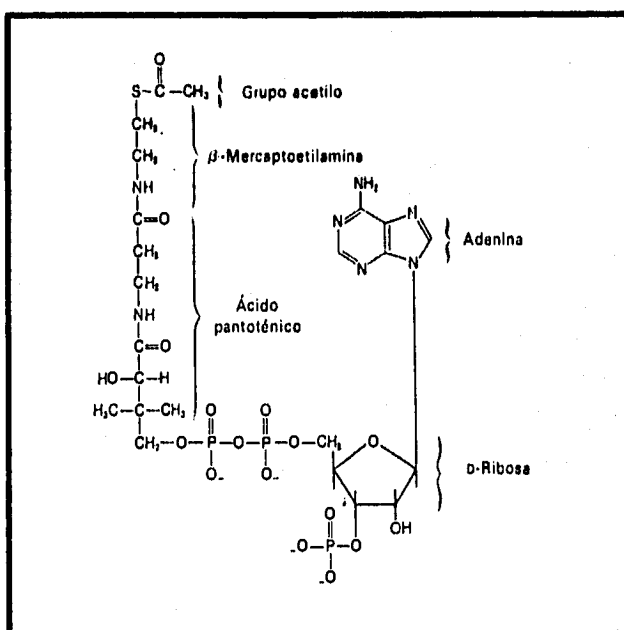
FUENTE: JUNKERA, 1976

**6.5.1. FASE 1. PRODUCCION DE ACETILCOENZIMA A**

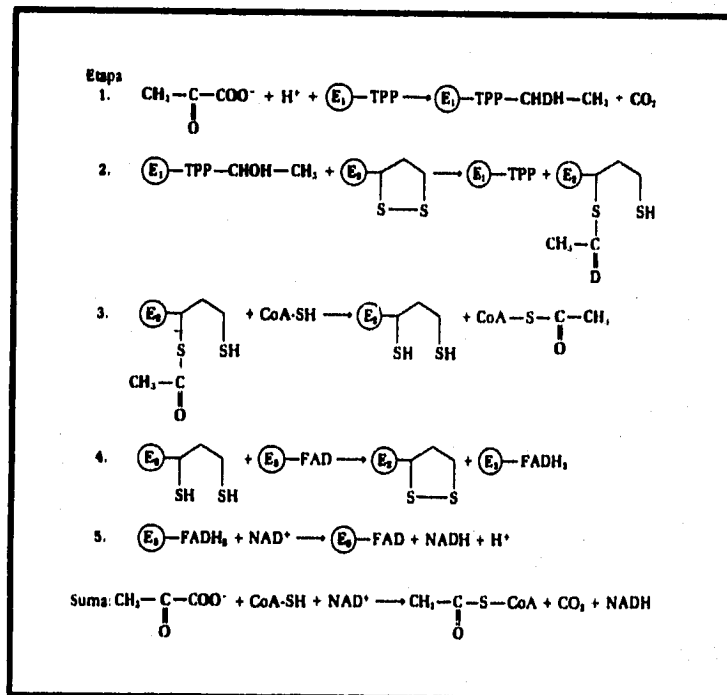
La acetilcoenzima A (fig-6-12) se produce a partir de la coenzima A y de los piruvatos derivados de la glucólisis o de la oxidación de los ácidos grasos. Ambos compuestos atraviesan las membranas mitocondriales y en su interior el piruvato se transforma por intervención de un sistema multienzimática en acetato y este se combina con la coenzima (fig.6-11). (13)(27)(42)

El acetilcoenzima A formado, ingresa al Ciclo de Krebs. Este proceso es exergónico y da como resultado la producción de 6 moléculas de ATP por molécula de glucosa consumida. (42)

Esta unidad de acetilo activado se oxida, entonces completamente hasta CO<sub>2</sub> por medio del ciclo del ácido cítrico o Krebs. (13)



**Figura 6-12 Estructura del acetil-CoA.**  
 FUENTE: DEVLIN, 1988



Donde:

$\text{E}_1$  = Deshidrogenasa del piruvato.

TPP = Pirofosfato de tiamina.

TPP-CHOH-CH<sub>3</sub> = Pirofosfato de - hidroxietil tiamina.

$\text{E}_2$  = Transacetilasa del dihidrolipoilo

$\text{E}_3$  = Deshidrogenasa del dihidrolipoilo.

Figura 6-13 Etapas de la descarboxilación oxidante del piruvato hasta acetil-coa por el complejo de la deshidrogenasa del piruvato.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

### 6.5.2. FASE 2. CICLO DE KREBS

Los seres humanos consumen gran variedad de alimentos complejos de origen animal y vegetal. La digestión los reduce a un pequeño número de sustancias sencillas. Estos productos suelen ser azúcares o ácidos orgánicos. Las últimas fases de la oxidación de dichas sustancias se producen en un ciclo de reacciones enzimáticas que recibe el nombre de ciclo de los ácidos tricarboxílicos, ciclo del ácido cítrico o ciclo de Krebs. (32)

El ciclo de los ácidos tricarboxílicos o ciclo de Krebs desempeña 5 funciones principales:

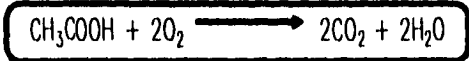
1. Produce casi todo el dióxido de carbono fabricado en los tejidos humanos.
2. Es la fuente de muchas de las coenzimas reducidas que impulsan la producción del ATP en la cadena respiratoria, por lo que está estrechamente acoplado a ella.
3. Dirige el exceso de energía y muchos intermediarios a la síntesis de ácidos grasos.
4. Proporciona algunos de los precursores utilizados en la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos.
5. Sus componentes regulan de forma directa (producto-precursor) o indirecta (alostérica) otros sistemas enzimáticos.

El ciclo de Krebs es, además, común para la degradación metabólica de carbohidratos, ácidos grasos y aminoácidos. Se puede comparar con una rotonda de tráfico bioquímica; el material que entra en él, procedente de aminoácidos puede ir a formar carbohidratos. La única ruta cortada es la que va de grasa a carbohidratos. (32)

En las células de mamífero, todas las enzimas del ciclo de Krebs están localizadas en las mitocondrias. (32)

COMPONENTES DEL CICLO DE KREBS

La reacción global del ciclo viene expresada por la ecuación:



El resultado neto del ciclo es la oxidación de ácido acético a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  (fig. 6-14). La forma metabólica del ácido acético empleada en el ciclo es el acetil CoA, que tiene varios orígenes (figs. 6-6 y 6-10). La mayoría de las moléculas combustibles entran al ciclo de Krebs como acetil CoA. (27)(32)

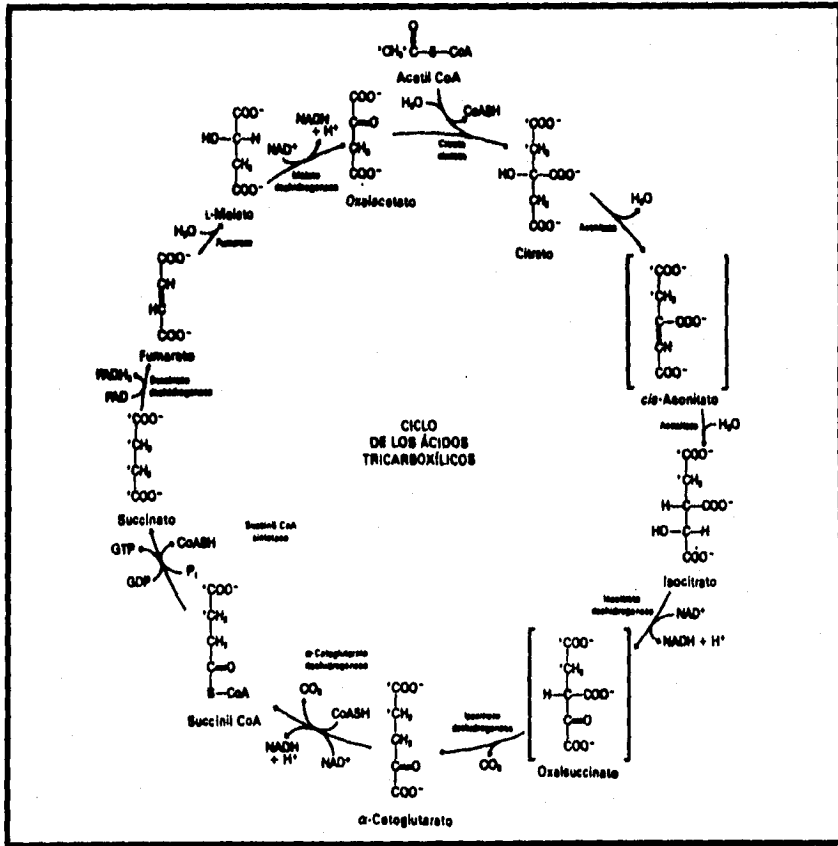


Figura 6-14 Ciclo de los ácidos tricarbónicos.  
FUENTE: DEVLIN, 1968

REGULACION DEL CICLO DE LOS ACIDOS TRICARBOXICOS

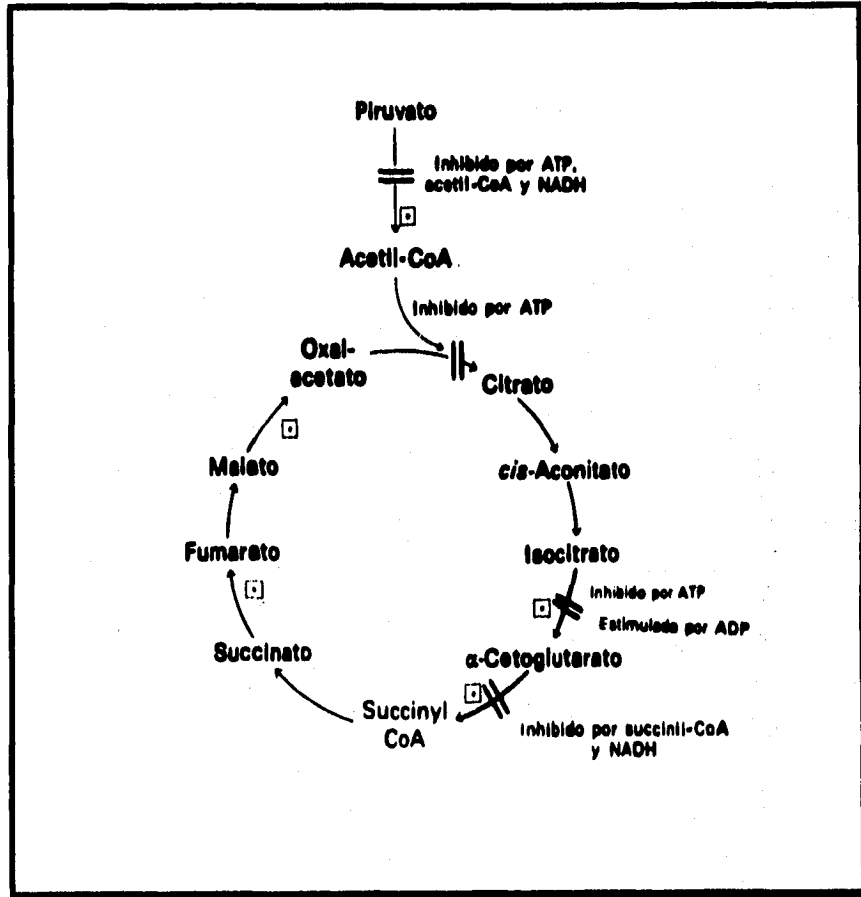


Figura 6-15 Control del ciclo del ácido cítrico y de la descarboxilación oxidativa del piruvato.  
 ◻ indica etapas que requieren un aceptor de electrones (NAD<sup>+</sup> o FAD) que se regenera por la cadena respiratoria.  
 FUENTE: STRYER, 1994

**PAPEL ANFIBOLICO**

El papel anfibólico del ciclo de Krebs, radica en que este sirve para transformar materiales de diversos orígenes metabólicos en un pequeño número de intermediarios comunes a diversas vías catabólicas y anabólicas. (32)

Ejemplo:

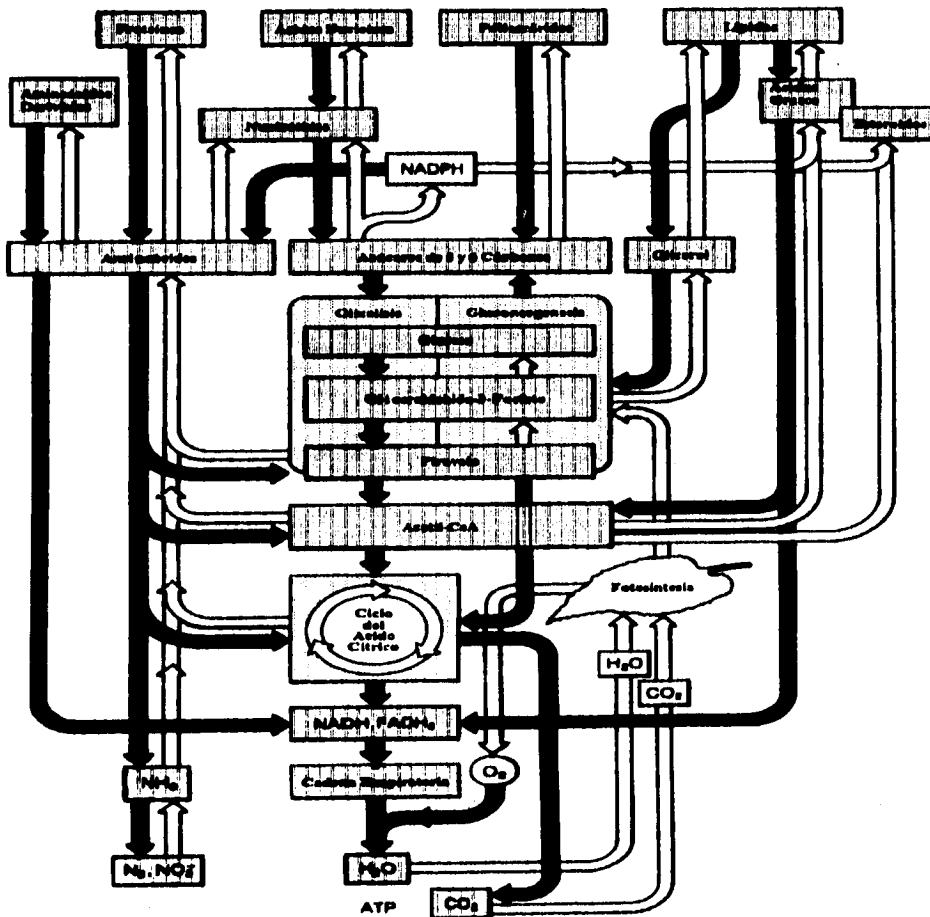


Figura 6-16 Ejemplo del papel anfibólico del ciclo de Krebs.

FUENTE: MATHEWS, 1990



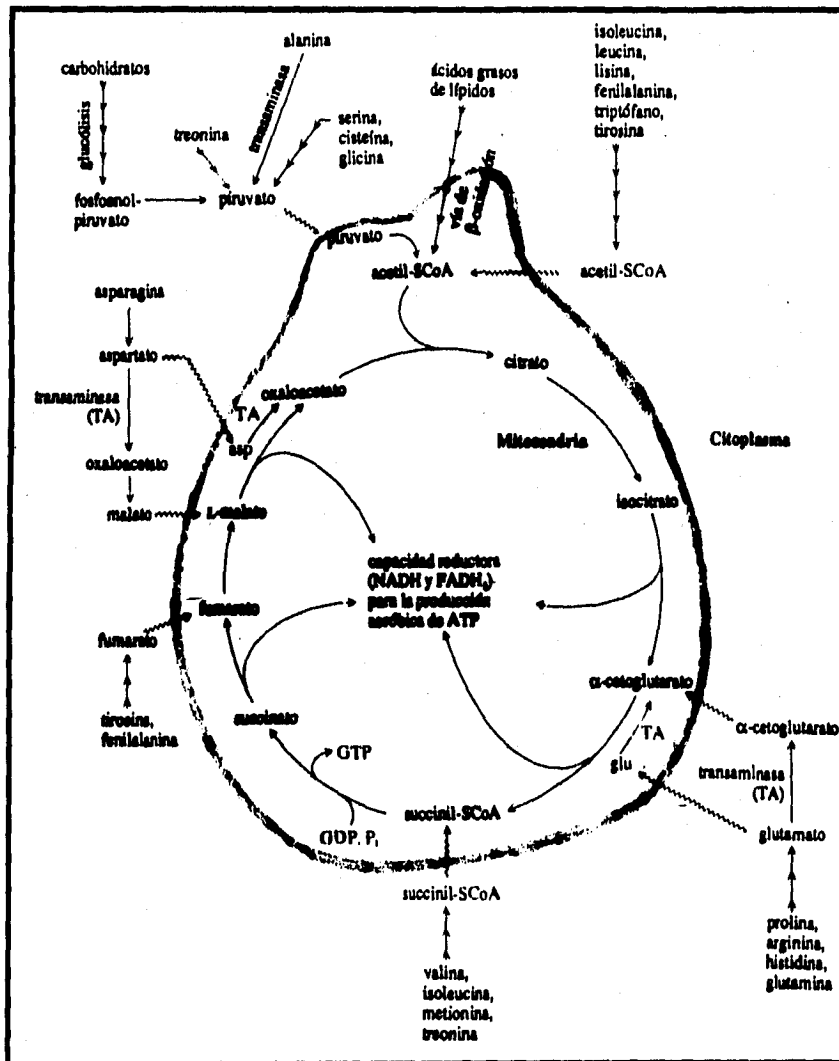


Figura 6-17 Ejemplo del papel anfibólico del ciclo de Krebs. Ciclo del ácido cítrico en el catabolismo. Las vías degradatorias en las que participa más de un paso enzimático se señalan con flechas múltiples (→→→). El área sombreada corresponde a los procesos intramitocondriales. Las líneas onduladas representan el transporte a través de la membrana mitocondrial.

FUENTE: BOHNSKI, 1991

**6.5.3. FASE 3. CADENA RESPIRATORIA Y FOSFORILACION OXIDATIVA**

**6.5.3.1. CADENA RESPIRATORIA**

La reoxidación del NADH está acoplada con la reducción de FAD y FADH<sub>2</sub>.

Este es el primer paso de un complejo sistema impulsado por enzimas mitocondriales acopladas, que actúan en estrecho contacto físico. (32)

Este grupo de enzimas asociadas se conoce, colectivamente, como cadena respiratoria o cadena transportadora de electrones. Este nombre se refiere a la definición de oxidación y reducción como pérdida o ganancia de electrones, de forma que un sistema que promueve oxidaciones biológicas implica la transferencia de electrones. El término cadena respiratoria apunta a que las reacciones acopladas implican un consumo de O<sub>2</sub>, es decir, respiración. (2)(32)

Las componentes básicas de la cadena respiratoria se esquematizan en la figura siguiente. Existen dos modos de entrar al sistema, por medio de las coenzimas reducidas NADH y FADH<sub>2</sub>,

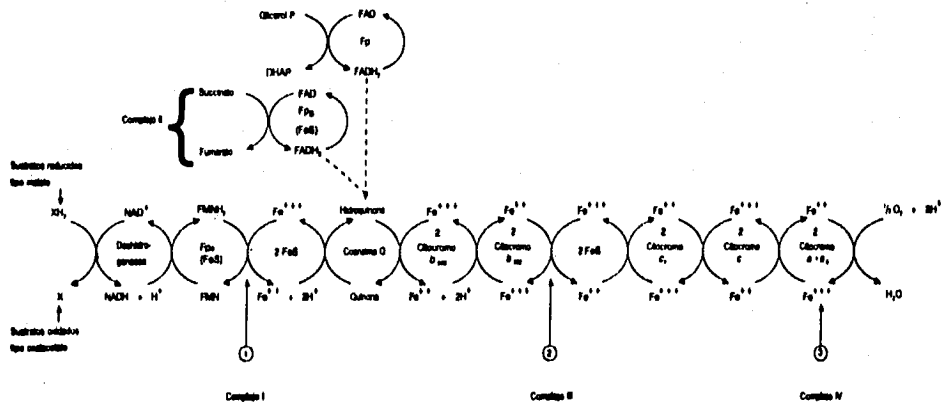


Figura 6-18 Cadena respiratoria.  
FUENTE: MONTGOMERY, 1992

La figura 6-19 muestra la organización global del transporte electrónico y de la fosforilación oxidativa.

En cada una de las vueltas en torno del ciclo del ácido cítrico, se separan 4 pares de átomos de hidrógeno desde el isocitrato,  $\alpha$ -oxoglutarato, succinato y malato, en reacciones catalizadas por deshidrogenasas específicas. (27)(28)

Además de estos 4 pares de átomos de hidrógeno procedentes del ciclo de Krebs, otros provienen de las deshidrogenasas que actúan sobre el piruvato, los ácidos grasos y los aminoácidos durante su degradación a acetil-CoA y otros productos. (27)(28)

Estos átomos de hidrógeno ceden sus electrones en algún punto, a la cadena de transporte electrónico y se transforman en iones  $H^+$ , que pasan al medio acuoso. Los electrones son transportados a lo largo de una cadena de moléculas transportadoras de electrones, hasta que alcanzan al citocromo  $aa_3$ , o citocromo oxidasa, que promueve la transferencia de los electrones hasta el oxígeno, que es el aceptor final en los organismos aeróbicos. Como cada átomo de oxígeno acepta dos electrones de la cadena, se toman del medio acuoso dos  $H^+$ , que son equivalentes a los que se perdieron anteriormente por acción de las deshidrogenasas, para formar agua. (27)(31)

#### COMPONENTES PRINCIPALES DE LA CADENA RESPIRATORIA

La cadena respiratoria consta de tres clases principales de moléculas. Dos actúan como transportadoras de protones y electrones y la otra sólo transporta electrones. (32)

- ◆ Flavoproteínas y componentes sulfatéricas.
- ◆ Coenzima Q o ubiquinona.
- ◆ Los citocromos.

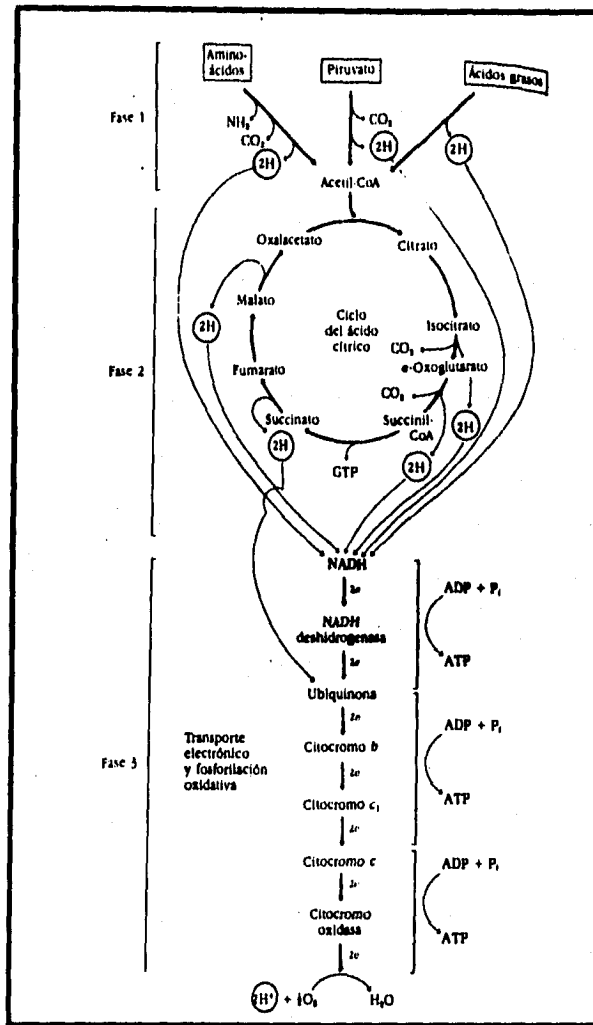


Figura 6-19 Diagrama de la respiración que muestra el origen de los pares de los átomos de hidrógeno separados por las deshidrogenasas y la transferencia de sus electrones  $2e^-$  a la cadena de transporte de electrones que los transporta hasta el oxígeno.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

**Tabla 6-4 Potenciales De Reducción Estandar E'° De Algunos Pares Conjugados Redox Que Participan En El Metabolismo Oxidante.**

PAR REDOX	E'°
<b>ALGUNOS PARES DE SUBSTRATOS</b>	
Acetil-CoA + CO <sub>2</sub> + 2e <sup>-</sup> → piruvato + CoA	-0,48
α-Oxoglutarato + CO <sub>2</sub> + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> → isocitrato	-0,38
Fosfato de 3 fosfoglicerato + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> → 3-fosfato de gliceraldehido + Pi	-0,29
Piruvato + 2H + 2e <sup>-</sup> → lactato	-0,19
Oxalacetato + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> → malato	-0,18
Fumarato + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> → succinato	+0,03
<b>COMPONENTES DE LA CADENA DE TRANSPORTE ELECTRONICO.</b>	
<b>2H<sup>+</sup> + 2e<sup>-</sup> → H<sub>2</sub></b>	<b>-0,41</b>
NAD <sup>+</sup> + H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> → NADH	-0,32
NADP <sup>+</sup> + H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> → NADPH	-0,32
NADH deshidrogenasa (forma FMN) + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> → NADH deshidrogenasa (forma FMNH <sub>2</sub> )	-0,30
Ubiquinona + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> → ubiquinol	+0,04
Citocromo b (ox) + e <sup>-</sup> → citocromo b (red)	+0,07
Citocromo c <sub>1</sub> (ox) + e <sup>-</sup> → citocromo c <sub>1</sub> (red)	+0,23
Citocromo c (ox) + e <sup>-</sup> → citocromo c (red)	+0,25
Citocromo a (ox) + e <sup>-</sup> → citocromo a (red)	+0,29
Citocromo a <sub>3</sub> (ox) + e <sup>-</sup> → citocromo a <sub>3</sub> (red)	+0,55
<b>½ O<sub>2</sub> + 2H<sup>+</sup> + 2e<sup>-</sup> → H<sub>2</sub>O</b>	<b>+0,82</b>

FUENTE: LEHNINGER, 1991

### 6.6.3.2. FOSFORILACION OXIDATIVA

La fosforilación oxidativa es el proceso por el que se forma ATP cuando, mediante una serie de transportadores de electrones, se transfieren los electrones desde el NADH o el  $\text{FADH}_2$  al  $\text{O}_2$ . Esta es la fuente principal de ATP en los organismos aeróbicos. Por ejemplo, la fosforilación oxidativa genera 32 de las 36 moléculas de ATP que se forman cuando la glucosa se oxida completamente a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . (42)

El 40% de la energía de los alimentos puede almacenarse en forma de compuestos de alta energía. Su conservación se consigue mediante el acoplamiento de la cadena respiratoria mitocondrial con la fosforilación del ADP a ATP. En las reacciones acopladas, como en cualquier otra, deben cumplirse las leyes de conservación de la energía. (32)

#### ETAPAS DE LA FOSFORILACION OXIDATIVA

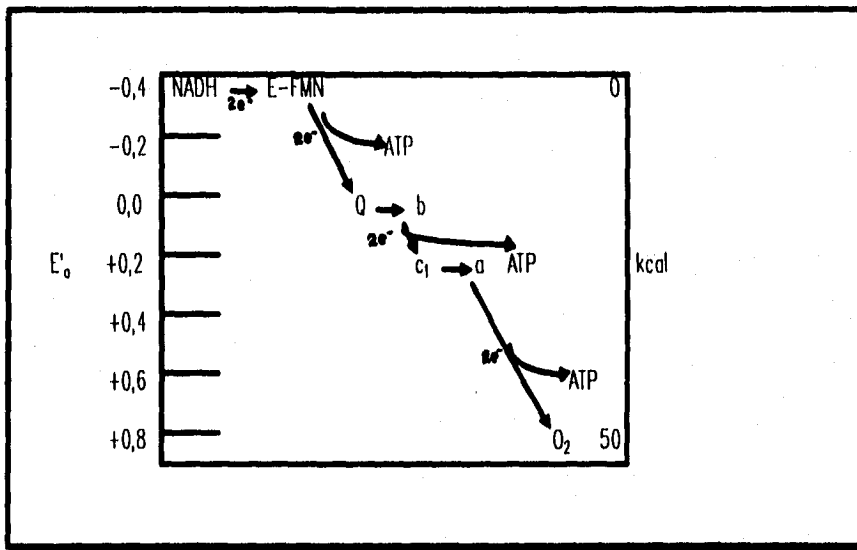
Las etapas finales de la oxidación biológica catalizada por la cadena respiratoria presentan tres puntos distintos en los que la variación de la energía es suficiente para inducir la síntesis de ATP a partir de ADP y  $\text{P}_i$ . La síntesis de ATP exige el acoplamiento con una oxidación que tenga un cambio de potencial de reducción estándar de al menos 0,15 voltios. Esto representa un cambio de potencial de energía bastante grande y no son muchos los puntos de la cadena respiratoria con diferencia de potencial de tal magnitud. (2)(32)

En la figura 6-20 se señalan estos puntos con flechas verticales. Así por cada mol de NADH que entra en la cadena respiratoria se producen 3 moles de ATP.

La ecuación completa para la fosforilación durante el transporte electrónico desde el NADH hasta el oxígeno es: (27)



Obsérvese que existen tres etapas en la cadena de transporte electrónico en las que se producen decrementos de energía libre relativamente grandes al circular los electrones. Estas son las etapas que proporcionan la energía libre para la síntesis del ATP.



Donde:

E-FMN= Representa a la deshidrogenasa del NADH

Q= Es la ubiquinona.

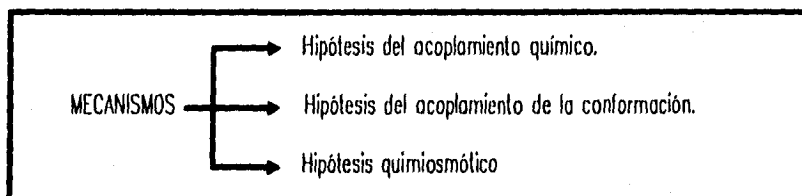
B, c<sub>1</sub>, c y a = Representan a los citocromos

Figura 6-20 Dirección del flujo de electrones y relaciones energéticas en la cadena respiratoria de la mitocondria.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

**MECANISMO DE LA FOSFORILACION OXIDATIVA**

Aunque se conoce en la actualidad bastante acerca del empleo de la energía del ATP en las reacciones de biosíntesis, no se conoce todavía, con precisión, en términos moleculares, como se produce el ATP durante la fosforilación oxidativa. Se han propuesto 3 mecanismos diferentes para la transferencia de energía entre el transporte de electrones y la síntesis del ATP. (27)

**HIPOTESIS QUIMIOSMOTICA DE MITCHELL. (Postulada en 1961)**

La teoría quimiosmótica de Peter Mitchell es un mecanismo de fosforilación oxidativa ampliamente aceptado. Sugirió que el transporte de electrones y la síntesis de ATP estaban acopladas mediante un gradiente de protones a través de la membrana interna mitocondrial. (32)

El sistema o cadena respiratoria contiene numerosas transportadores de electrones, como los citocromos. La transferencia paso a paso desde el NADH o el  $\text{FADH}_2$  hasta el  $\text{O}_2$  a través de estos transportadores encausa el bombeo de protones hacia el exterior de la matriz mitocondrial. La fuerza protomátriz se genera mediante un gradiente de pH y el potencial eléctrico existente a ambos lados de la membrana. Cuando los protones regresan a la matriz mitocondrial, a través de un enzima complejo, se sintetiza ATP. Así pues, *la oxidación y la fosforilación están acopladas por un gradiente de protones a través de la membrana interna mitocondrial (fig.6-21).* (42)



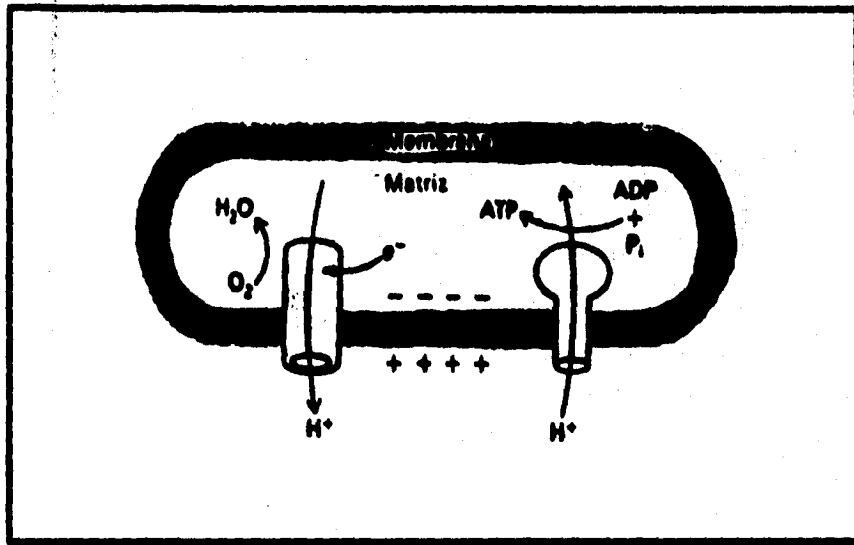


Figura 6-21 La oxidación y la síntesis de ATP están acopladas mediante el flujo de protones a través de la membrana.

FUENTE: STEVIE, 1994

Según este modelo, la transferencia de electrones a través de la cadena respiratoria produce un bombeo de protones desde la matriz mitocondrial hacia la cara citoplasmática de la membrana interna de la mitocondria. La concentración de  $H^+$  aumenta en el lado citoplasmático, y se genera un potencial de membrana en el que el lado citoplasmático resulta positivo (fig. 6-22). *Mitchell* postuló que la síntesis de ATP estaba dirigida por la fuerza protamatriz en el complejo ATPasa. *Escencialmente, el acoplamiento primario de conservación de energía en este modelo es el movimiento de protones a través de la membrana interna mitocondrial.* La energía libre liberada cuando el  $H^+$  retorna a través de la ATPasa, provoca la síntesis acoplada del ATP a partir del ADP y del fosfato. (27)

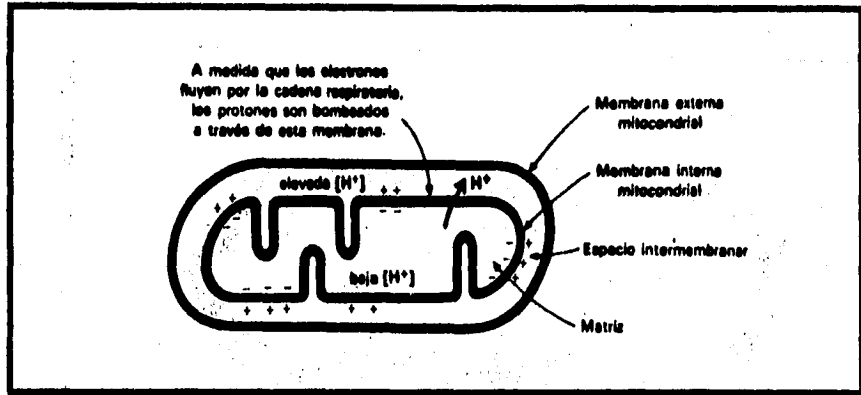


Figura 6-22 Por la transferencia de electrones a través de la cadena respiratoria se genera un gradiente de protones y un potencial de membrana a través de la membrana interna. El gradiente de pH y el potencial de membrana constituyen la fuerza protomotriz que se utiliza para dirigir la síntesis de ATP.  
FUENTE: STEVER, 1994

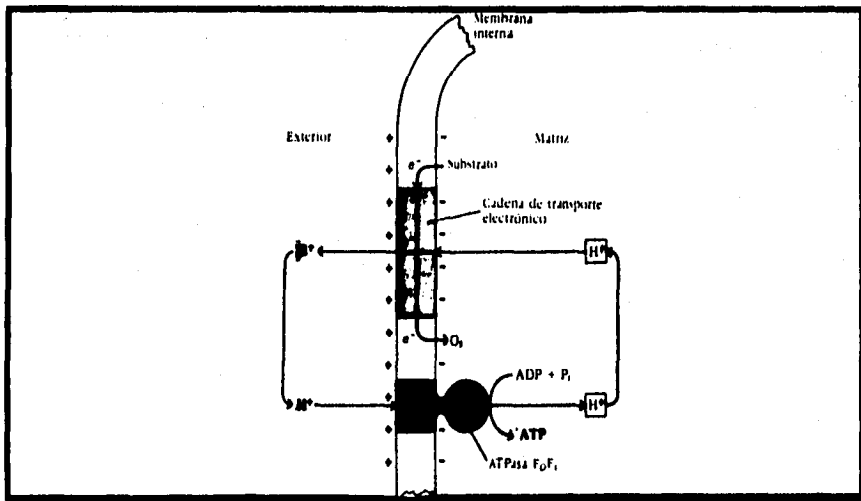


Figura 6-23 Principio de la hipótesis quinosmótica. La cadena de transporte electrónico se comporta como una bomba de  $H^+$ . El  $H^+$  exterior retorna después a la matriz siguiendo su gradiente electroquímico a través de la ATPasa  $F_0F_1$ , originando ATP a expensas de la energía libre que se libera cuando el  $H^+$  circula hacia la zona de concentración de  $H^+$  inferior. La hipótesis propone, por tanto, un ciclo continuo de  $H^+$  hacia fuera de la mitocondria y hacia su interior, impulsado por el transporte electrónico.  
FUENTE: LEHNINGER, 1991

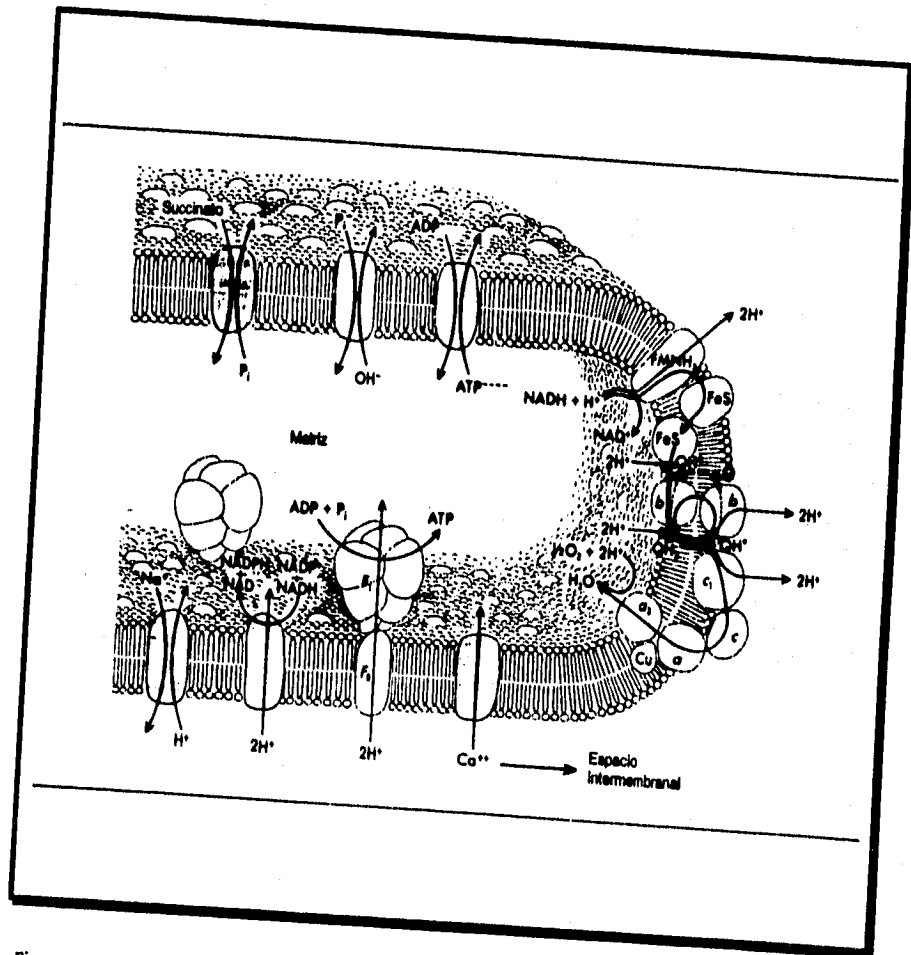


Figura 6-24 Arquitectura de la membrana mitocondrial interna. Se observa una pequeña porción de una cresta. En la parte derecha se muestra una cadena respiratoria, con la organización vectorial que se cree que existe. En la parte inferior se muestra la F<sub>1</sub>, ATPasa.  
FUENTE: MONTGOMERY, 1992

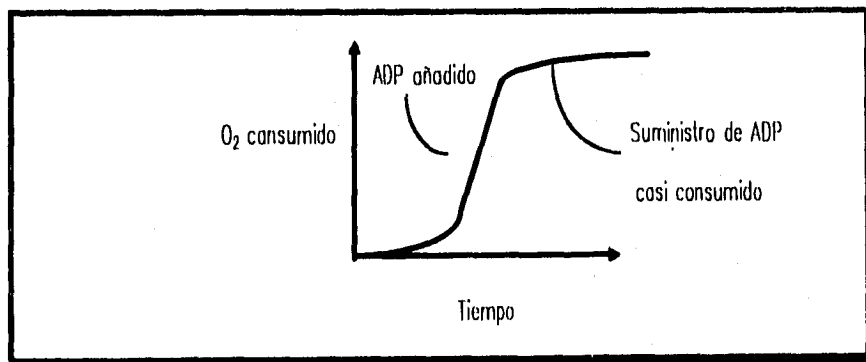
Tabla 6-5 Rendimiento De ATP En La Oxidación Total De La Glucosa.

SECUENCIA DE LA REACCION	ATP PRODUCIDO POR GLUCOSA
<b>GLICOLISIS: GLUCOSA A PIRUVATO (EN EL CITOSOL)</b>	
Fosforilación de la glucosa	-1
Fosforilación de la fructosa-6-fosfato	-1
Desfosforilación de 2 moléculas de 1,3-DPG	+2
Desfosforilación de 2 moléculas de fosfoenolpiruvato	+2
En la oxidación de 2 moléculas de gliceraldehido-3-fosfato se forman 2 NADH	
<b>CONVERSION DE PIRUVATO EN ACETIL-CoA (EN EL INTERIOR MITOCONDRIAL)</b>	
Se forman 2 NADH	
<b>CICLO DEL ACIDO CITRICO (INTERIOR DE LA MITOCONDRIA)</b>	
Formación de 2 moléculas de guanosina trifosfato a partir de 2 moléculas de succinil-CoA	+2
Se forman 6 NADH en la oxidación de 2 moléculas de y isocitrato, $\alpha$ -cetoglutarato y malato	
Se forman 2 FADH <sub>2</sub> en la oxidación de 2 moléculas de succinato.	
<b>FOSFORILACION OXIDATIVA (INTERIOR DE LA MITOCONDRIA)</b>	
Se forman 2 NADH en la glicolisis; cada uno produce 2 ATP	+4
(Suponiendo el transporte de NADH por la lanzadera de glicerol fosfato)	
Se forman 2 NADH en la descarboxilación oxidativa del piruvato; cada uno produce 3 ATP	+6
Se forman 2 FADH <sub>2</sub> en el ciclo del ácido cítrico; cada uno produce 2 ATP	+4
Se forman 6 NADH en el ciclo del ácido cítrico; cada uno produce 3 ATP	+18
<b>PRODUCCION NETA POR GLUCOSA</b>	<b>+36</b>

**CONTROL RESPIRATORIO**

En condiciones fisiológicas, el transporte electrónico está estrechamente acoplado a la fosforilación. *Los electrones no fluyen normalmente a través de la cadena de transporte electrónico hasta el  $O_2$  a menos que el ADP sea fosforilado simultáneamente hasta ATP.* La fosforilación oxidativa requiere un suministro de NADH (u otra fuente de electrones de alto potencial),  $O_2$ , ADP y Pi. El factor determinante de la velocidad de la fosforilación oxidativa más importante es el *nivel de ADP*. La velocidad en el consumo de oxígeno de un homogenada tisular aumenta claramente cuando se le añade ADP y vuelve luego a su valor inicial cuando el ADP añadido ha sido convertida en ATP (fig. 6-25). (2)(12)(42)

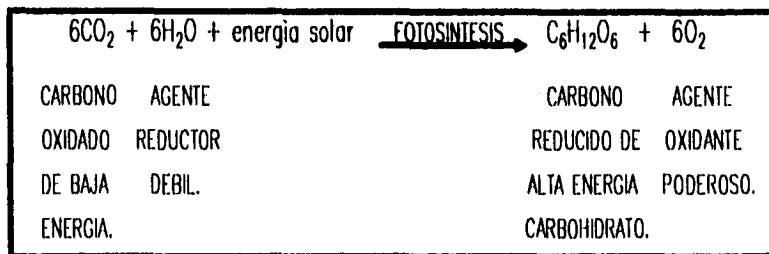
La regulación de la velocidad de la fosforilación oxidativa por el nivel de ADP se denomina *control respiratorio*. El nivel de ADP afecta además a la velocidad del ciclo del ácido cítrico a causa de sus necesidades de  $NAD^+$  y FAD. El significado fisiológico de este mecanismo regulador es evidente. El nivel de ADP aumenta cuando se consume el ATP y así la fosforilación oxidativa queda acoplada a la utilización del ATP. *Los electrones no fluyen desde las moléculas combustibles hasta el  $O_2$  a menos que se necesite sintetizar ATP.* Aquí vemos otro ejemplo del significado regulador de la carga energética. (12)(42)



**Figura 6-25 Control respiratorio. Los electrones son transferidos hasta el  $O_2$  solamente si se fosforila el ADP a ATP.**

FUENTE: STRYER, 1994

En la siguiente ecuación neta se resume el mecanismo crucial de la fotosíntesis:



Estos productos de los organismos fotosintéticos se usan luego para sostener la vida de los organismos aeróbicos heterótrofos, los cuales extraen la energía química del carbono orgánico reducido (originalmente energía solar) al oxidarlo otra vez a  $\text{CO}_2$ . Esta relación química recíproca de la biosfera se denomina Ciclo del Carbono-Oxígeno, o simplemente ciclo del carbono (fig. 6-26). Se ha recalcado la suprema importancia de la fotosíntesis porque este fenómeno inicia el ciclo y, por tanto, sin él dejaría de existir la vida tal como se conoce en la actualidad. (4)

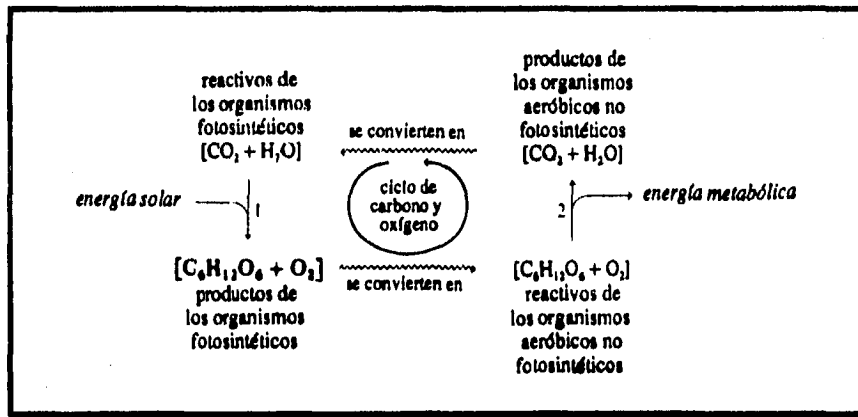
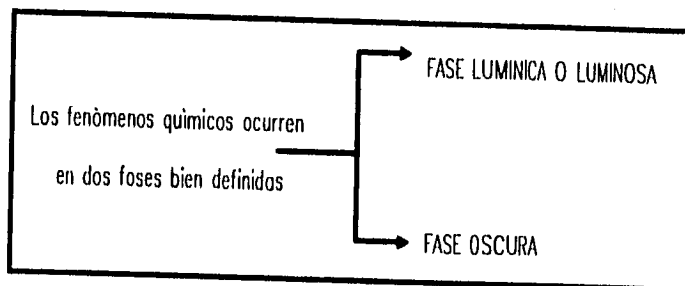


Figura 6-26 Resumen de la interdependencia de los organismos fotosintéticos y no fotosintéticos. FUENTE: BOHINSKI, 1991

El organelo especializado de las células fotosintéticas en el que tiene lugar este proceso químico es el cloroplasto.



En el proceso global participan muchas sustancias, entre las cuales destaca la clorofila.

Tabla 6-6 Resultados de la fase lumínica y oscura de la fotosíntesis.

RESULTADOS DE LA FASE LUMINICA	
Depende directamente de la energía radiante	
1)	$H_2O \longrightarrow (2H^+ + 2e) + \frac{1}{2} O_2$
2)	$NADP^+ + 2H^+ + 2e \longrightarrow NADPH + H^+$
3)	$ADP + P_i \longrightarrow ATP$

RESULTADOS DE LA FASE OSCURA	
Depende indirectamente de la energía radiante	
$CO_2$	$\xrightarrow[NADPH]{ATP} CH_2O$

FUENTE: BOHINSKI, 1991

### 6.6.1. CLOROPLASTOS: SITIO CELULAR DE LA FOTOSÍNTESIS

Las dimensiones, la forma y el número de los cloroplastos varían ampliamente entre las células fotosintéticas.

En las plantas superiores suelen ser cilíndricas y miden de 5 a 10  $\mu\text{m}$  de largo y de 0,5 a 2  $\mu\text{m}$  de diámetro. (4)(28)

Las ordenadas series de cuerpos electrodensos que se aprecian en toda el interior se denominan laminillas o discos tilacoides. Cada pila recibe el nombre de grana y en cada célula existen de 40 a 80 de ellas. (4)(28)

Cada tilacoide contiene todas las moléculas necesarias (pigmentos fotosensibles portadores de  $e^-$  y componentes secundarios) para las reacciones lumínicas cruciales de la fotosíntesis. La mayor parte de las enzimas y coenzimas encargadas de la asimilación de  $\text{CO}_2$  en forma de materia orgánica se encuentran en la porción soluble (luz o lumen) del cloroplasto. (2)(4)

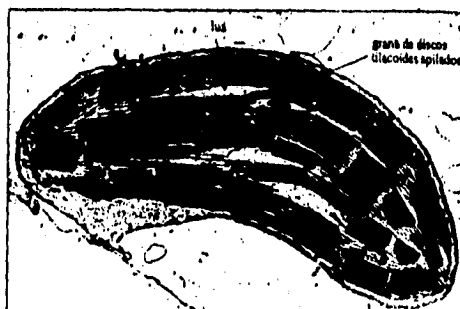


Figura 6-27 Ultraestructura de un cloroplasto intacto, perfectamente desarrollado, tal como se ve en corte transversal bajo el microscopio electrónico. Estas muestras se obtuvieron de las células del mesófilo de una hoja de maíz. Aumento de 32 000 x.

FUENTE: BOHNSKI, 1991



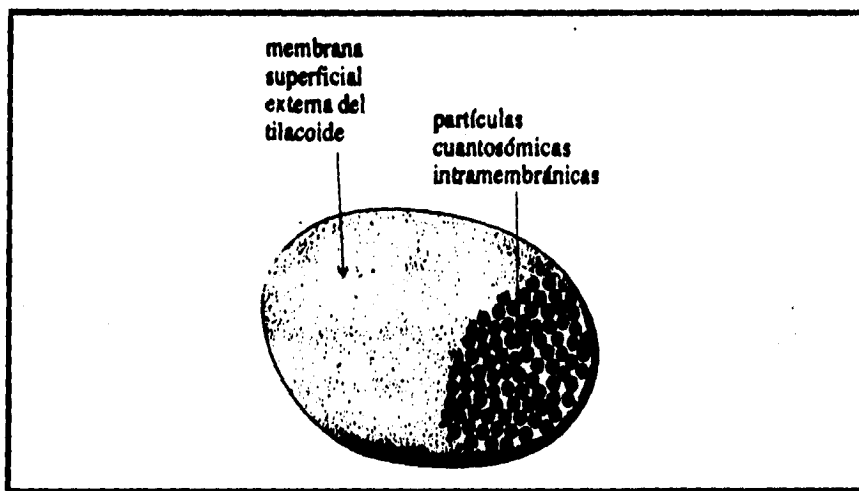


Figura 6-28 Dibujo idealizado de un disco tilacoide. Este dibujo representa una vista superior del tilacoide, al cual se le desprendió una parte de la membrana superficial para revelar la presencia de un mosaico de conjuntos multimoleculares que, según se piensa, representan las unidades fotoquímicas elementales denominadas cuantosomas.

FUENTE: BOHNSKI, 1991

### 6.6.2. FASE LUMINOSA DE LA FOTOSINTESIS

Ecuación neta que resume los cuatro fenómenos principales de la fase luminica:

1. La excitación fotoquímica de la clorofila.
2. El rompimiento oxidativo de agua llamado fotooxidación.
3. La reducción de  $\text{NADP}^+$ , denominada fotorreducción y
4. La formación de ATP o fotofosforilación.



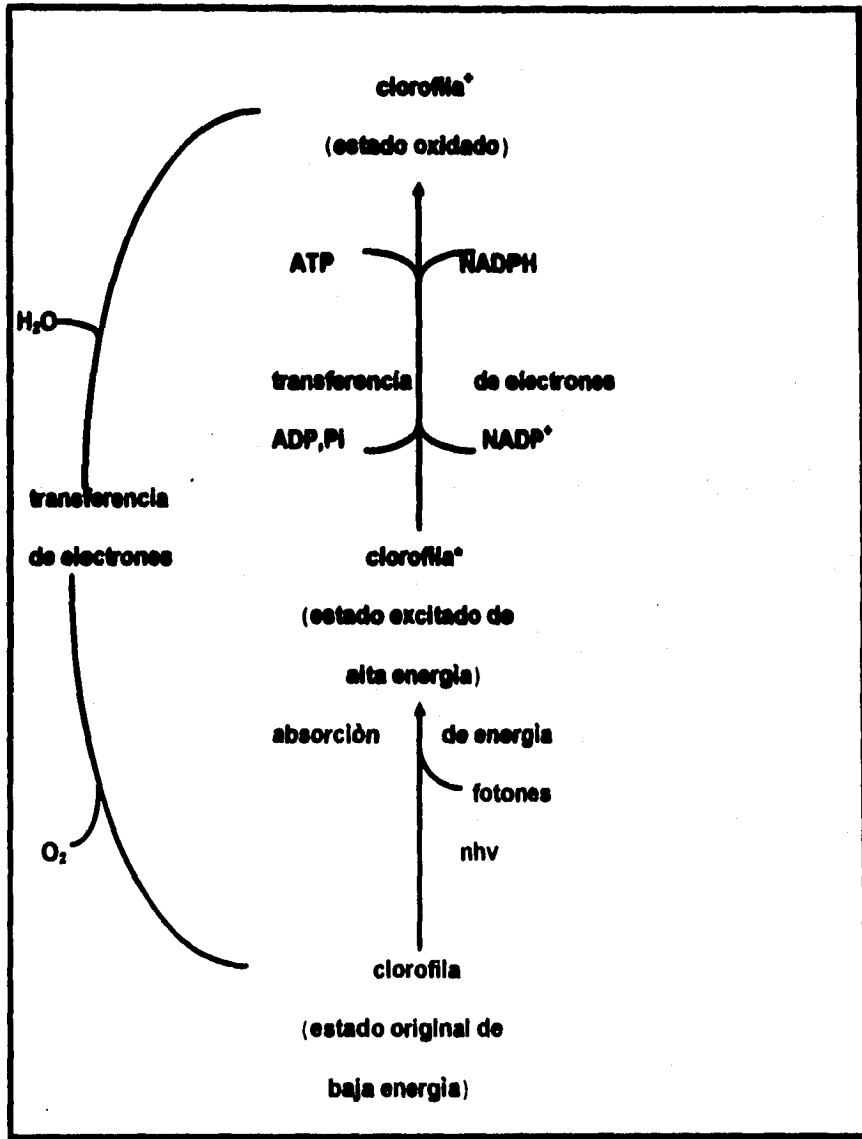
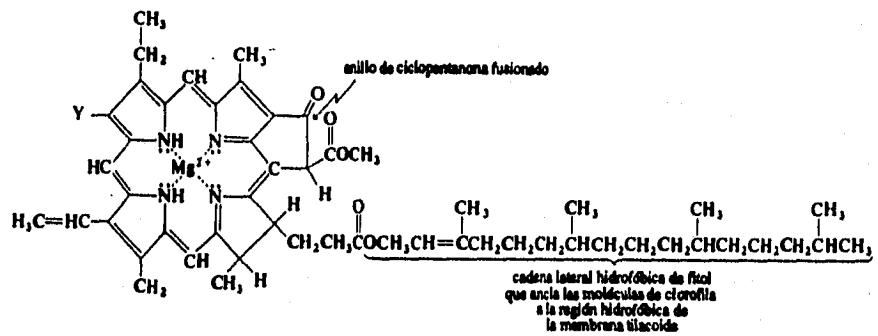


Figura 6-29 Breve resumen de la función de la clorofila en la fotosíntesis  
FUENTE: BOHINSKI, 1991



**NOTA:**

**Y= -CH<sub>3</sub> EN LA CLOROFILA A**

**Y= -CHO EN LA CLOROFILA B**

Figura 6-30 Estructura de la clorofila. Con excepción de las bacterias fotosintéticas y de unas cuantas algas, casi todas las células fotosintéticas contienen 2 formas moleculares idénticas de clorofila, una llamada clorofila a y otra clorofila b. Las plantas y algas verdes contienen ambos tipos.

FUENTE: BOHINSKI, 1991

6.6.2.1. DIAGRAMA Z

La siguiente figura presenta un resumen más detallado de la hipótesis mejor apoyada en cuanto a los fenómenos que ocurren durante la fase luminica. En ocasiones se denomina mecanismo Z.

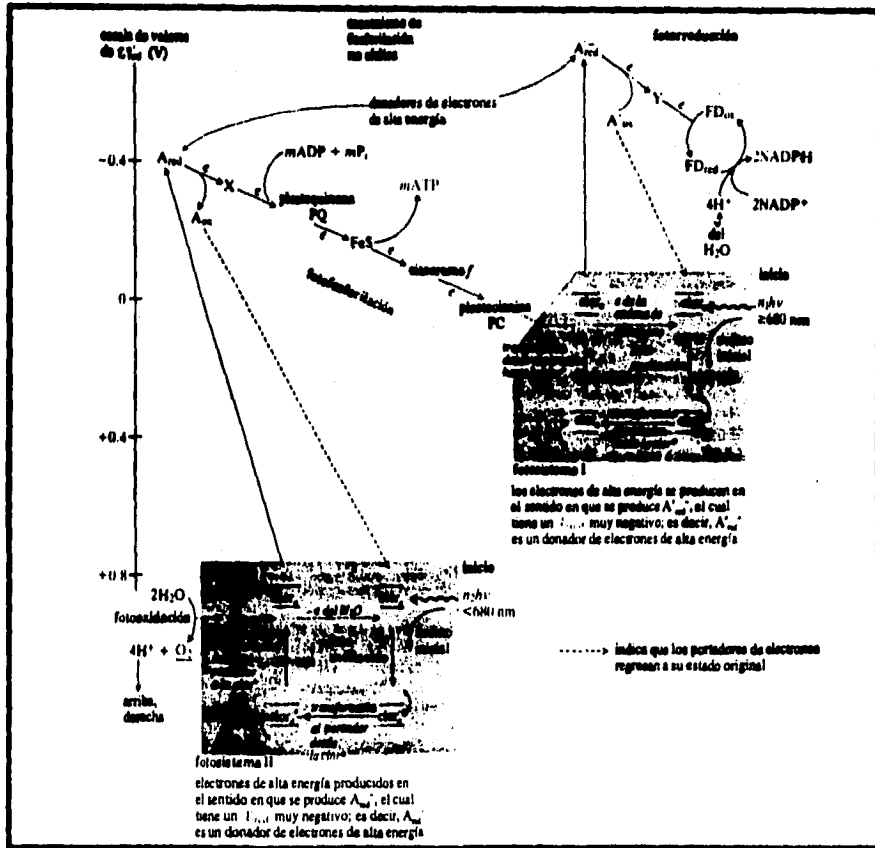
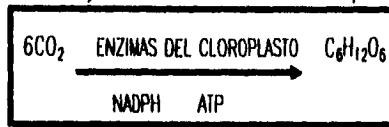


Figura 6-31 El modelo aquí representado se denomina mecanismo de fosforilación no cíclica, lo cual significa que el flujo electrónico proveniente de un fotosistema esta asociado con la formación de ATP y el flujo que surge del otro, con la producción de NADPH. En este diagrama, FD representa ferredoxina, clor es clorofila en estado basal, clor\* es una molécula de clorofila excitada; clor\* es una clorofila después de perder un electrón; X y Y representan portadores de electrones que todavía no se identifican pero que según se piensa, son proteínas FeS.

FUENTE: BOHINSKI, 1991

**6.6.3. FASE OSCURA DE LA FOTOSINTESIS**

La siguiente ecuación es un breve y conveniente enunciado de lo que sucede en la fase oscura.



Aunque se diga que la fijación de  $\text{CO}_2$  corresponde a la fase oscura, esto no significa que las reacciones no ocurran en presencia de luz, si ocurren. Cuando se suspende la iluminación, la fijación de  $\text{CO}_2$  prosigue durante un corto tiempo hasta que las concentraciones de ATP y NADPH se vuelven limitantes. (28)

**6.6.3.1. CICLO DE CALVIN**

Los pioneros en la investigación de la fijación fotosintética de  $\text{CO}_2$  fueron M. Calvin (premio Nobel, 1961), A.A. Benson y J.A. Bassham.

Sea en la luz o en la obscuridad, el flujo de carbono depende de la existencia del NADPH y el ATP provenientes de la fase luminica.

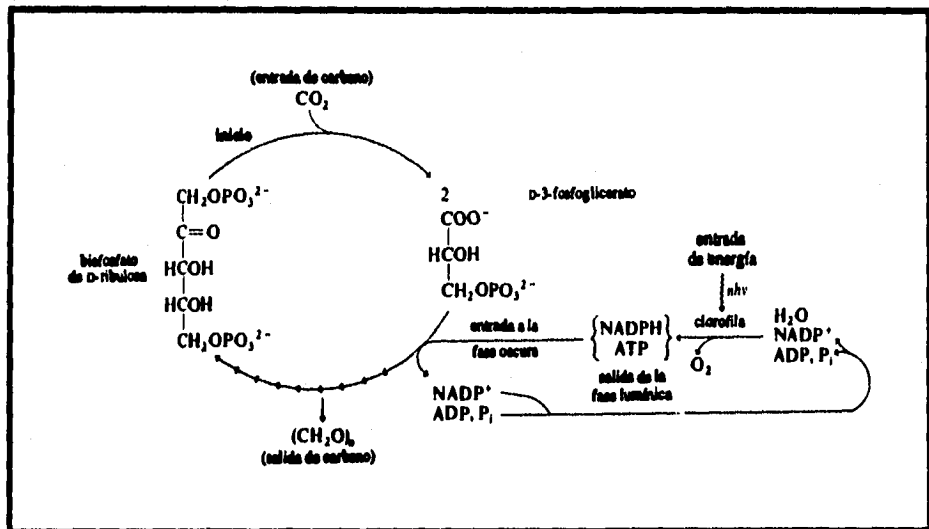


Figura 6-32 Breve resumen del Ciclo de Calvin.

FUENTE: BOHNSKI, 1991

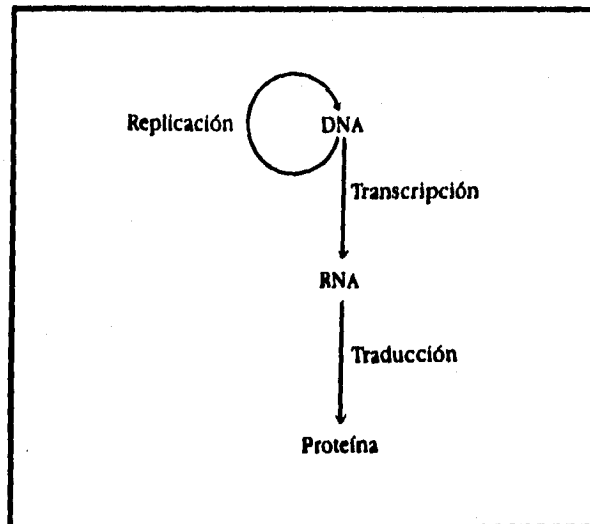


## 7.1. INTRODUCCIÓN

Las recientes investigaciones bioquímicas sobre la estructura y la función del gen han producido una revolución intelectual en biología comparable a la que dio lugar, hace más de cien años, la teoría de Darwin sobre el origen de las especies. La genética bioquímica ha aportado nuevos y penetrantes conocimientos en algunos de los problemas más fundamentales de la estructura y de la función celulares, y ha conducido, además, a un armazón conceptual más extenso de la ciencia bioquímica. (27)

El conocimiento actual de los aspectos moleculares de la genética ha surgido de la convergencia de tres disciplinas distintas: la genética, la bioquímica y la física molecular. Las contribuciones de estas tres disciplinas se resumen en el acontecimiento que marcó el inicio de la era moderna de la genética bioquímica. En 1953 James Watson y Francis Crick postularon la estructura en doble hélice del DNA. La hipótesis de Watson y Crick no sólo justificaba la estructura de la molécula de DNA, sino que indicaba, también, como aquella podía replicarse con precisión. Esta hipótesis pronto condujo al dogma central de la genética molecular (fig.7-1), que define tres etapas principales en el procesamiento de la información genética. La primera es la replicación, en la cual se copia el DNA progenitor para formar moléculas de DNA hijas, cuyas secuencias nucleotídicas son idénticas a las del DNA paterno. La segunda etapa es la transcripción, proceso mediante el cual se transcribe

parte del mensaje genético del DNA en forma de ácido ribonucleico (RNA). La tercera etapa es la traducción, en la cual el mensaje genético codificado por el RNA es descifrado en los ribosomas en el alfabeto de 20 letras de la estructura proteica. (27)



**Figura 7-1 Dogma Central de la Genética Molecular.**

FUENTE: LEHNINGER, 1991

Existen vías moleculares y principios comunes que son la base de las diversas expresiones de la vida. Organismos tan diferentes como la bacteria *Escherichia coli* y el hombre, tienen muchas características comunes a nivel molecular. Utilizan unos mismos bloques de construcción para edificar las macromoléculas. El flujo de la información genética que va desde el DNA al ácido ribonucleico (RNA) y a las proteínas es, esencialmente, idéntico en ambas especies. Ambos utilizan adenosina trifosfato (ATP) como unidad biológica de energía. (42)

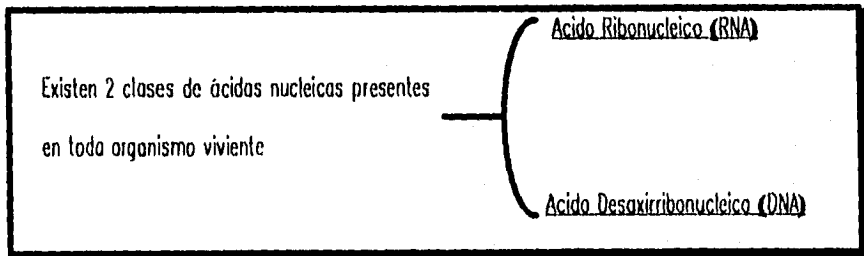
Los análisis de DNA empiezan a utilizarse en el diagnóstico de enfermedades genéticas, infecciosas o carcinomas. Cepas de bacterias, genéticamente manipuladas, conteniendo DNA recombinante, pueden producir proteínas tan valiosas como la insulina o la hormona de crecimiento. Además, la bioquímica constituye la base para el diseño racional de nuevos fármacos. También la agricultura empieza a beneficiarse de la tecnología del DNA recombinante, la cual puede producir cambios programados en la dotación genética de los organismos vivos. (42)

El rápido desarrollo de la Bioquímica en años recientes ha permitido a los investigadores resolver algunos de los más desafiantes y fundamentales problemas de la Biología y de la Medicina. ¿Cómo puede un huevo fertilizado dar lugar a células tan diferentes como las del músculo, las del cerebro o las del hígado? ¿Cómo las células se encuentran, una a otra, para formar un órgano complejo? ¿Cómo se controla el crecimiento de las células? ¿Cuál es la causa del cáncer? ¿Cuál es el mecanismo de la memoria? (42)

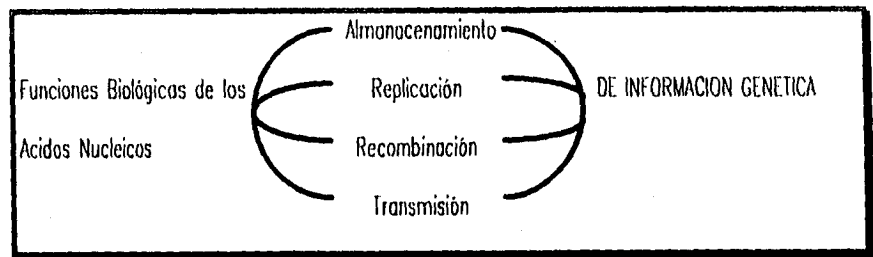
Así como las secuencias nucleotídicas de muchos genes, la síntesis de genes en el laboratorio, la unión de genes en el interior de las células de otras especies, y el empleo de estas células "productoras" para elaborar muchas proteínas nuevas, que son de utilidad desde distintos puntos de vista. Realmente ha comenzado una nueva era en la genética bioquímica, que sin duda influirá en muchos aspectos de la salud y del comportamiento humano en los años venideros. (27)



En la década de 1860, F. Miescher aisló de los núcleos celulares una sustancia ácida a la que le dió el nombre de nucleína, y más tarde, ACIDO NUCLEICO. La función biológica de este material no se descubrió sino casi un siglo después, cuando (en la década de 1940) Avery, Mac Lead y McCarty establecieron que ese material nucleico ácido y específicamente el DNA contenía la información hereditaria. Cuando Watson y Crick informaron en 1953 que habían resuelto la estructura molecular del DNA, dió comienzo una nueva era en la bioquímica y la biología. (37)



Los virus contienen un sólo tipo, sea RNA o bien DNA.



Los ácidos nucleicos son las moléculas que determinan lo que es y hace cada célula viva.

FUENTE: BOHENSKI, 1991

Tabla 7-1 Clases Y Orígenes De Los Ácidos Nucleicos.

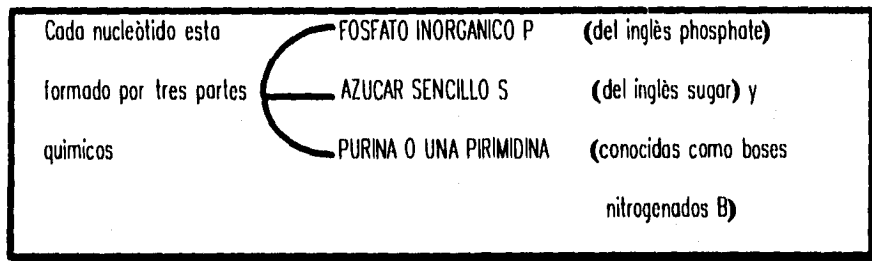
ÁCIDO NUCLEICO	ORIGEN
DNA	
DNA nuclear	Núcleo de los eucariotes.
DNA celular	Procariotes
DNA plasmidial	Procariotes
DNA mitocondrial	Mitocondria de los eucariotes
DNA de los cloroplastos	Cloroplastos
DNA viral	Virus animales, vegetales y bacterianos
RNA	
RNA mensajero	Procariotes y eucariotes
RNA ribosomal	Procariotes y eucariotes
RNA de transferencia	Procariotes y eucariotes
RNA nuclear pequeño	Eucariotes
RNA viral	Virus animales, vegetales y bacterianas
RNA subviral	Moléculas libres de RNA libres

FUENTE: BOHLENKI, 1991

## 7.2.1. NUCLEOTIDOS: COMPONENTES MONOMERICOS DE LOS ACIDOS NUCLEICOS

### 7.2.1.1. COMPOSICION DE LOS NUCLEOTIDOS

El RNA y el DNA son polimeras integrados por unidades monoméricas llamadas NUCLEOTIDOS, de ahí que a los ácidos nucleicos también se les da el nombre de POLINUCLEOTIDOS. (37)



### 7.2.1.2. ESTRUCTURA DE NUCLEOTIDOS

En la estructura de los nucleótidos las tres partes están unidas en el orden FOSFATO-AZUCAR-BASE, o bien P-S-B. En los polinucleótidos, el azúcar y el fosfato de los monómeros nucleotídicos adyacentes se unen por medio de enlaces éster. Las bases nitrogenadas no tienen más enlaces covalentes que los que los unen al azúcar del esqueleto. (37)

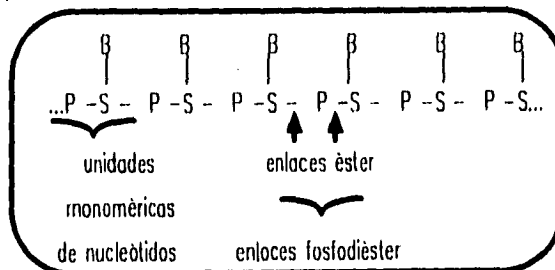
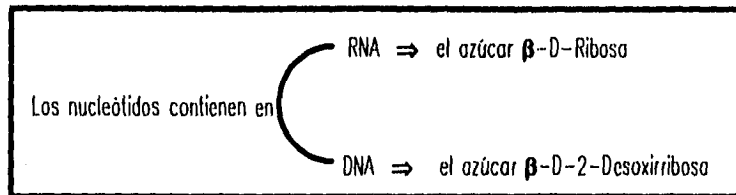


Figura 7-2 Representación simbólica de una cadena polinucleica.

FUENTE: BOHUNSKI, 1991

7.2.1.3. AZUCARES: RIBOSA EN EL RNA Y DESOXIRIBOSA EN EL DNA



Ambas son pentosas y su forma más estable es un sistema anular de furanosa.

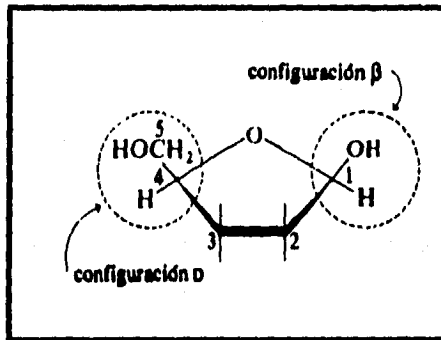


Figura 7-3 Fundamentos de las denominaciones  $\beta$  y D en el sistema del anillo de furanosa.

FUENTE: BOHINSKI, 1991

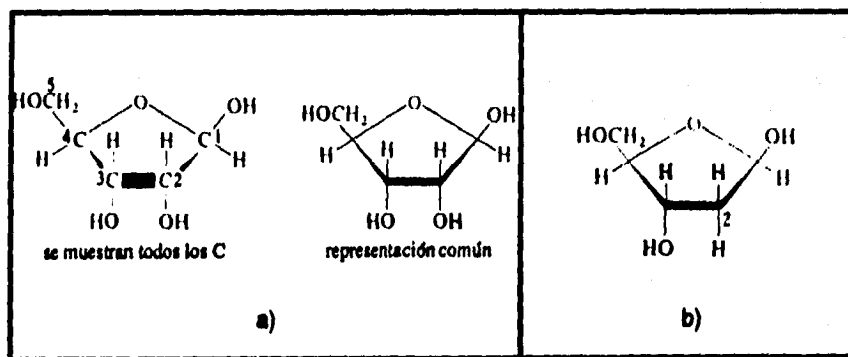


Figura 7-4 Pentosas. a)  $\beta$ -D-Ribosa del RNA. b)  $\beta$ -D-2-Desoxirribosa del DNA.

FUENTE: BOHINSKI, 1991

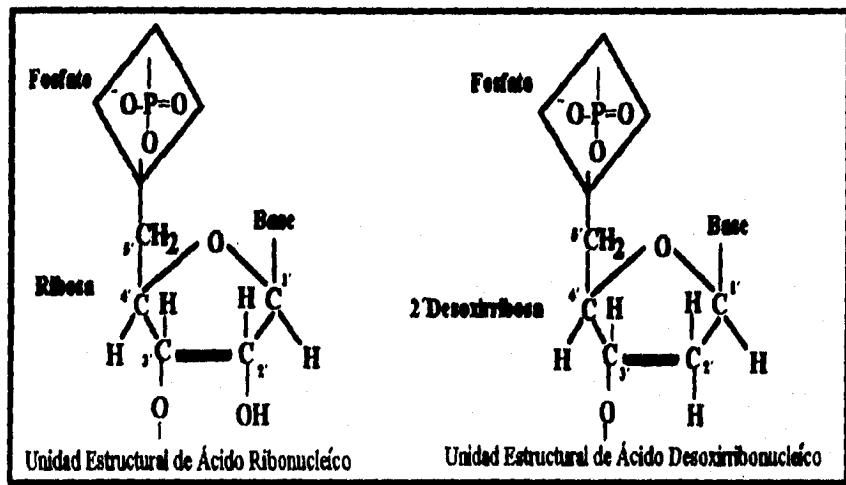


Figura 7-5 Esta figura muestra la unión del azúcar con el fosfato y la base nitrogenada para formar el ácido nucleico correspondiente.

FUENTE: MATHEWS, 1990

### 7.2.2. BASES NITROGENADAS. PURINAS Y PIRIMIDINAS

Las bases que se encuentran en el RNA y DNA; son las siguientes:

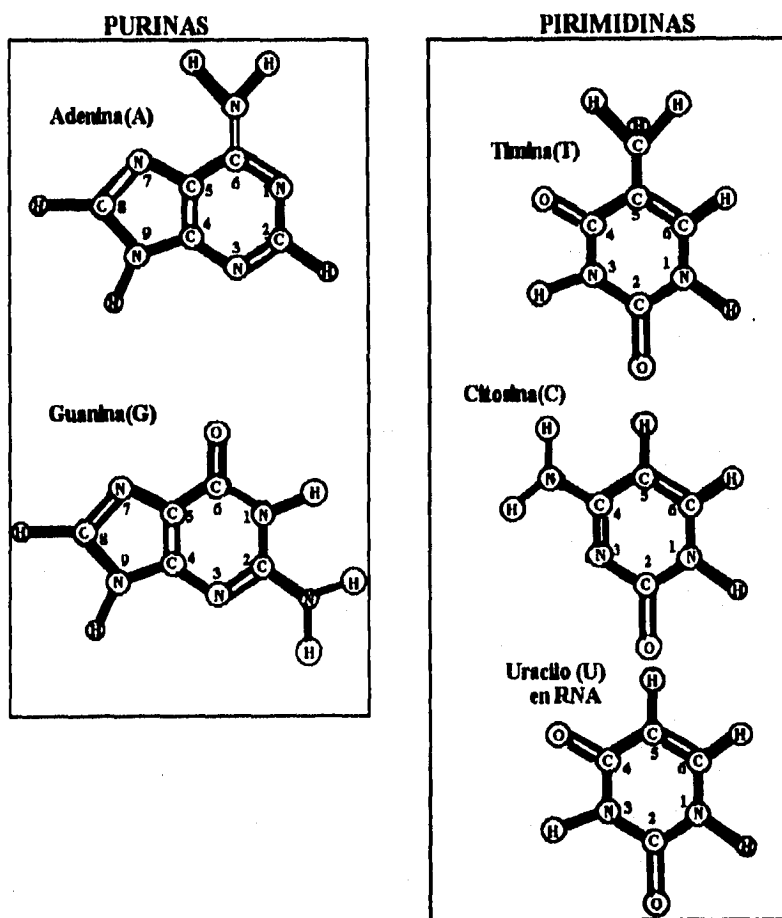


Figura 7-6 Estructuras de las principales purinas y pirimidinas de los ácidos nucleicos.  
FUENTE. MATHEWS, 1990

La mayor diferencia entre estos dos tipos de ácidos nucleicos es que el RNA contiene uracilo (U), mientras que la molécula de DNA presenta timina (T)

La presencia de las bases nitrogenadas en los ácidos nucleicos es como sigue:

En el DNA: Adenina (A), Guanina (G), Citosina (C), Timina (T)

En el RNA: Adenina (A), Guanina (G), Citosina (C), Uracilo (U)

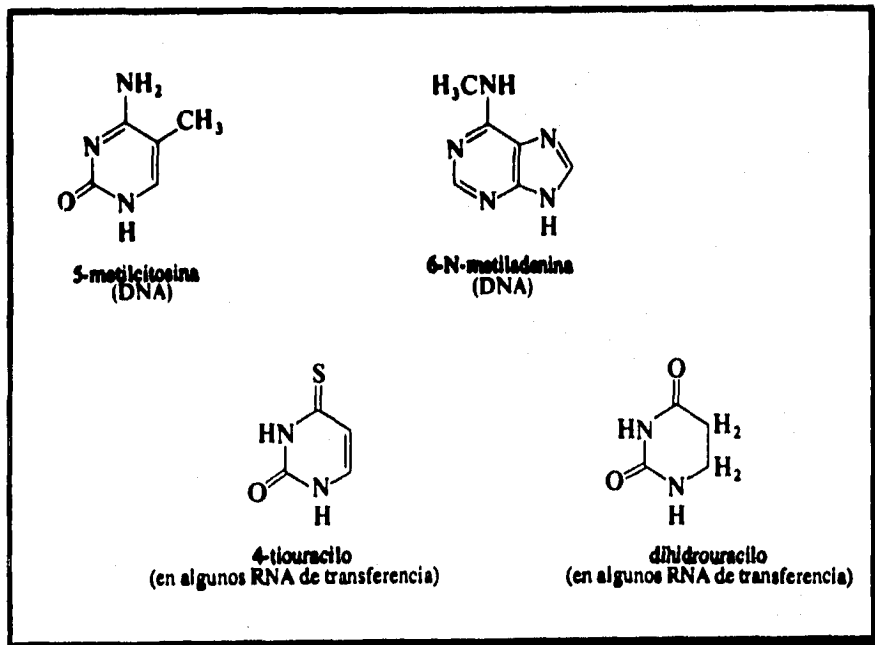


Figura 7-7 Algunas bases modificadas que se observan en el RNA y DNA.

FUENTE: STRYER, 1994

### 7.2.3. NUCLEOSIDOS

Es la porción del nucleótido integrada por azúcar-base nitrogenada, por lo que un nucleótido es un nucleósido en cuya unidad de azúcar hay un grupo fosfato unido por un enlace éster. (4)

#### 7.2.3.1. ESTRUCTURA DE LOS NUCLEOSIDOS

Por lo común, el enlace covalente se forma entre el átomo C1 del azúcar y el átomo N1 de una pirimidina o el N9 de una purina. (4)

Conforme a la nomenclatura de los carbohidratos, la unión se denomina enlace glucosídico. (42)

**Tabla 7-2 Nombres Vulgares Aceptados De Los Ribonucleósidos Y Desoxirribonucleósidos Comunes.**

RIBONUCLEOSIDOS	DESOXIRIBONUCLEOSIDOS
Adenosina	Desoxiadenosina
Guanosina	Desoxiguanosina
Uridina	Desoxicitidina
Citidina	Desoxitimidina

FUENTE: BOHNSKI, 1991



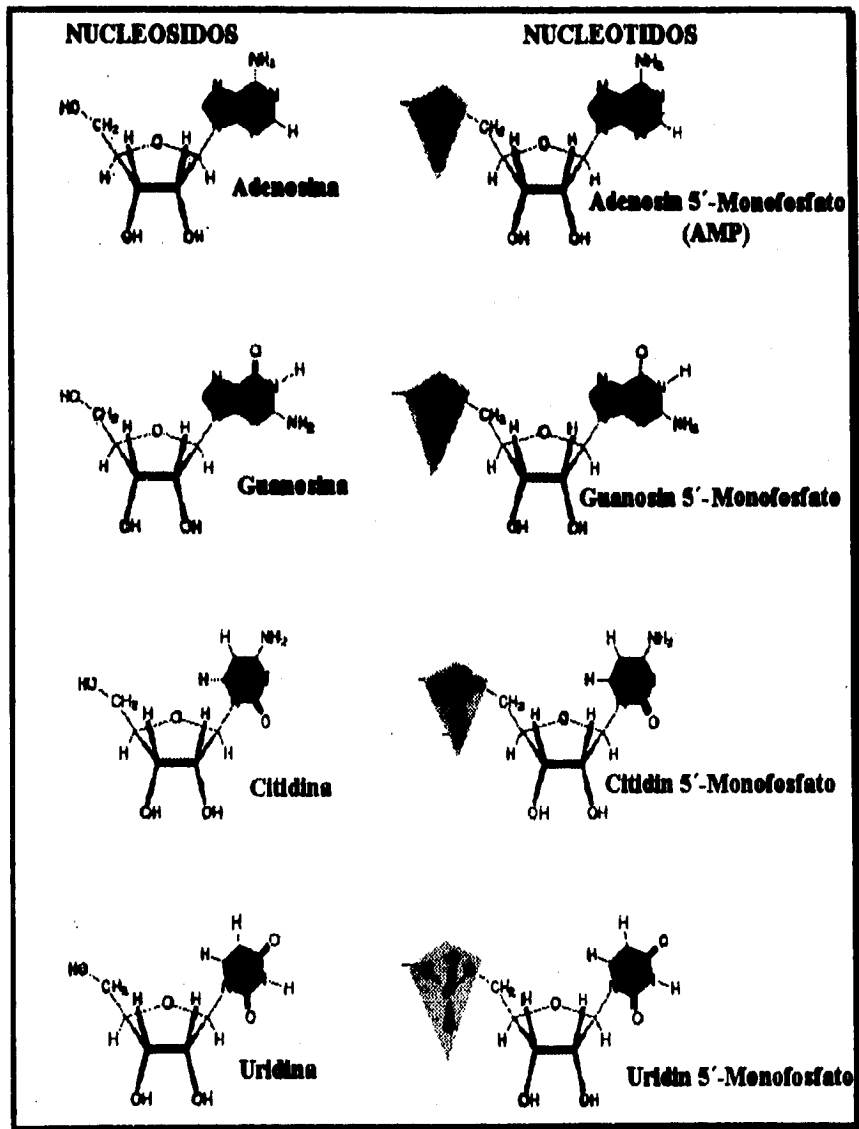


Figura 7-8 Comparación esquemática entre los nucleósidos y nucleótidos..

FUENTE: MATHEWS, 1990

**7.2.4. ENLACE 3' ⇒ 5' FOSFODIÉSTER**

**7.2.4.1. ESQUELETO COVALENTE DE LAS CADENAS POLINUCLEOTÍDICAS**

Los polipéptidos se componen de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Los polinucleótidos consisten en nucleótidos ligados por enlaces fosfodiéster. Como el grupo fosfato incluye dos enlaces éster en los que participan de modo específico los carbonos 3' y 5' del azúcar de nucleótidos sucesivos, el enlace recibe el nombre de enlace fosfodiéster 3'⇒5'. (11)(37)

Dicho enlace es:

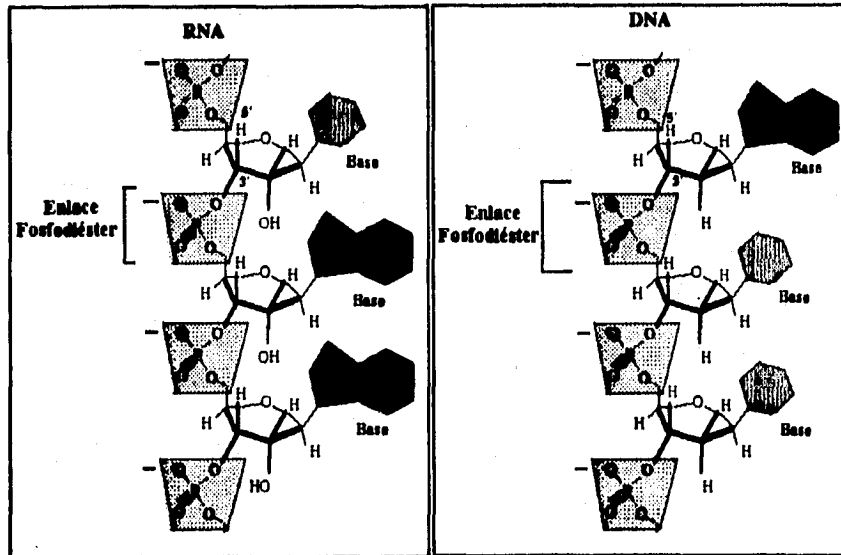
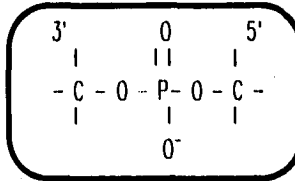
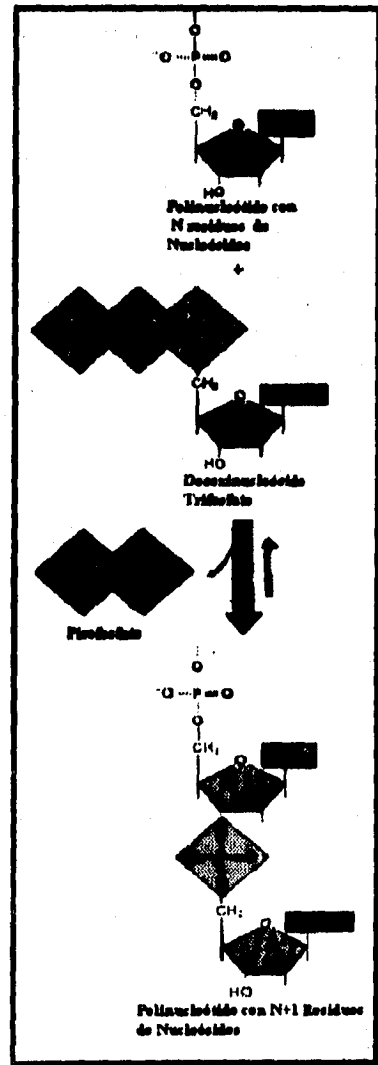
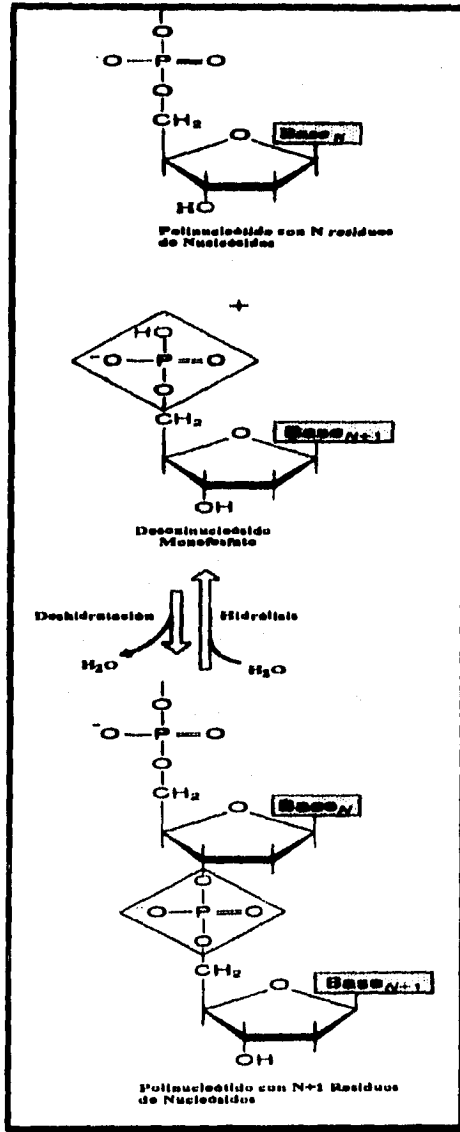


Figura 7-9 Estructuras del esqueleto covalente del DNA y del RNA, que muestran como los puentes fosfodiéster unen las sucesivas unidades nucleotídicas.

FUENTE: MATHEWS, 1990



a) b)  
 Figura 7-10 Formación del enlace fosfodiéster. a) Reacción de deshidratación para adicionar un nucleótido a un residuo de una cadena de ácido nucleico. b) Forma en que son adicionados nucleósidos con tres fosfatos a la cadena de ácido nucleico.  
 FUENTE: MATHEWS, 1990

### 7.2.4.2. HIDROLISIS DEL ENLACE FOSFODIESTER

Los enlaces internucleotídicos presentes en el DNA y en el RNA pueden ser escindidos químicamente por hidrólisis, y también pueden ser hidrolizados enzimáticamente por acción de las nucleasas (también llamadas fosfodiesterasas), enzimas que catalizan la hidrólisis de los enlaces fosfodiéster de los ácidos nucleicos. (27)

**Tabla 7-3 Las Nucleasas Se Nombran De Acuerdo Al Sitio Donde Hidrolicen Las Cadenas Del DNA o Del RNA.**

NOMBRE DE LA NUCLEASA	SITIO DE ROMPIMIENTO
Endonucleasas	Pueden hidrolizar enlaces entre dos nucleótidos adyacentes situados en el interior de las cadenas del DNA o del RNA.
Exonucleasas	Sólo pueden hidrolizar el enlace nucleotídico <u>terminal</u> ; algunas actúan en el extremo 5' y otras en el extremo 3'.
Desoxirribonucleasas	Específicas para la hidrólisis de algunos enlaces internucleotídicos de los DNAs.
Ribonucleasas	Específicas para los RNAs.
Endonucleasas Restrictivas o simplemente Enzimas Restrictivas	Con acción sobre secuencias determinadas del DNA, y sólo en un enlace específico a dicha secuencia. Estos enzimas, sólo existen en los procariontes. Su acción sobre un sitio específico se utiliza en el laboratorio para romper una molécula de DNA en puntos muy precisos y así obtener un conjunto específico de fragmentos de DNA, según el número de veces que se presenta el sitio de restricción a lo largo de la molécula de DNA.

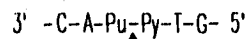
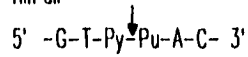
FUENTE: LEHNINGER, 1991

Se han aislado muchas nucleasas a partir de diversas fuentes; en la tabla 7-4 se presentan varios ejemplos.

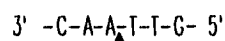
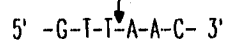
**Tabla 7-4 Especificidad De Algunas Endonucleasas De Restricción.**

Orígan en extremos nivelados.

Hin dII



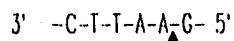
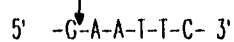
Hpa I



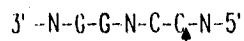
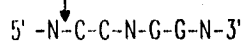
Orígan en extremos

escalonados

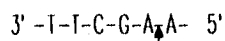
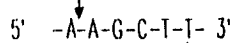
Eco RI



Eco RI



Eco dIII



Organismo progenitor:

*Hemophilus influenzae* para Hin dII y dIII, *E. coli* para Eco RI y RI, y *Hemophilus parainfluenzae* para Hpa I. Pu=purina, Py=pirimidina, y N= A o T.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

## 7.3. DNA

### 7.3.1. ANTECEDENTES

#### 7.3.1.1. ESTRUCTURA DEL MATERIAL GENETICO

En la fase de reposo, el material cromosómico de las células eucarióticas, que no se dividen, llamado cromatina, es amorfo y se encuentra disperso al azar por todo el núcleo. Sin embargo, cuando las células se preparan para su división, la cromatina se condensa y se agrupa en un número de cromosomas bien definidos, que es específico para cada especie. (27)

La cromatina ha sido aislada y analizada. Consta de fibras muy delgadas que contienen, aproximadamente, un 60% de proteína, un 35% de DNA y quizás un 5% de RNA. Dentro del cromosoma, las fibras de cromatina están plegadas y curvadas formando muchos haces. En la cromatina el DNA se encuentra estrechamente asociado con unas proteínas llamadas HISTONAS, cuya función consiste en empaquetar y ordenar al DNA en unidades estructurales denominadas nucleosomas, que ayudan a lograr una reducción neto de la longitud de las hebras del DNA, por su enrollamiento alrededor de estas proteínas (fig.7-11 y7-12). En la cromatina también existen algunas proteínas que no son histonas. Por el contrario, los cromosomas bacterianos carecen de histonas, pero poseen pequeñas cantidades de proteínas que facilitan el plegamiento y la condensación de su DNA. (27)

En todas las células eucarióticas existen cinco clases principales de histonas, que difieren en su peso molecular y en su composición aminoácida. (tabla 7-5). (27)

Tabla 7-5 Histonas

Histona	PM	Residuos de lisina (%)	Residuos de arginina (%)
H1	21000	29	1,5
H2A	14500	11	9,5
H2B	13700	16	6,5
H3	15300	10	13,5
H4	11300	11	14

FUENTE: LEININGER, 1991

Las histonas son muy ricas en los aminoácidos básicos arginina y lisina que, en conjunto constituyen, aproximadamente, la cuarta parte del número total de restos aminoácidos. Puesto que a pH 7 los grupos R de estos dos aminoácidos están protonizados, las histonas se combinan con el DNA duplohelicoidal cargado negativamente, dando lugar a complejos DNA-Histona, que se mantienen unidos por atracciones electrostáticas. (11)(27)(37)

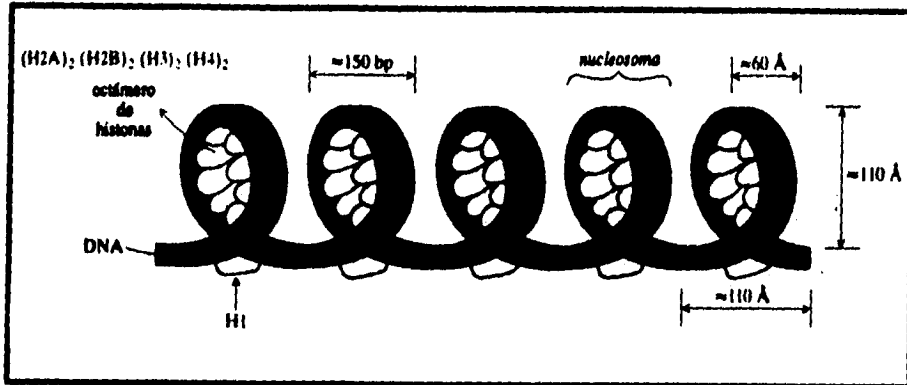


Figura 7-11 Interacciones entre las histonas y el DNA en los eucariotes.

FUENTE: BOHNSKI, 1991

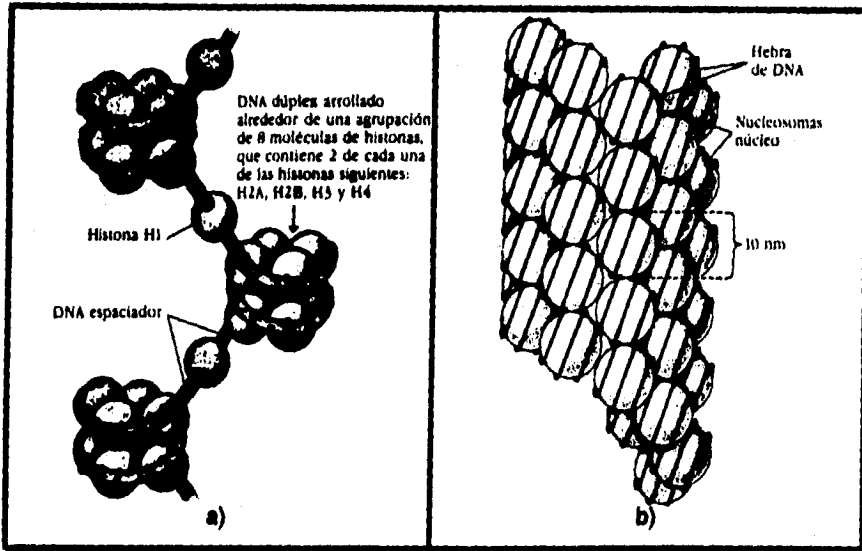


Figura 7-12 Nucleosomas. a) Representación esquemática de un segmento extendido de una fibra de cromatina, que muestra la estructura de los nucleosomas. b) Representación esquemática que pone de manifiesto que los nucleosomas y los espaciadores están arrollados formando una ordenación estrechamente empaquetada.

FUENTE: LEHNINGER, 1991



### 7.3.1.2. EL DNA ALMACENA LA INFORMACION GENETICA

Aunque Miescher y otros muchos que le sucedieron sospecharon que la nucleína o el ácido nucleico tenía alguna relación con la herencia celular, la primera evidencia directa de que el DNA era el portador de la información genética tuvo lugar en 1943, merced al descubrimiento efectuado por Oswald T. Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty en el Instituto Rockefeller. Estos investigadores encontraron que el DNA extraído de una cepa virulenta (productora de enfermedad) de la bacteria *Streptococcus pneumoniae*, transformaba de modo permanente a una cepa no virulenta de este organismo en una forma virulenta (fig. 7-13).

Avery y sus colaboradores llegaron a la conclusión de que el DNA extraído de la cepa virulenta era el portador del mensaje genético heredable responsable de la virulencia, y que éste quedaba incorporado de modo permanente en el DNA de la células no virulentas receptoras. (27)(30)(47)

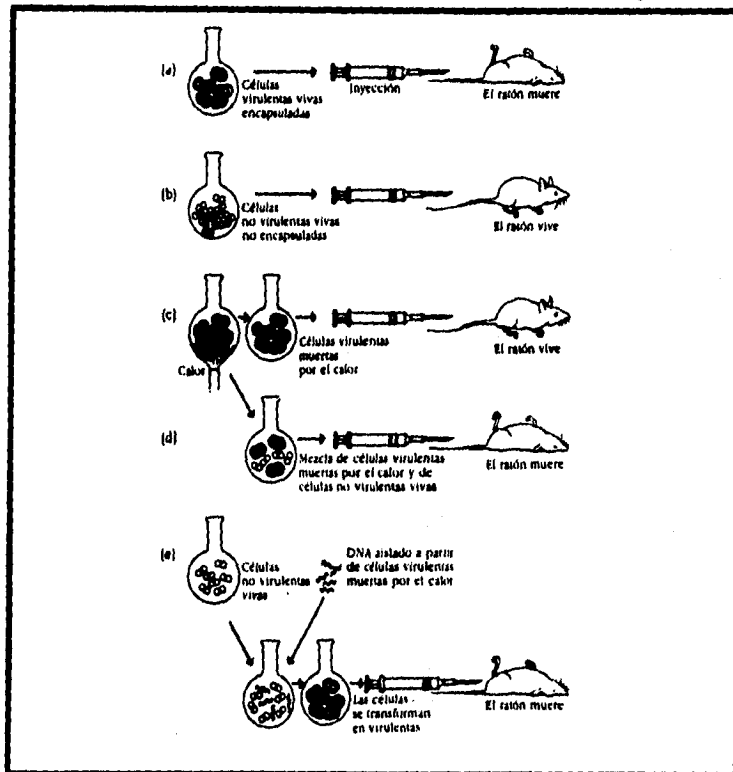


Figura 7-13 El experimento de Avery-MacLeod-McCarty. a) La cepa encapsulada de neumococos es letal, b) la cepa no encapsulada es inocua, c) al igual que la cepa encapsulada muerta por el calor. Investigaciones anteriores realizadas por el bacteriólogo Frederick Griffith habían demostrado, d) que la adición de células virulentas muertas por el calor, que por sí mismas eran inocuas cuando se inyectaban a los ratones, a neumococos vivos no virulentos, los transformaba, de modo permanente, en células virulentas encapsuladas. Por lo que dedujo que en las células virulentas muertas por el calor estaba presente un factor transformante, que era capaz de penetrar en las células vivas no virulentas y convertirlas en células virulentas encapsuladas. Avery y sus colaboradores identificaron al factor transformante de Griffith como DNA. e) Estos autores extrajeron el DNA de los neumococos virulentos muertos por el calor, eliminaron al máximo la proteína del DNA, y adicionaron este DNA a las células no virulentas. Los neumococos no virulentos se convirtieron en una cepa virulenta. Evidentemente, el DNA había penetrado en las células no virulentas, y los genes responsables de la virulencia y de la formación de la cápsula se habían incorporado en los cromosomas de las células no virulentas.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

Al principio no todos aceptaron estas conclusiones. Algunos sugirieron que el verdadero portador de la información genética en los experimentos de Avery podía ser alguna traza proteica que impurificaba la muestra de DNA. Esta posibilidad pronto fue descartada.

Más tarde, un segundo experimento importante realizado en 1952 por Alfred D. Hershey y Martha Chase proporcionó evidencia independiente de que el DNA era el portador de la información genética, por medio de experimentos con marcadores isotópicos (fig.7-14). (27)(30)

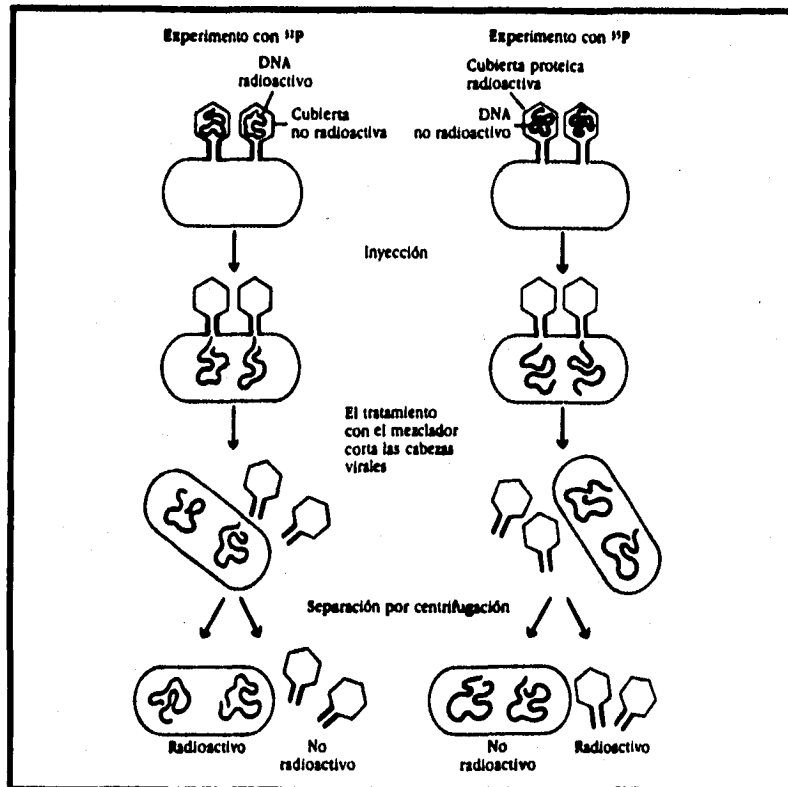


Figura 7-14 Resumen del experimento de Hershey-Chase. Se prepararon dos grupos de partículas fágicas marcadas isotópicamente. Uno de ellos se marcó con  $^{32}\text{P}$  en los grupos fosfato del DNA del fago, y el otro con  $^{35}\text{S}$  en los aminoácidos azufrados presentes en la cubierta proteica del fago. Después se adicionaron las dos clases de fagos marcados a suspensiones de bacterias no marcadas, y los dos grupos de células infectadas con fagos se agitaron en un mezclador. Se encontró que las células infectadas con las partículas virales marcadas con  $^{32}\text{P}$  contenían  $^{32}\text{P}$ , lo que indicaba que el DNA viral marcado había sido inyectado en el interior de la célula. Los fantasmas virales (cubiertas proteicas vacías) separados carecían de radioactividad. Por otra parte se encontró que las células infectadas con las partículas virales marcadas con  $^{35}\text{S}$  no tenían radioactividad después de ser agitadas con el mezclador, mientras que los fantasmas tenían el  $^{35}\text{S}$ . Puesto que en ambos casos apareció una progenie de partículas virales, el mensaje genético para su replicación era proporcionado por el DNA viral y no por la proteína viral.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

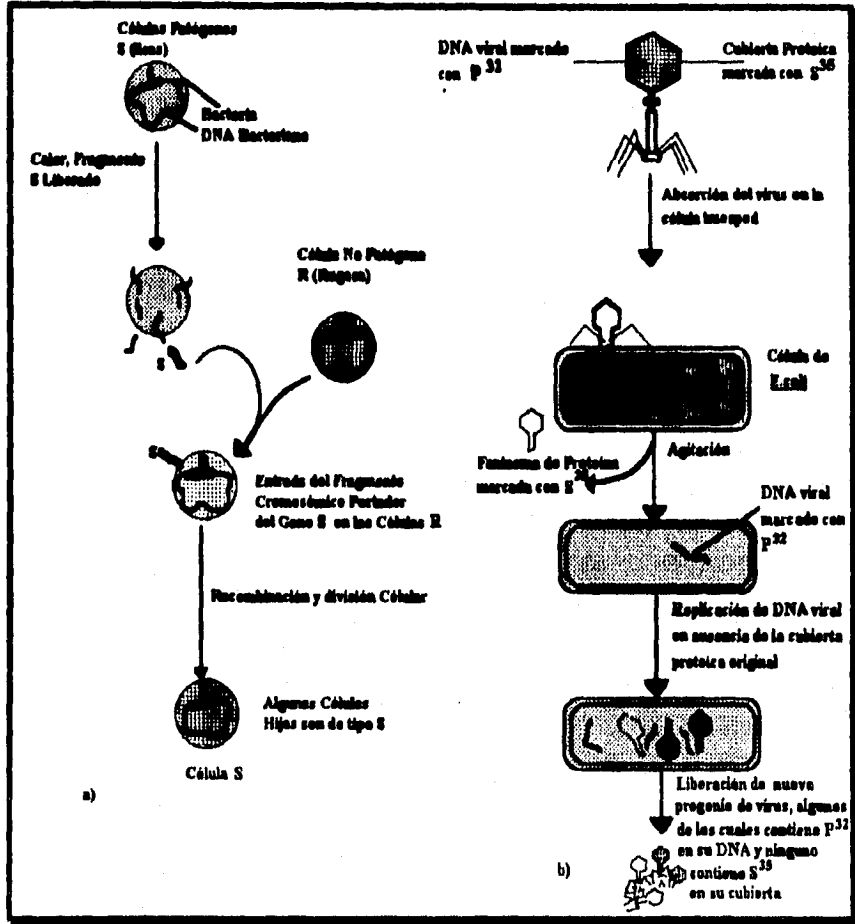


Figura 7-15 Experimentos importantes que demostraron que el DNA es el material cromosómico portador de la información genética de las células vivientes.. a) Los experimentos de Avery et al. mostraron que neumococos no patógenos pueden convertirse en patógenos por transferencia de DNA de muestras patógenas. b) Los experimentos de Hershey y Chase muestran que la transferencia de DNA de bacteriófagos hacia bacterias dan como resultado un nuevo bacteriófago.

FUENTE: MATHEWS, 1990

Estos importantes experimentos iniciales y otras muchas clases de evidencia, descubiertas posteriormente, han permitido que hoy en día se sepa con seguridad que el DNA es el material cromosómico portador de la información genética de las células vivientes. (38)

Tabla 7-6 Resultados Y Observaciones De Erwin Chargaff Con DNA De Diferentes Organismos.

## Equivalencias de bases en los DNAs.

Observése que la composición en bases en los humanos y en la bacteria *S. aureus* es casi la misma. Aunque cada especie tiene una composición en bases determinada, no hay variaciones muy importantes de una especie a otra.

ORGANISMO	Composición en bases en moles por ciento				Relación en bases		
	A	G	C	T	A/T	G/C	PURINA PIRIMIDINAS
<i>Homo sapiens</i>	30,9	19,9	19,8	29,4	1,05	1,00	1,04
Oveja	29,3	21,4	21,0	28,3	1,03	1,02	1,03
Gallina	28,8	20,5	21,5	29,3	1,02	0,95	0,97
Tartuga	29,7	22,0	21,3	27,9	1,05	1,03	1,00
Salmón	29,7	20,8	20,4	29,1	1,02	1,02	1,02
Eriza de mar	32,8	17,7	17,3	32,1	1,02	1,02	1,02
Lagosta	29,3	20,5	20,7	29,3	1,00	1,00	1,00
Germen de trigo	27,3	22,7	22,8	27,1	1,01	1,00	1,00
Levadura	31,3	18,7	17,1	32,9	0,95	1,09	1,00
<i>E. coli</i>	24,7	26,0	25,7	23,6	1,04	1,01	1,03
<i>Staphylococcus aureus</i>	30,8	21,0	19,0	29,2	1,05	1,11	1,07

FUENTE: LEHNINGER, 1991

Estos datos, obtenidos a partir de DNAs de una gran variedad de especies diferentes, condujeron a Chargaff y a investigadores posteriores a las siguientes conclusiones:

1. Las muestras de DNA aisladas de distintos tejidos de una misma especie tienen la misma composición en bases. 2. La composición en bases del DNA varía de una especie a otra. 3. La composición en bases del DNA de una determinada especie no se modifica con la edad del organismo, con su estado de nutrición, ni con las variaciones de su entorno. 4. En todos los DNAs, independientemente de la especie, el número de restos de adenina es igual al número de restos de timina ( $A=T$ ), y el número de restos de guanina es siempre igual al número de restos de citosina ( $G=C$ ). De estas relaciones se deduce que la suma de restos purínicos es igual a la suma de restos pirimidínicos, es decir,  $A+G=T+C$ . (27)

### 7.3.2. MODELO DE LA DOBLE HELICE DEL DNA DE WATSON Y CRICK

En 1953, James Watson y Francis Crick dedujeron la estructura tridimensional del DNA e inmediatamente interpretaron su mecanismo de replicación. Este descubrimiento condujo a comprender la función del gen en términos moleculares. Propusieron un modelo estructural que ha demostrado ser esencialmente correcto. Las características de su modelo de DNA son:

1. Hay dos cadenas helicoidales de polinucleótidos enrolladas a lo largo de un eje común. Las cadenas corren en direcciones opuestas (antiparalelas).
2. Las bases de purina y pirimidina están en el interior de la hélice, mientras que las unidades de fosfato y desoxirribosa están en el exterior (fig. 7-19, 7-20 y 7-21). Los planos que contienen las bases son perpendiculares al eje de la hélice. Los planos que contienen los azúcares están formando ángulos casi rectos con los de las bases.
3. El diámetro de la hélice es de 20 Å. Las bases adyacentes están separadas 3,4 Å a lo largo del eje de la hélice y desplazadas por una rotación de 36 grados. Por lo tanto, la estructura helicoidal se repite en cada cadena después de diez residuos; esto es, a intervalos de 34 Å.
4. Las dos cadenas permanecen unidas por puentes de hidrógeno entre las pares de bases. La adenina está emparejada con la timina. La guanina está emparejada con la citosina.

(figs. 7-16 y 7-17).

5. La secuencia de bases a lo largo de la cadena de polinucleótidos no está restringida en modo alguno. *La secuencia precisa de bases transporta la información genética*

El aspecto más importante de la doble hélice del DNA es la especificidad del emparejamiento de las bases. Watson y Crick dedujeron que la adenina debía emparejarse con la timina y la guanina con la citosina, debido a factores estéricos y otras relacionadas con la formación de puentes de hidrógeno. (14)(27)(38)

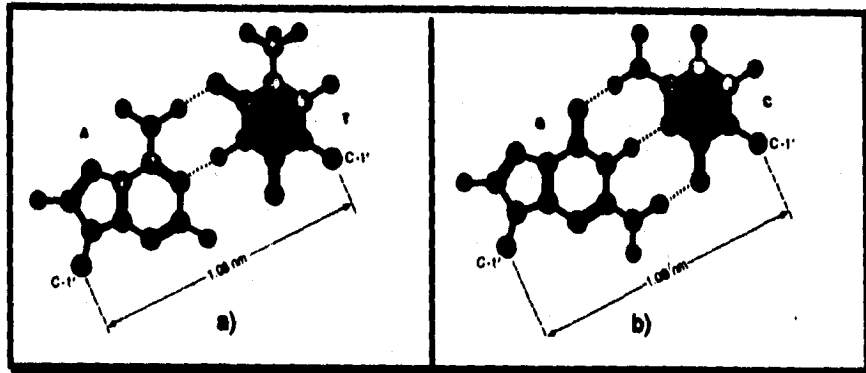


Figura 7-16 Pares de bases complementarias purínicas y pirimídicas del DNA. a) Pares de adenina y timina. b) Pares de guanina y citosina.

FUENTE: MATHEWS, 1950

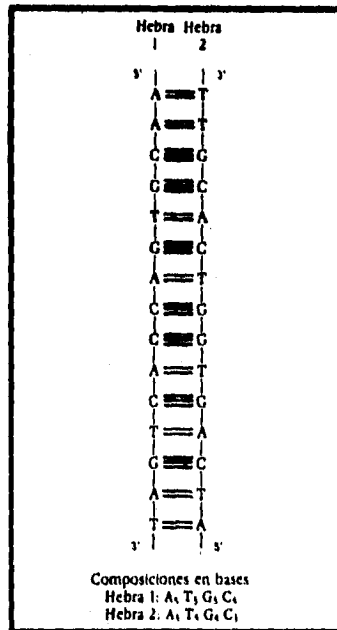


Figura 7-17 Representación esquemática de las hebras antiparalelas complementarias del DNA, propuestas por Watson y Crick. Obsérvese que las hebras antiparalelas de bases apareadas difieren en su composición en bases y también en su secuencia cuando cada cadena se lee en la dirección 5'⇒3'. En la figura también se pone de manifiesto la equivalencia de bases A=T y G=C.

FUENTE: LEHNINGER, 1991



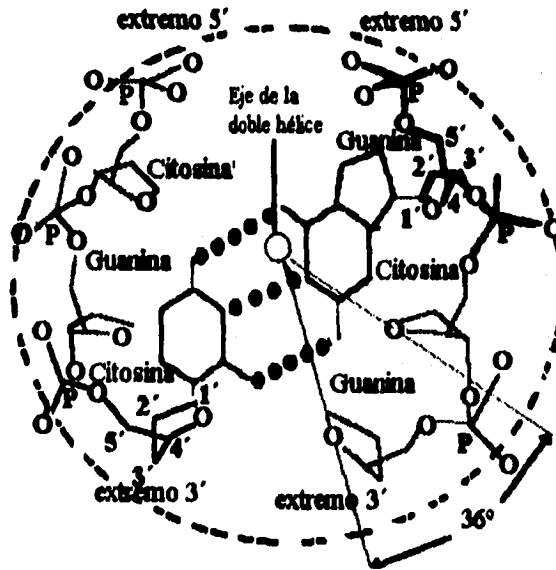


Figura 7-18 Vista superior de la doble hélice mostrando los pares de bases.  
FUENTE: MATHEWS, 1990

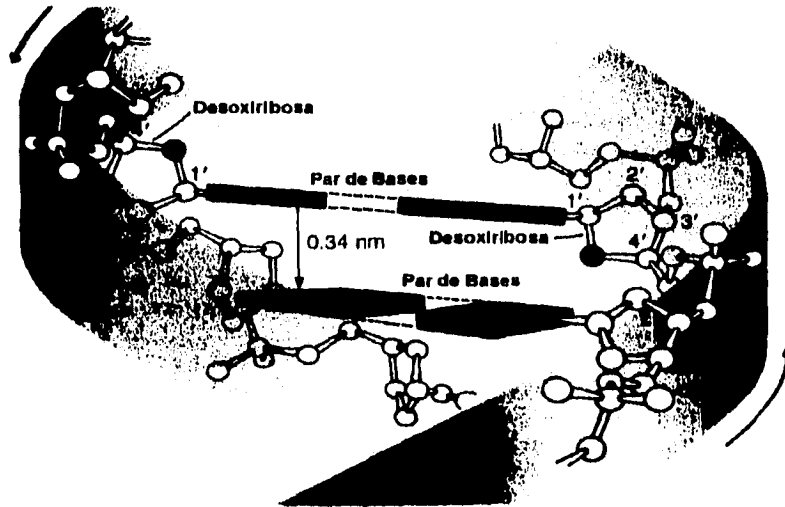


Figura 7-19 Vista lateral de la doble hélice.  
FUENTE: MATHEWS, 1990

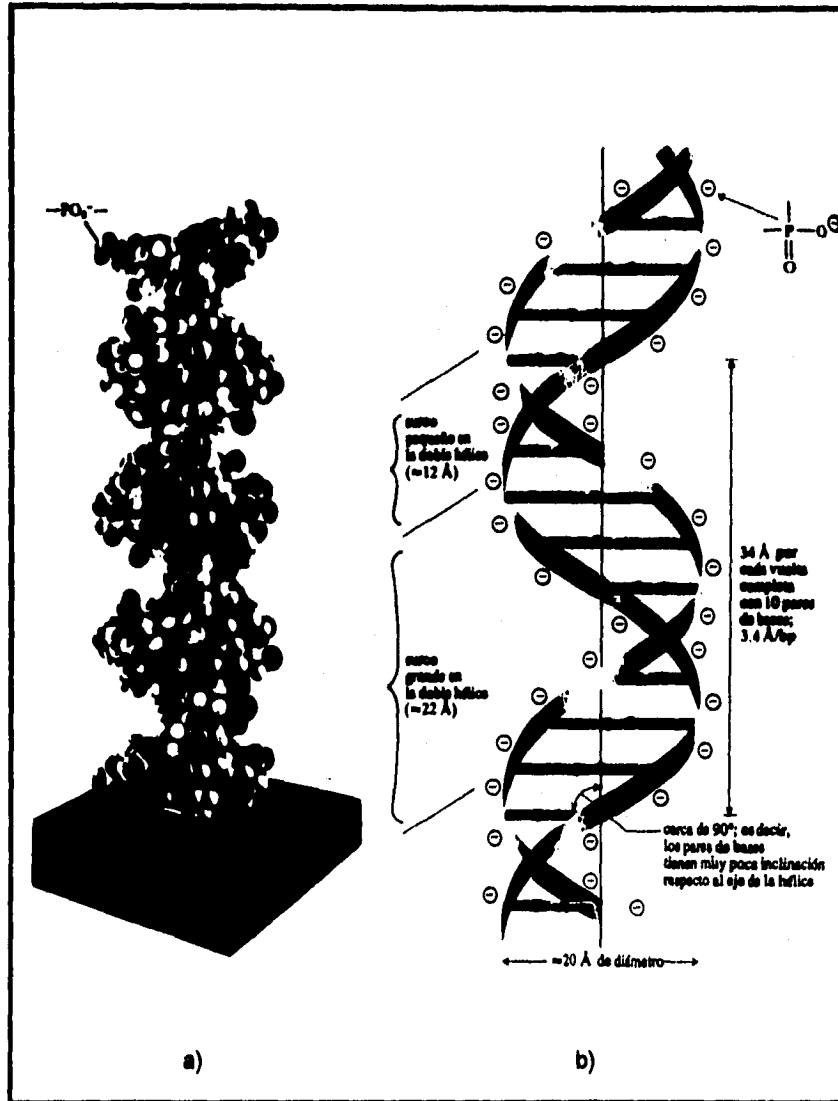


Figura 7-20 Dimensiones y estructura tridimensional de la forma B del DNA. a) Modelo espacial que representa el núcleo hidrofóbico y la superficie hidrofílica. El modelo muestra dos vueltas completas de la doble hélice. b) Surcos y dimensiones moleculares.

FUENTE: BOJINSKI, 1991

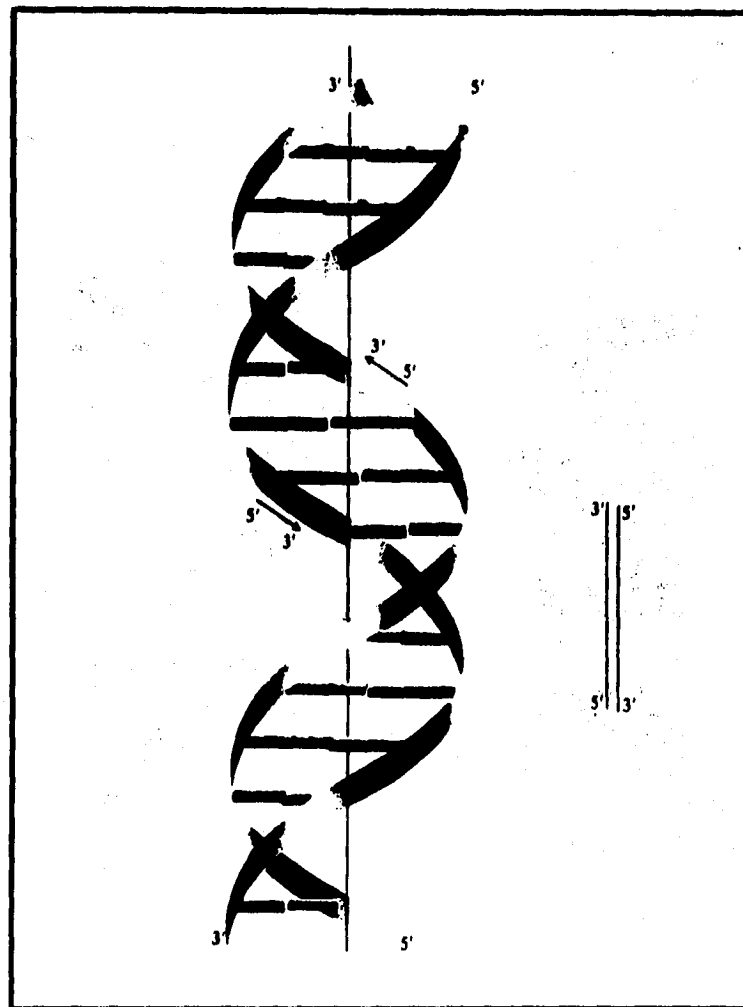


Figura 7-21 Doble hélice de DNA. Representación esquemática según Watson y Crick. Los dos listones simbolizan las dos cadenas de azúcar-fosfato, mientras que las barras horizontales simbolizan los pares de bases nitrogenadas, unidas por puentes de hidrógeno, que mantienen unida la doble hélice. La línea vertical señala el eje central.

FUENTE: BOHINSKI, 1991

### 7.3.3. DESNATURALIZACIÓN DE DNA

Las disoluciones de DNA cuidadosamente aislado son muy viscosas a pH=7,0 y temperatura ambiente (20 a 25°C). Cuando tales disoluciones se someten a pHs extremos o temperaturas superiores a las 80-90°C su viscosidad disminuye bruscamente, lo que indica que el DNA experimenta un cambio físico. Estos cambios en las condiciones de temperatura y pH, inducen la desnaturalización o el desenrollado del DNA duplohelicoidal, al romper los enlaces de hidrógeno entre las bases apareadas.

El desenrollamiento de la doble hélice se llama fusión porque ocurre bruscamente a una temperatura determinada.

Temperatura de fusión. ( $T_m$  "melting": fusión): Es aquella temperatura en la cual se deshace la mitad de la estructura helicoidal. La fusión del DNA se puede seguir midiendo con la absorbancia a 260nm. La liberación de las parejas de bases, se traduce en un incremento de la absorbancia, efecto denominado hipercrómico.

La temperatura de fusión de una molécula de DNA depende notablemente de su composición de bases. Las moléculas ricas en parejas de bases "GC" tienen temperaturas de fusión más elevadas que las que tienen abundancia de parejas "AT".

Cuando la temperatura o el pH vuelven a estar de nuevo en el intervalo biológico, los segmentos desplegados volverán a enrollarse o a templarse espontáneamente para originar el dúplex intacto.

(27)

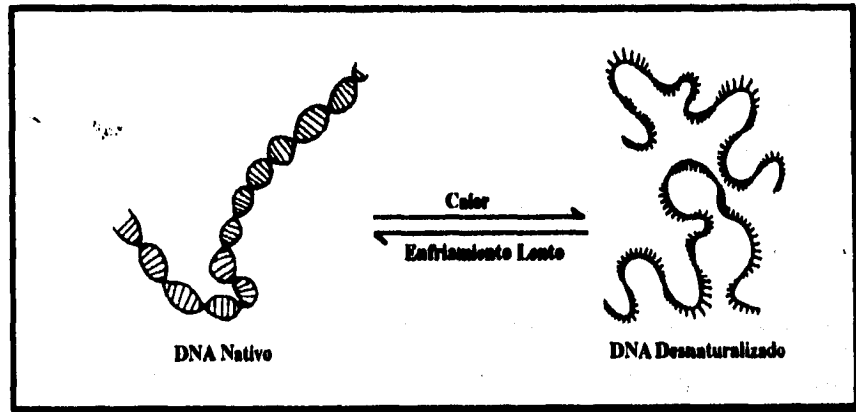


Figura 7-22 Desnaturalización del DNA. Una doble cadena de DNA, es calentada, aumentando la temperatura, siendo separadas, obteniéndose así dos cadenas sencillas.

FUENTE: MATHEWS, 1990

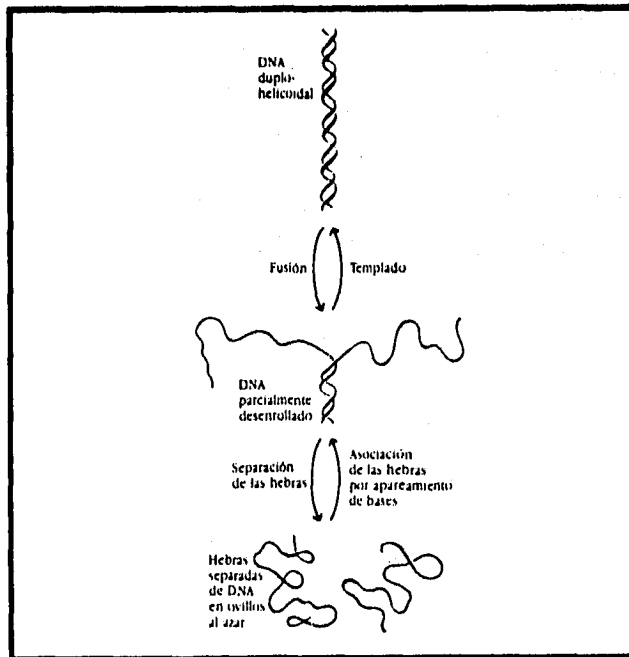


Figura 7-23 Etapas en la desnaturalización reversible del DNA y en su renaturalización.

FUENTE: LEININGER, 1991

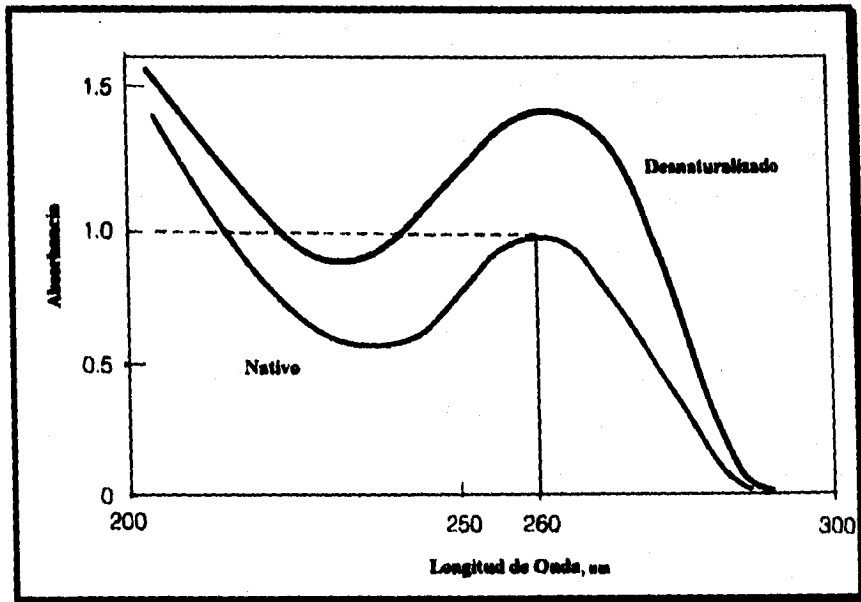


Figura 7-24 La absorbanza a 260nm de una disolución de DNA aumenta cuando funde la doble hélice originando filamentos libres.

FUENTE: MATHEWS, 1990

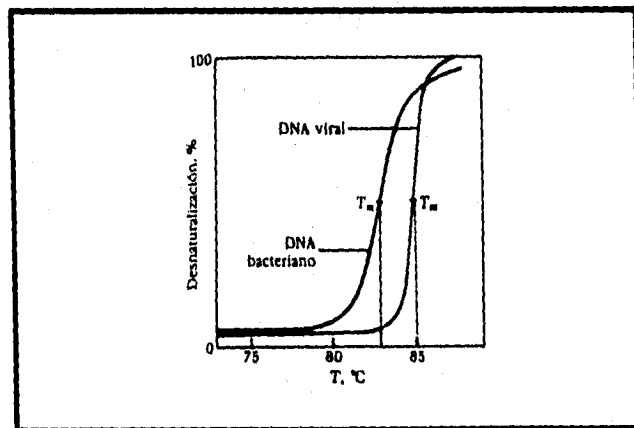


Figura 7-25 Curva de desnaturalización o de fusión de dos muestras de DNA. La temperatura en el punto medio de la transición (T<sub>m</sub>) es el punto de fusión. T<sub>m</sub> depende del pH y de la concentración salina, por lo que ambos parámetros deben ser especificados.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

### 7.4.1. ESTRUCTURA DEL RNA

El RNA, igual que el DNA, es un polímero largo, no ramificado, consistente en una serie de nucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster 3' ⇒ 5' (fig. 7-26). (37)

*El RNA difiere del DNA en 2 aspectos de su estructura covalente* Como su propio nombre indica, el azúcar del RNA es ribosa en lugar de desoxirribosa. La ribosa contiene un grupo 2'-hidroxilo que no está presente en la desoxirribosa. (37)

La otra diferencia es que uno de las cuatro bases del RNA es el uracilo (U), en vez de timina (T). El uracilo, al igual que la timina, puede emparejar con la adenina. Sin embargo, carece del grupo metilo presente en la timina. (37)

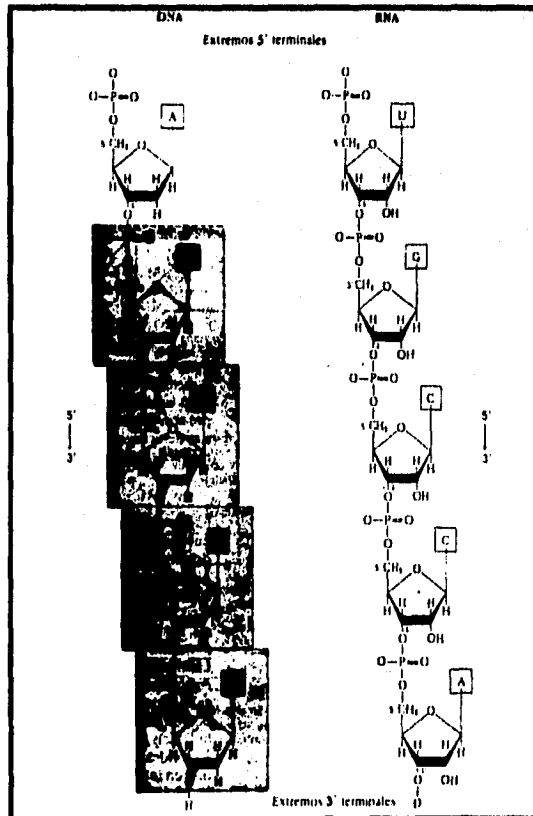
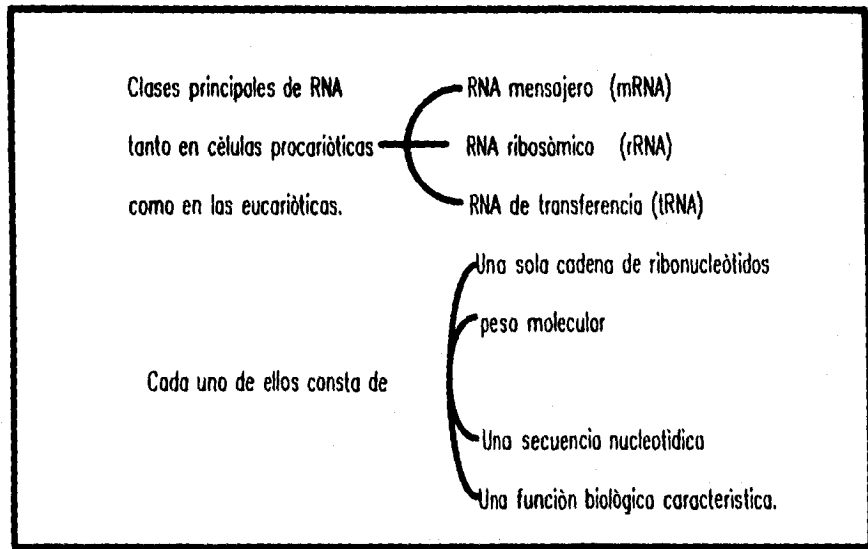


Figura 7-26 Estructuras del esqueleto covalente del DNA y RNA.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

## 7.4.2. CLASES DE RNA

Tabla 7-7 Propiedades De Los RNAs De *E. Coli*.

Tipo	S*	PM	Número aproximado de restos nucleotídicos.	Porcentaje del RNA total de la célula
mRNA	6-25	25 000-1 000 000	75-3000	~2
tRNA	~4	23 000-30 000	73-93	16
rRNA	5	~35 000	~100	82
	16	~550 000	~1500	
	23	~1 100 000	~3100	

\*S Representa el svedberg, una unidad que indica la velocidad de sedimentación de una macromolécula en un campo centrifugo, y que esta relacionada con el tamaño molecular. La unidad se ha denominado El Svedberg, en honor del químico-físico sueco que inventó la ultracentrifuga.

FUENTE: INOUE, 1987



7.4.2.1. RNA mensajero

Las instrucciones encerradas en el mRNA para dirigir el ensamblaje de polipéptidos están codificadas en forma de tripletes o codones –secuencias de tres bases– de modo que cada codón especifica un aminoácido. Por ejemplo, el codón UUU especifica fenilalanina; AUA, isoleucina; GAU, ácido aspártico, y así sucesivamente. En la figura 7-56 (se presenta el código genético completo). Así, una secuencia de codones del mRNA ...UUUGAUUA... especifica el segmento tripeptídico ...fen-asp-ile... En los eucariotes, cada mRNA codifica un solo polipéptido. En los procariotes y los sistemas viroses, cada mRNA puede codificar uno, dos o tres polipéptidos. (4)(20)

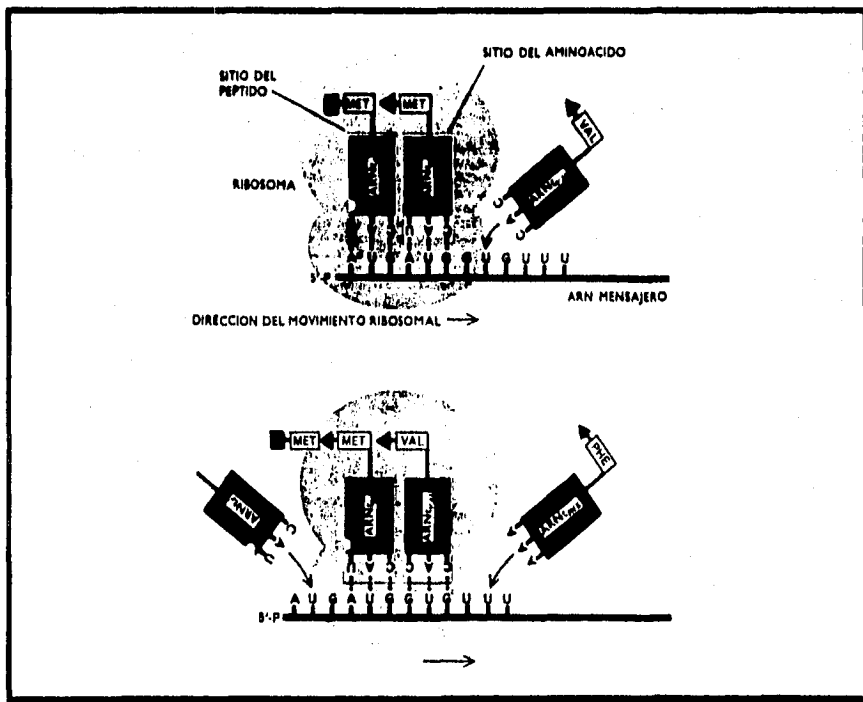


Figura 7-27 Aquí se ilustra como el ribosoma camina a lo largo de la "cinta de instrucciones" del RNA mensajero, leyendo el mensaje genético.

FUENTE: VILLANUEVA, 1970

#### 7.4.2.1.1. INTRONES Y EXONES

La mayor parte de los genes eucarióticos tienen una característica estructural distintiva y muy intrigante: sus secuencias de bases contienen uno o más segmentos intercalados de DNA, que no codifican la secuencia aminoácida del producto peptídico. (27)

Los segmentos de DNA presentes en los genes, que no experimentan traducción, se denominan secuencias intercaladas o intrones, mientras que los segmentos codificadores del gen se denominan exones. (46)

Un ejemplo lo constituye el gen que codifica a la ovoalbúmina; proteína del huevo que consta de una sola cadena polipeptídica. (27)

Con pocas excepciones, todos los genes eucarióticos que han sido examinados hasta el momento contienen intrones, los cuales difieren en el número, en la posición y en la fracción de la longitud total que ocupan dentro del gen. Los genes de las histonas constituyen una excepción, ya que carecen de intrones. (46)

La función de los intrones todavía no se conoce con exactitud. Una de las hipótesis es que contienen señales reguladoras. (27)

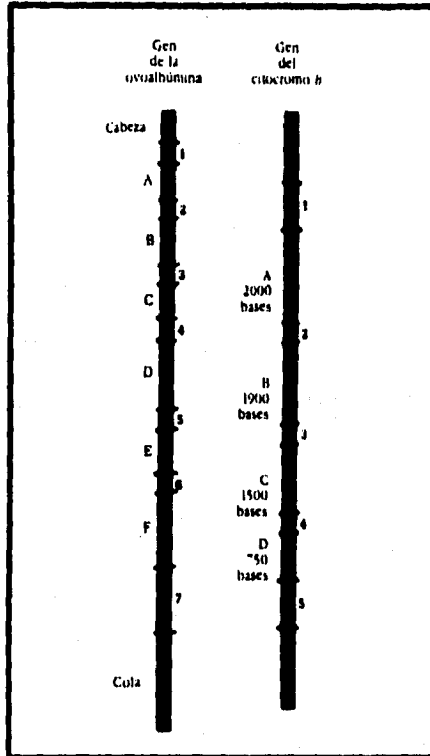
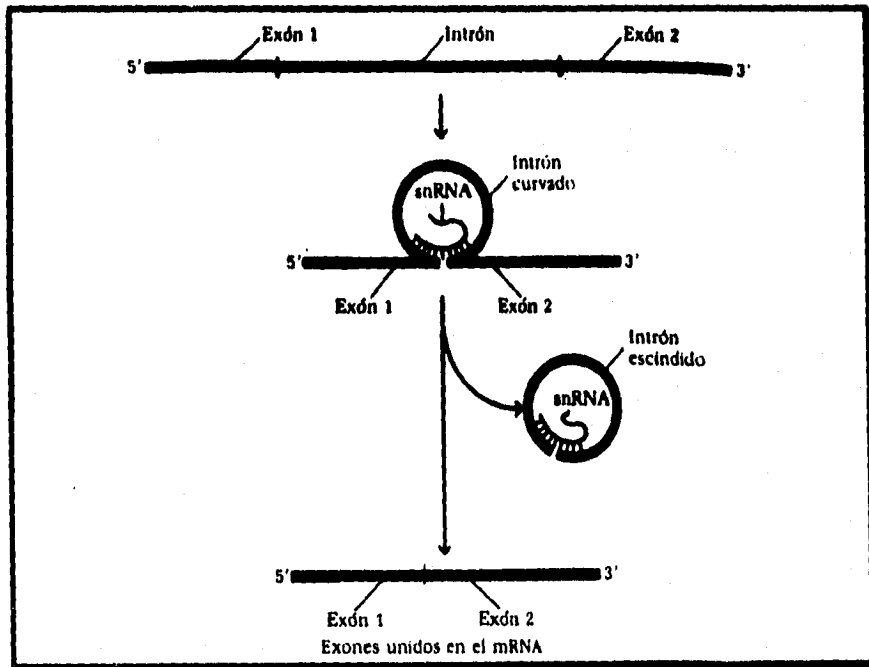


Figura 7-28 Secuencias intercaladas (intrones) en dos genes eucarióticos. El gen de la ovoalbúmina tiene seis intrones, que lo dividen en siete fragmentos o exones. El gen del citocromo b tiene cuatro intrones y cinco exones. Se muestra el número de bases presentes en los intrones del gen del citocromo b.

FUENTE: LEIMINGER, 1991

Los exones consecutivos se mantienen unidos de modo muy preciso gracias al concurso de otra clase de moléculas de RNA presentes en el núcleo, denominadas RNAs nucleares pequeños (snRNAs). Los cuales contienen secuencias de bases complementarias con las secuencias de bases existentes en los extremos de cada intron. Por apareamiento de estas bases se produce la yuxtaposición correcta de las secuencias de los dos exones, que permitirá su unión enzimática y la eliminación del intron que los separa (fig. 7-29). (45)(46)

La transformación del mRNA precursor finaliza después que todos los intrones han sido eliminados del modo indicado. El mRNA terminado abandona el núcleo, para lo cual debe unirse, en primer lugar, a dos proteínas especiales que lo dirigen hacia el citoplasma a través, de los poros existentes en la cubierta nuclear. (30)(45)(46)



**Figura 7-29** Modo de actuación del RNA nuclear pequeño (snRNA) en el acoplamiento de los axones y en la eliminación de los intrones. Los extremos del intrón aparean sus bases con un segmento del snRNA. La reacción de acoplamiento va acompañada de la escisión del intrón.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

**7.4.2.2. RNA de transferencia**

Estos son los ácidos nucleicos más pequeños (PM aproximado de 25000 ), pues constan de unos 73 a 93 nucleótidos .A cada aminoácido le corresponde, como mínimo una clase de tRNA; algunos aminoácidos poseen dos o más tRNAs específicos. Para reconocer todas los codones de los aminoácidos, son necesarios por la menos, 32 tRNAs, y en algunas células este número es mucho más elevado . Después de que cada tRNA se fija a un aminoácido específico, los complejos aminoácido-tRNA se acomodan en el orden señalado por la secuencia de codones del mRNA. La lectura de los codones del mRNA se efectúa gracias a la existencia, en cada tRNA, de una secuencia única de bases llamada anticodón, lo cual es complementaria a la del codón. (4)(20)(27)

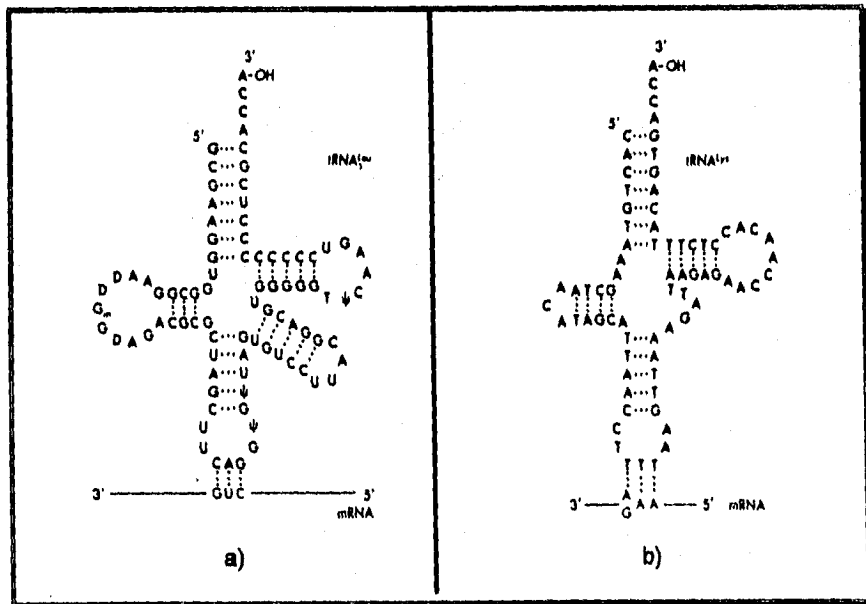


Figura 7-30 Algunas representaciones de tRNAs. a) Un tRNA de *E. coli* para leucina. b) Un tRNA mitocondrial de humano para lisina.

FUENTE: MATTHEWS, 1990

De los diversos patrones de plegamiento sugeridos, el que ha resultado coherente con todas las secuencias del tRNA es la llamada estructura de trébol (fig. 7-31), que presenta un apareamiento intracatenario de bases máximo entre los pares permitidos A-U, G-C y G-U, conteniendo cuatro brazos; y en los tRNAs más largos tienen un quinto brazo adicional corta.

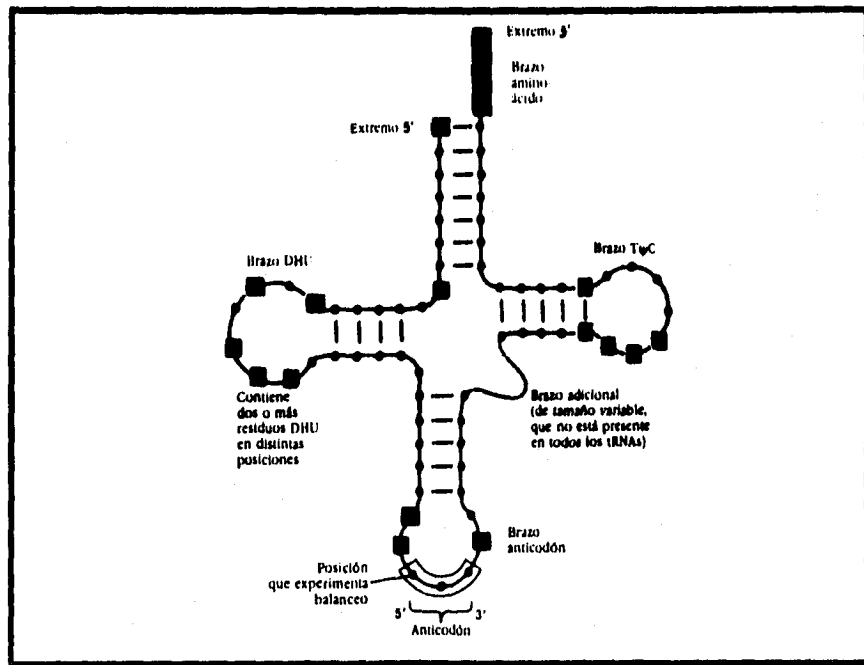


Figura 7-31 Estructura general de todos los tRNAs. (Hoja de Trébol). Los puntos negros gruesos presentes en el esqueleto corresponden a residuos nucleosídicos, y las líneas entre las secciones paralelas, representan los apareamientos entre las bases. Los residuos característicos y/o variables, que son comunes a todos los tRNAs, aparecen sombreados. Al final del brazo anticodón se encuentra el lazo anticodón, que siempre contiene siete nucleótidos desapareados.

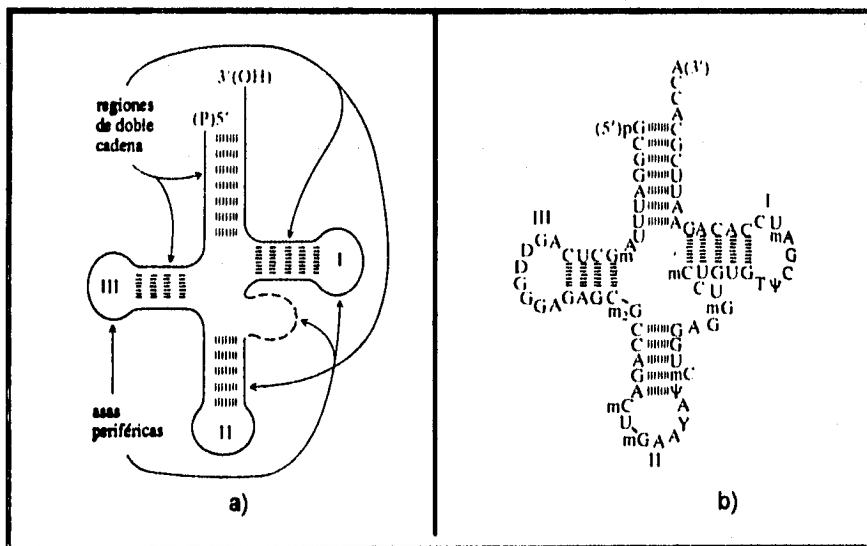
Claves:

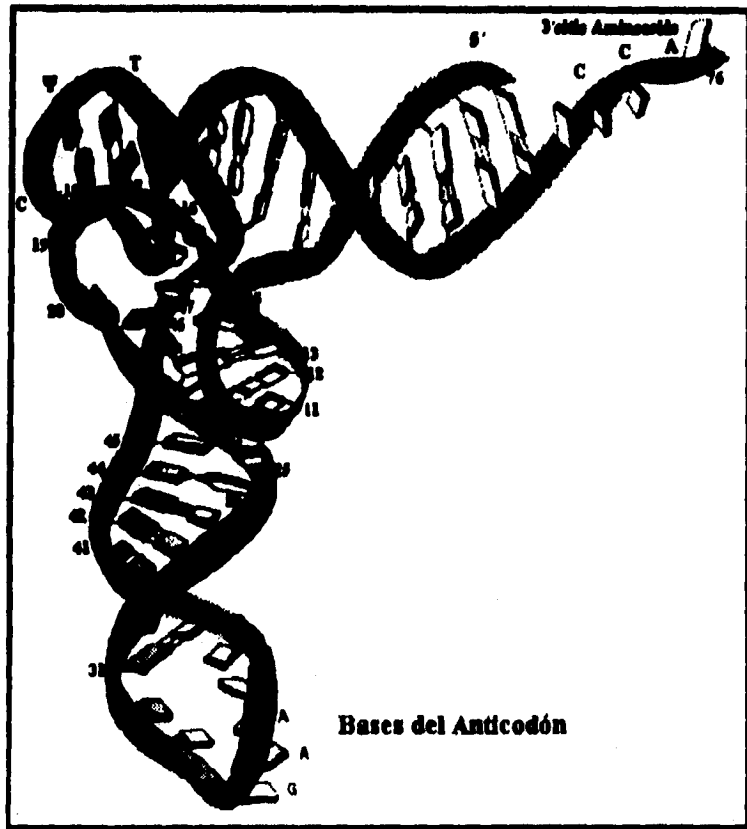
Pu= nucleósido purínico.    Ψ= pseudouridina.    T= ribotimidina.  
 Py= nucleósido pirimidínico.    G\*= guanosina o 2'-o-metilguanosina.    DHU= dihidrouridina.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

He aquí algunas de las funciones específicas asignadas a regiones determinadas de la estructura del tRNA (fig. 7-32). (4)(20)(27)

1. El extremo 3' del brazo aminoácido (que en todos los tRNA tiene una secuencia común -CCA) es el sitio donde se fija el aminoácido al tRNA, estando esterificado por su grupo carboxilo al grupo 2' o 3'-hidroxilo del residuo A presente en el extremo 3' del tRNA.
2. El asa I o brazo TΨC (en el que se hallan presentes la ribotimidina y la pseudouridina), está asociada con la fijación del complejo aminoacil-tRNA a los ribosomas.
3. El asa D (asaIII) o brazo DHU que contiene dihidrouridina, también participa en la fijación del complejo aminoacil-tRNA a los ribosomas.
4. El brazo anticodón contiene el anticodón, un triplete específico de nucleótidos que es complementario y puede aparear sus bases de modo antiparalelo con su triplete codón correspondiente, presente en el RNA mensajero. Cada tRNA tiene un triplete anticodón característico.





c)

Figura 7-32 RNA de transferencia. a) Modelo de trébol. Las regiones de cadena doble se forman por plegamiento y son estabilizadas por puentes de hidrógeno entre pares de bases complementarias. Las asas o rizos periféricos no tienen puentes de hidrógeno; existen tres asas principales y una menor de dimensiones variables. b) Fenilalanil-tRNA de la levadura, el cual tiene 76 nucleótidos. c) Modelo espacial de la estructura tridimensional del tRNA. Si este modelo se viera desde atrás, y volteado de cabeza, parecería una L.

FUENTE: BOHINSKI, 1991 y MATHEWS, 1990



**7.4.2.3. RNA ribosomal**

Los ribosomas son conjuntos plurimoleculares de proteínas (alrededor de 35%) y RNA (aproximadamente 65%); obviamente, este RNA se denomina ribosomal. (4)(20)

Un ribosoma intacto (70s en los procariotes y 80s en los eucariotes) es un complejo integrado por dos subunidades en asociación no covalente (fig. 7-33). (20)(45)

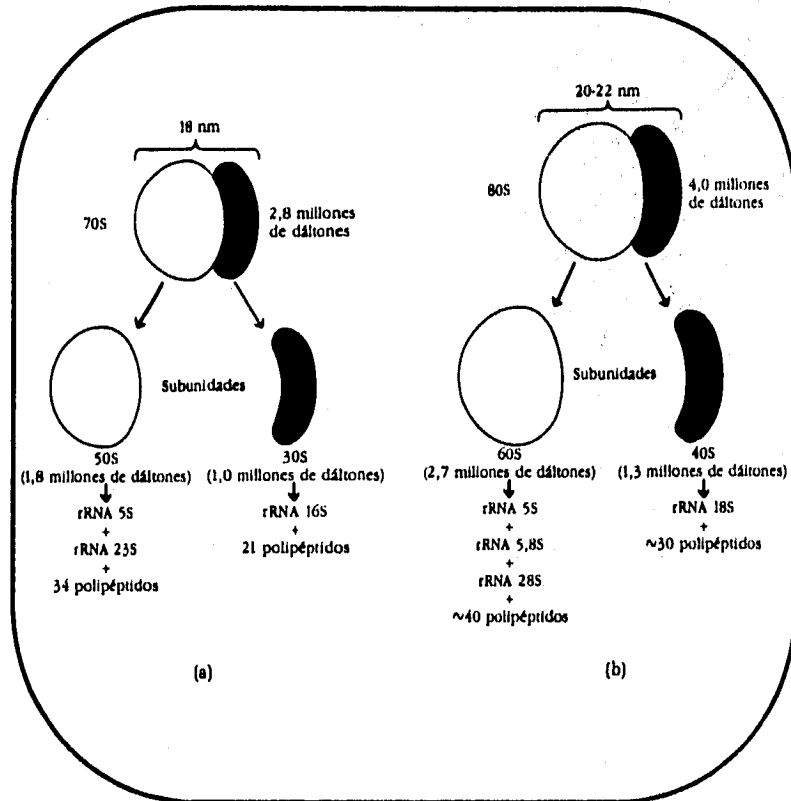


Figura 7-33 Composición de los ribosomas a) procarióticos y b) eucarióticos (citoplasmáticos). Los ribosomas presentes en las mitocondrias y en los cloroplastos de eucariotas son semejantes a los de las células procarióticas.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

Aunque los ribosomas se dibujan, habitualmente, representando a la subunidad 30S como un "casquete" situado sobre una subunidad 50S con forma esférica (fig. 7-33), sus estructuras no son simétricas. En realidad las dos subunidades tienen formas sorprendentemente irregulares (fig. 7-34). El encaje entre las dos subunidades de forma desigual es de tal naturaleza que origina una ranura entre ellas, a través de la cual se desliza el mRNA a medida que el ribosoma avanza a lo largo de él durante el proceso de transcripción, y de la que emerge la nueva cadena polipeptídica sintetizada. (4)(20)

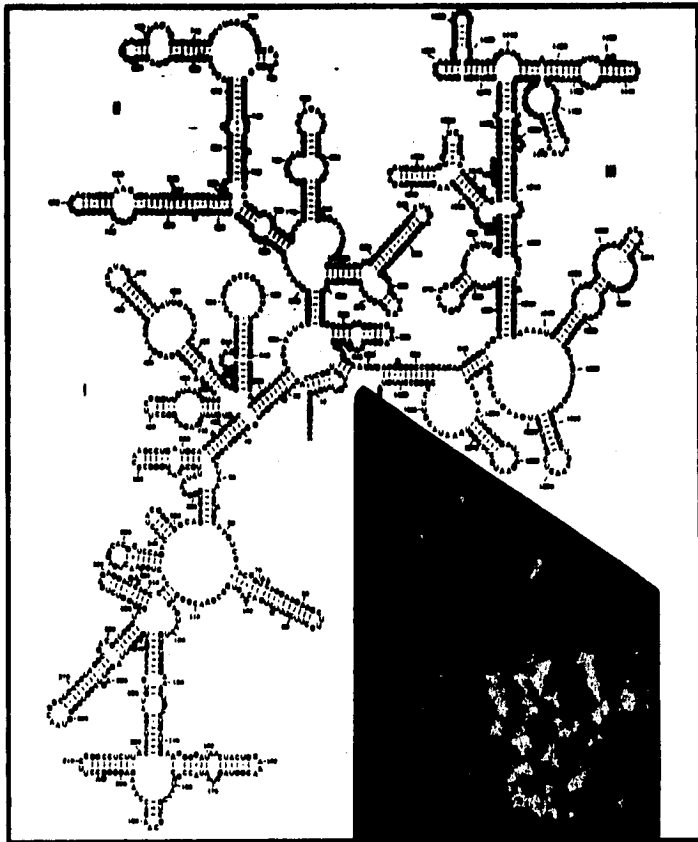


Figura 7-34 Patrón hipotético de la estructura secundaria del rRNA 16S de *E. coli*, mostrando su plegamiento intracatenario (1542 nucleótidos).

FUENTE: MATHEWS, 1990

Tabla 7-8 Propiedades Y Funciones De Las Proteínas Ribosomales.

Proteína	Número de residuos de Aminoácidos	Función propuesta *
S1	557	Enlazar el mRNA
S2	240	Enlazar el mRNA
S3	232	Enlazar el mRNA, Enlazar el tRNA?
S4	203	Esencial para el plegamiento de subunidad 30S
S5	166	Enlazar el mRNA, Enlazar el tRNA?
S6	131	-----
S7	177	Esencial para el plegamiento de subunidad 30S
S8	129	Esencial para el plegamiento de subunidad 30S
S9	128	Enlazar el mRNA, Enlazar el tRNA?
S10	103	Enlazar el tRNA, Enlazar el mRNA?
S11	128	-----
S12	123	Sitio estroptomicina; probablemente involucrado en el enlace con tRNA
S13	117	-----
S14	90	Enlazar el tRNA, Enlazar el mRNA?
S15	87	Esencial para el plegamiento de subunidad 30S
S16	82	Esencial para el plegamiento de subunidad 30S
S17	83	Esencial para el plegamiento de subunidad 30S
S18	74	-----
S19	91	Enlazar el tRNA
S20 = L26	86	-----
S21	70	-----
L1	233	-----
L2	272	Transferasa?
L3	209	Esencial para el plegamiento de subunidad 50S
L4	201	Esencial para el plegamiento de subunidad 50S
L5	178	Peptidil Transferasa?
L6	176	Peptidil Transferasa?
L7:L12	120	Enlace de factores proteicos, translación
L9	140	-----
L10	163	-----
L11	141	Peptidil Transferasa
L13	142	-----
L14	120	-----
L15	144	Peptidil Transferasa?
L16	136	Peptidil Transferasa?
L17	127	-----
L18	117	Peptidil Transferasa?
L19	114	-----
L20	117	Esencial para el plegamiento de subunidad 50S
L21	103	-----
L22	110	-----
L23	99	-----
L24	103	Esencial para el plegamiento de subunidad 50S
L25	94	Peptidil Transferasa
L26 = S20	86	-----
L27	84	Probablemente parte del sitio P; peptidil transferasa
L28	77	-----
L29	63	-----
L30	58	-----
L31	62	-----
L32	56	-----
L33	54	-----
L34	46	-----

\* (—) No hay aparentemente función específica

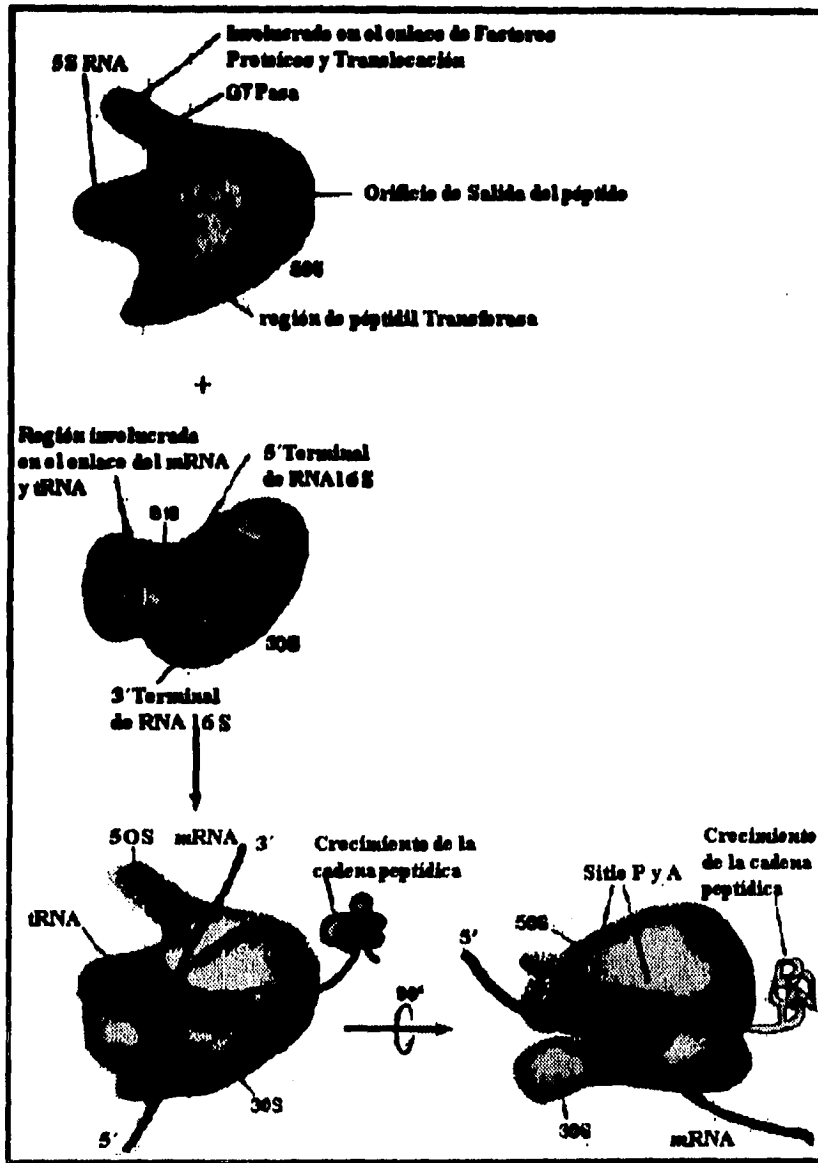


Figura 7-35 Algunas regiones funcionales del ribosoma procarionte.

FUENTE: MATTHEWS, 1990

**7.5. EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO DE LOS ACIDOS NUCLEICOS**

Es posible extraer RNA y DNA de las células, las fracciones subsecuentes o los virus, utilizando algunas de las propiedades que se mencionan en la tabla 7-9.

*Tabla 7-9 Propiedades De DNA Y RNA.*

PROPIEDADES DEL DNA	PROPIEDADES DEL RNA
Insoluble en soluciones diluidas de NaCl	Soluble en soluciones diluidas de NaCl
Soluble en soluciones concentradas de NaCl	Insoluble en alcohol
Insoluble en alcohol	Puede ser disociado de la proteína por
Puede ser disociado de la proteína por	tratamiento con un detergente o un fenol
tratamiento con un detergente o un fenol	

FUENTE: BOHNSKI, 1991

El dogma central define 3 etapas principales en el procesamiento de la información genética. (4)

ETAPA 1	REPLICACION	En la cual se copia el DNA progenitor para formar moléculas de DNA hijas cuyas secuencias nucleotídicas son idénticas a las del DNA paterno.
ETAPA 2	TRANSCRIPCION	Proceso mediante el cual se transcribe parte del mensaje genético del DNA en forma de ácido ribonucleico (RNA).
ETAPA 3	TRADUCCION	En la cual el mensaje genético codificado por el RNA es decifrado en los ribosomas en el alfabeto de 20 letras de la estructura proteica con la finalidad de formar proteínas.

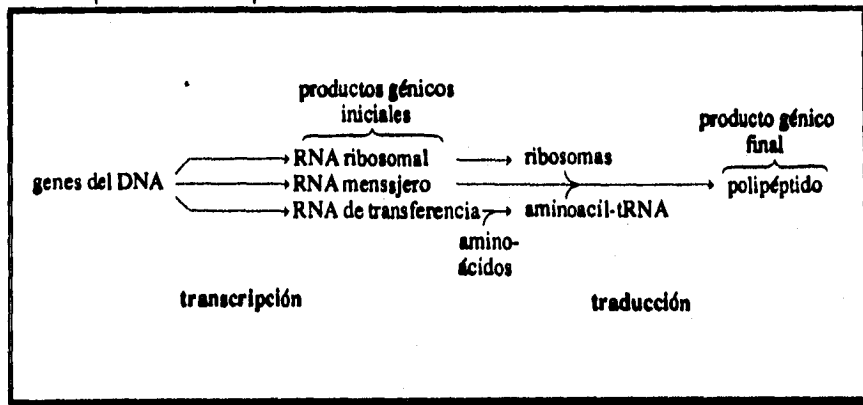


Figura 7-36 Moléculas involucradas en el Dogma Central. Las líneas representan el flujo de la información genética, siendo la representación común :



FUENTE: BOHINSKI, 1991

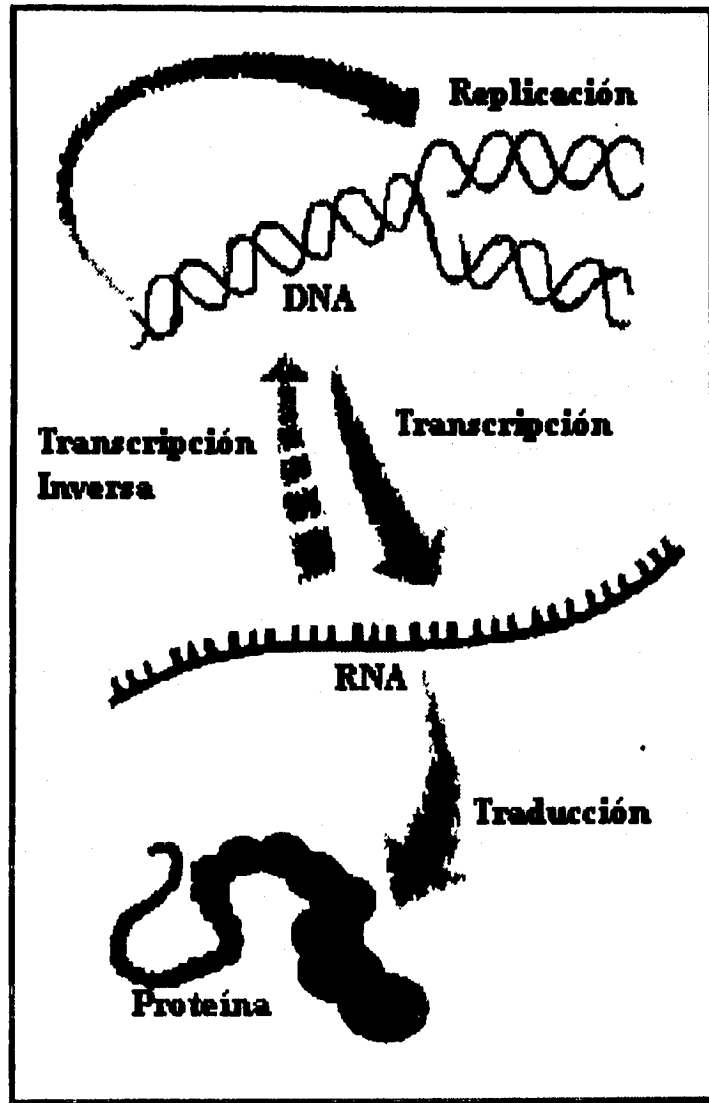


Figura 7-37 Dogma Central de la Biología Molecular.  
FUENTE: MATTHEWS, 1990

**7.8.1. REPLICACION DEL DNA**

El DNA de las bacterias y de muchos virus de DNA es una doble hélice circular.

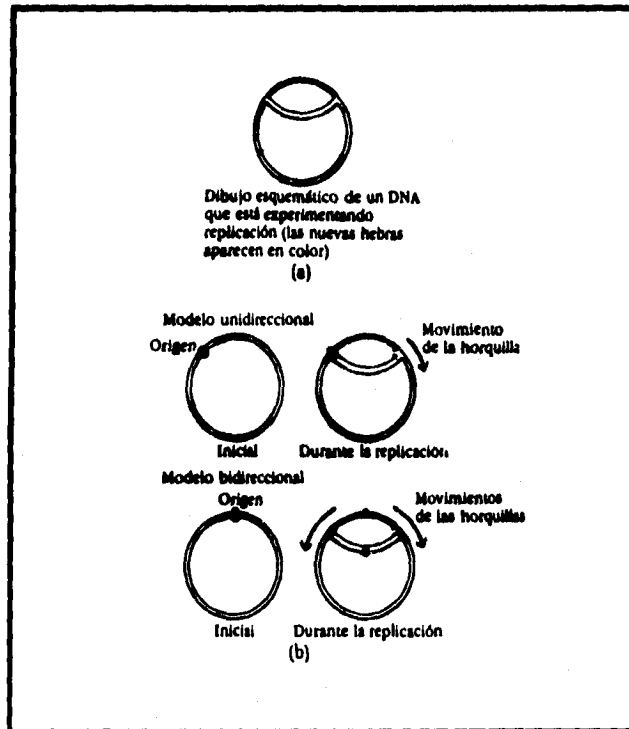


Figura 7-38 La replicación del DNA circular es bidireccional. Replicación del cromosoma de *E. coli*. a) Dibujo de la huella del cromosoma de *E. coli* marcado con tritio, durante la replicación. b) Interpretaciones esquemáticas de la replicación, en donde se muestran las hebras hijas recién sintetizadas. En el modelo unidireccional sólo existe una horquilla de replicación, que avanza a partir del origen de la replicación. En el modelo bidireccional hay dos horquillas de replicación que comienzan en el origen y se mueven en direcciones opuestas hasta que se encuentran. Los cromosomas de *E. coli* y de otras bacterias, al igual que los de muchos virus de DNA, se replican de modo bidireccional.

FUENTE: LEHNINGER, 1991



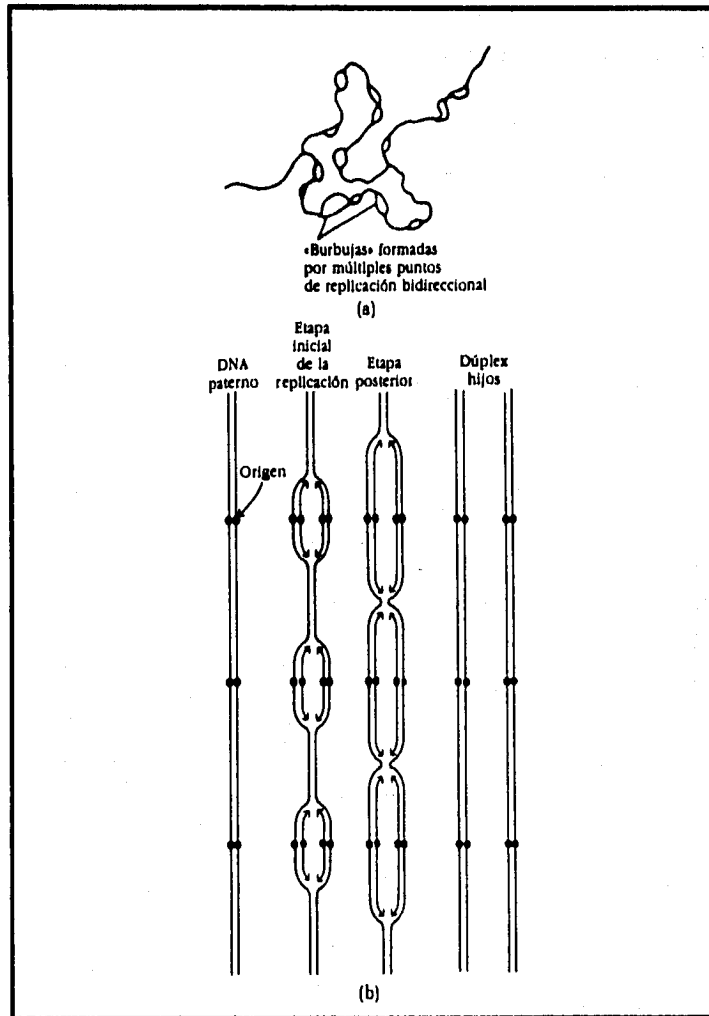


Figura 7-39 Replicación de un cromosoma eucariótico. a) Dibujo de un segmento de DNA en replicación de huevos de *Drosophila melanogaster*, en el que se muestran las "burbujas" u "ojos" formados, debido a la existencia de múltiples puntos de replicación bidireccional. b) La replicación bidireccional se inicia, simultáneamente, en millares de orígenes y transcurre hasta que las hebras hijas se completan. Después se separan los dúplex sintetizados, cada uno de los cuales contiene una hebra paterna y una hebra hija.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

**REPLICACION DE LA ESTRUCTURA DOBLE DEL DNA**

A finales de la década de 1950, M. Meselson y F. W. Stahl establecieron por la vía experimental el mecanismo de duplicación in vivo de la estructura doble del DNA.

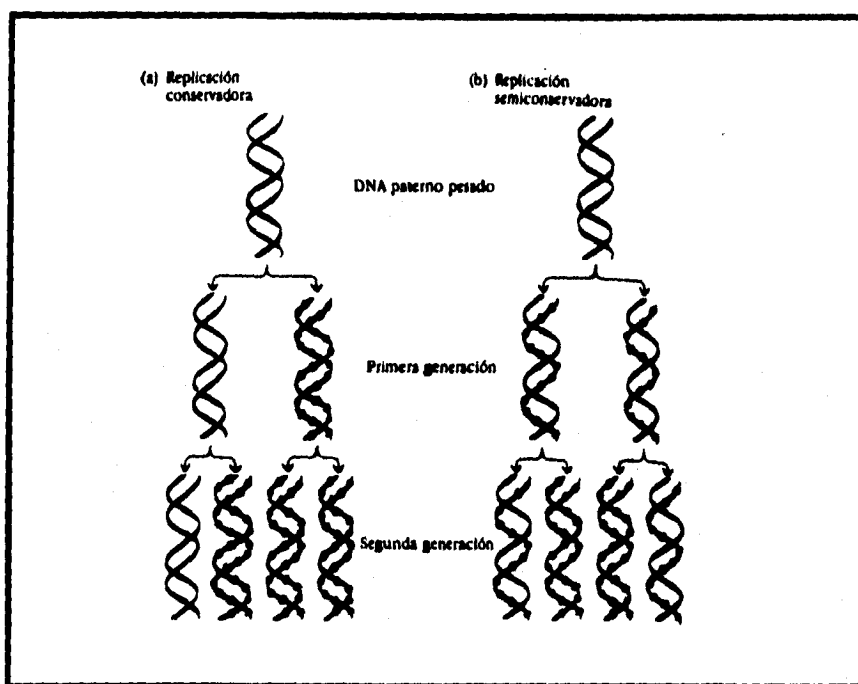


Figura 7-40 Principio del experimento de Meselson-Stahl para distinguir entre dos posibles mecanismos de replicación de un DNA pesado o DNA [ $^{15}\text{N}$ ] (líneas negras), cuando la replicación tiene lugar en un medio ligero o de [ $^{14}\text{N}$ ]. Las hebras ligeras se muestran como líneas punteadas. a) Replicación conservadora. Si ésta tuviese lugar, cada una de las dos hebras pesadas del DNA progenitor se replicarían dando lugar a un DNA dúplex, que contendría dos hebras ligeras, y al DNA dúplex pesado original. La continuación de la replicación conservadora originaria en la generación siguiente un DNA pesado y tres DNAs ligeros, pero no produciría DNAs híbridos. b) Replicación semiconservadora. Este tipo de replicación da lugar a la formación de dos dúplex hijos, cada uno de los cuales contiene una hebra pesada paterna y una hebra ligera. En la generación siguiente aparecerán DNAs híbridos y dos DNAs ligeros.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

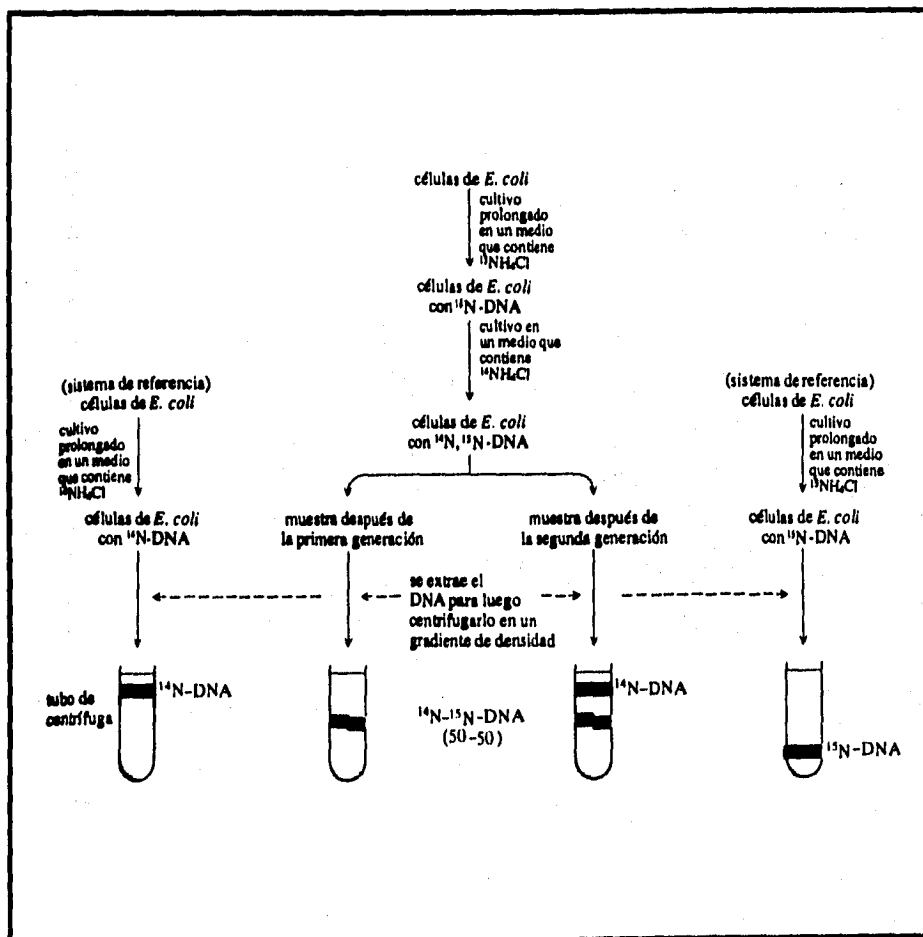
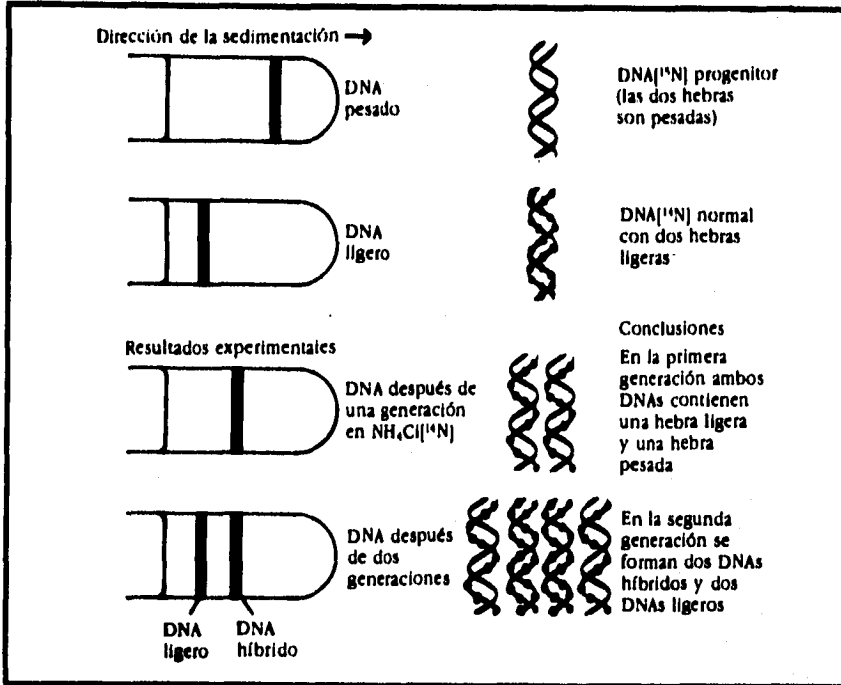


Figura 7-41 Resumen esquemático del experimento de Meselson-Stahl en el que se demostró el mecanismo semiconservador de replicación del DNA.

FUENTE: BOHINSKI, 1991



**Figura 7-42** Resultados del experimento de Meselson-Stahl. El DNA pesado o DNA [ $^{15}\text{N}$ ] alcanza una posición de equilibrio más baja en el gradiente de CsCl que el DNA ligero o DNA [ $^{14}\text{N}$ ]. El DNA híbrido se equilibra en una posición intermedia. El examen de los DNAs hijos de la primera y de la segunda generación demuestra que la replicación del DNA es semiconservadora.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

Este tipo de replicación se denomina semiconservadora, puesto que en cada molécula de DNA hija sólo se conserva una de las hebras del DNA paterno (figs. 7-42 y 7-43). Sus observaciones excluyen, claramente, una replicación conservadora, en la cual uno de las moléculas hijas de DNA conservaría las dos hebras originales, mientras que la otra molécula hija de DNA dúplex poseería las dos hebras nuevas. Asimismo, también puede descartarse un mecanismo de réplica dispersora, en el cual cada hebra hija de DNA estaría constituida por cortos segmentos del DNA progenitor y del DNA recién sintetizado, unidos al azar entre sí. (25)(28)(45)

Las datos revelan con claridad que la replicación del DNA debe efectuarse mediante un proceso en el que cada cadena de la doble hélice original de DNA funcione como molde para la síntesis de una nueva cadena complementaria (fig. 7-43). (14)(25)

Además, cada molde y su nuevo complemento permanecen asociadas para formar la siguiente generación de DNA. Este proceso se denomina replicación semiconservadora. (25)

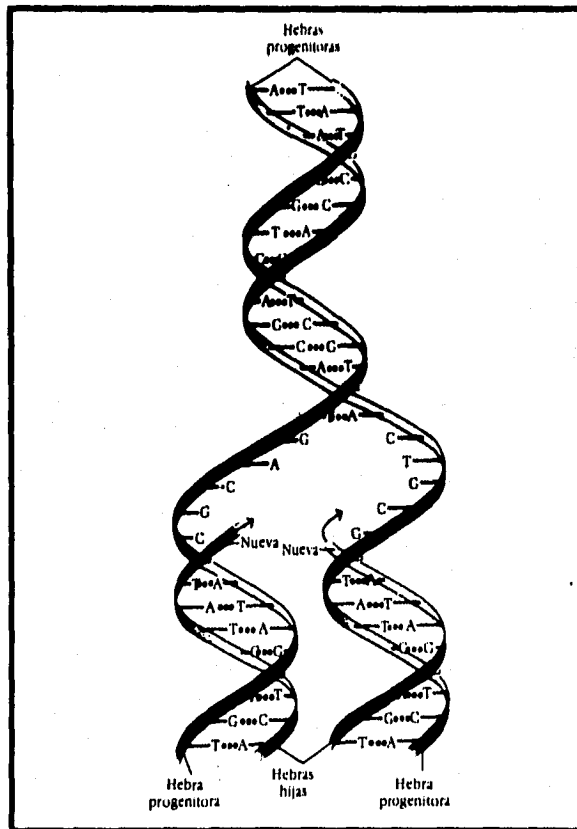


Figura 7-43 Replicación del DNA según Watson y Crick. Las hebras complementarias progenitoras se separan, y cada una de ellas constituye el patrón para la biosíntesis de una hebra hija complementaria.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

### 7.6.1.1. ENZIMOLOGIA DE LA REPLICACION DE DNA

#### 7.6.1.1.1. CARACTERISTICAS BASICAS

Aunque son muchas las proteínas que intervienen, la principal en la replicación del DNA es la polimerasa III del DNA dirigida por el DNA. (27)

A. Kornberg (Premio Nobel, 1959) y colaboradores fueron los primeros que aislaron y caracterizaron, en 1958 la polimerasa I del DNA de *E. coli*. (25)

Tabla 7-10 DNA polimerasas de *E. coli*

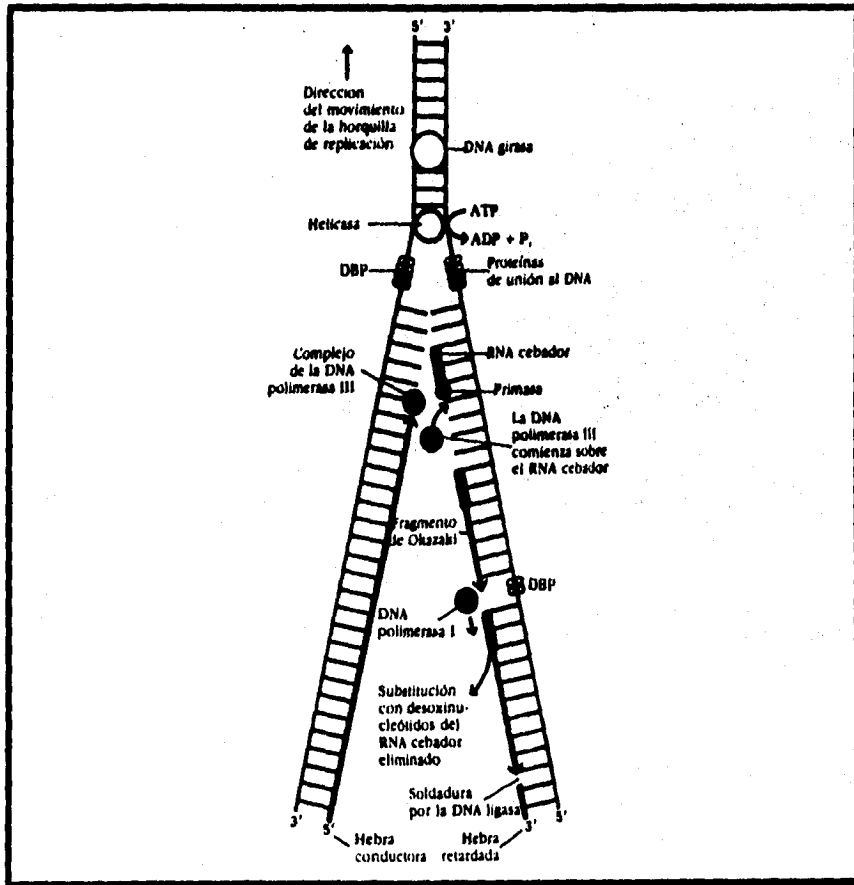
Actividad catalizada	I	II	III complejo
Polimerización 5' $\Rightarrow$ 3'	+	+	+
Exonucleásica 5' $\Rightarrow$ 3'	+	-	+
Exonucleásica 3' $\Rightarrow$ 5'	+	+	+
Peso molecular	109 000	120 000	400 000
Moléculas por célula	400		10
Actividad (nucleótidos por minuto y por molécula, a 37°C)	600	30	9 000

FUENTE: KORNBERG, ET. AL., 1992

**Tabla 7-11 Enzimas Involucradas En La Replicación De DNA Y Función De Cada Una De Ellas.**

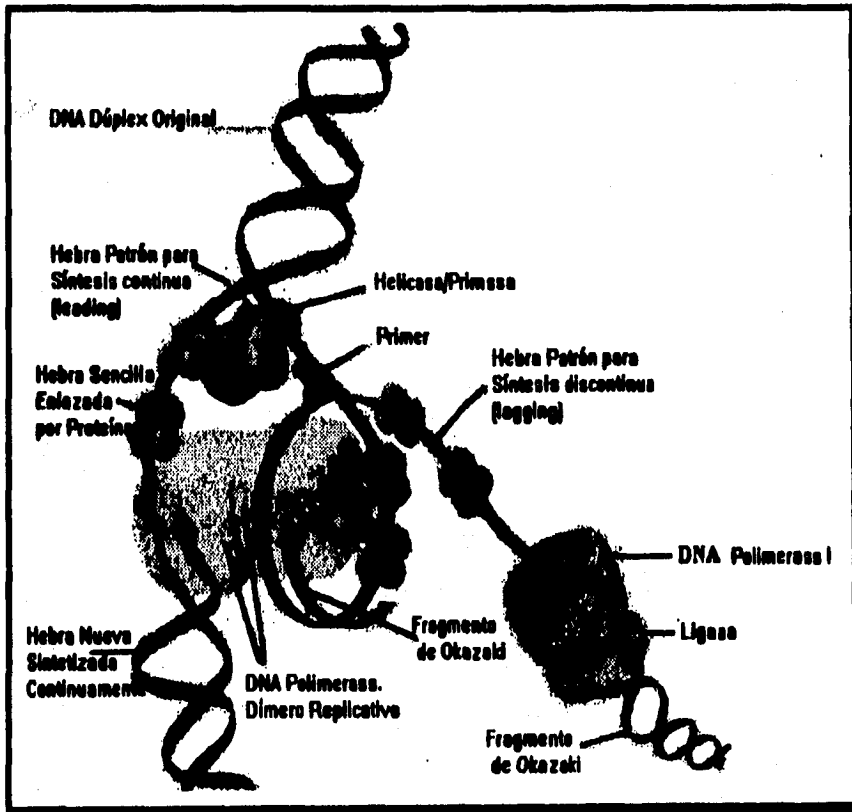
DNA polimerasa I	Al igual que la DNA polimerasa III, estas enzimas pueden adicionar nucleótidos al extremo 3' pero no al 5'. Una vez formado el fragmento de Okazaki, se elimina el RNA cebador, nucleótido a nucleótido, gracias a la actividad exonucleasica 5'-3' de esta enzima.
DNA polimerasa II	Su función todavía no es conocida.
DNA polimerasa III (actúa en forma de un gran complejo denominado holoenzima DNA polimerasa III)	Es la principal enzima responsable de la elongación de las cadenas del DNA, sin embargo requiere de una hebra patrón y de una hebra cebadora por lo que no puede iniciar por si mismo la replicación. La prolongación del DNA también tiene lugar en la dirección 5'-3' por adición de nuevas unidades al extremo 3' de la hebra cebadora.
Primasa	Sintetiza un corto fragmento de RNA que es complementario con la hebra patrón del DNA en la dirección 5'-3' a partir de los precursores ATP, UTP, CTP y GTP, con el fin de servir como cebador para poderse sintetizar los fragmentos de Okazaki, por medio de la adición de desoxirribonucleótidos que incorpora la DNA polimerasa III.
DNA ligasa	Enlaza el fragmento de Okazaki a las hebras de DNA en crecimiento formando un enlace fosfodiéster entre el grupo 3'-fosfato del extremo del DNA en crecimiento y el grupo 5'-hidroxilo del fragmento de Okazaki recién sintetizado.
Helicasa	Desenrollan cortos segmentos de DNA exactamente por delante de la horquilla de replicación.
Proteína de unión a DNA (DBP)	Inmediatamente después de que una corta secuencia de DNA ha sido separada, varias moléculas de esta proteína se fijan fuertemente a cada una de las hebras separadas, impidiendo nuevamente su unión. Consiguiéndose con esto que estén expuestas al sistema de replicación.
Topoisomerasa (en procariontas se conocen como DNA girasa)	Se cree que es un "estabón giratorio" que se encuentra, delante de la horquilla de replicación para que sólo tenga que girar una corta, secuencia a la velocidad que se lleva la replicación que es aproximadamente 4500 r/min. Este enzima permite que el DNA dé vueltas sobre su eje, y lo retuerce activamente en la dirección que favorece su desenrollamiento. Por tanto la girasa facilita a la helicasa el desenrollado del DNA durante su replicación.

Las dos nuevas hebras, conjuntamente con sus hebras patrón correspondientes, forman automáticamente dos dúplex hijos con sus bases apareadas, cada uno de los cuales contiene una hebra nueva y una hebra progenitora. Para la formación de las nuevas  $\alpha$ -hélices no se precisa energía, ni se necesita un enzima para su "enrollado". (14)(25)



a)





b)

Figura 7-44 Resumen de las principales etapas existentes en la replicación del DNA. Las figuras a) tomada de Lehninger y b) tomada de Mathews las ilustran.

Existe cierta incertidumbre sobre la localización exacta del lugar de actuación de la DNA girasa.

FUENTE: MATHEWS, 1990 y LEININGER, 1991

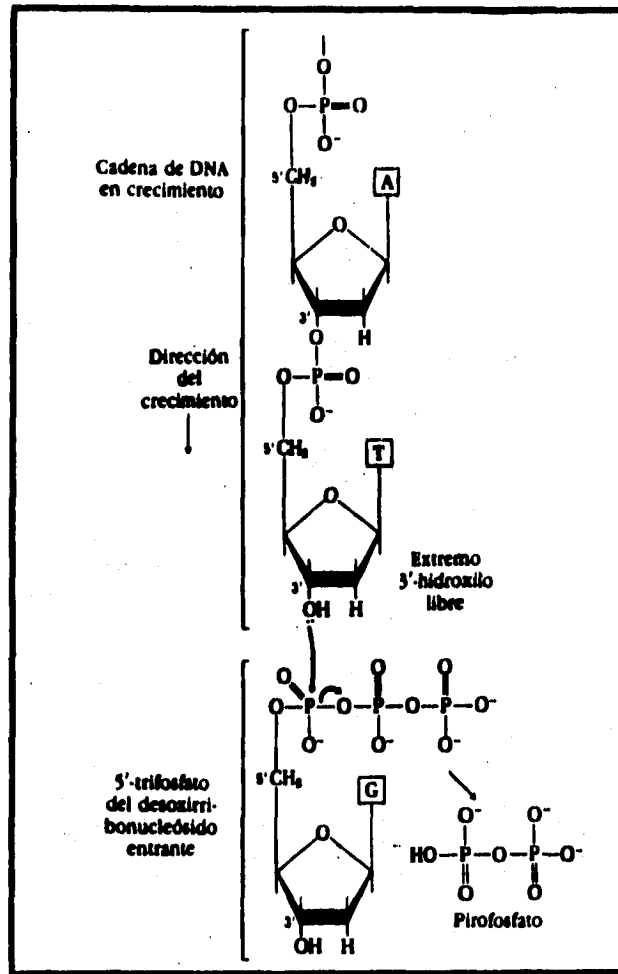


Figura 7-45 Prolongación de una cadena de DNA por la DNA polimerasa. El nuevo enlace internucleotídico se forma por ataque nucleofílico del grupo hidroxilo 3' libre sobre el átomo de fósforo  $\alpha$  del desoxirribonucleósido trifosfato entrante, lo que provoca la liberación de pirofosfato libre. En la figura no se muestra la hebra de DNA patrón.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

**7.6.1.1.2. LA DNA polimerasa PUEDEN LEER LAS PRUEBAS Y CORREGIR LOS ERRORES.**

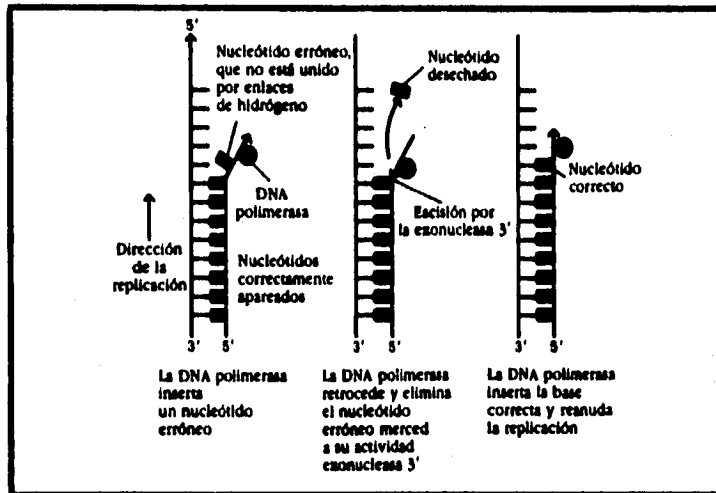


Figura 7-46 Corrección de errores por medio de la actividad exonucleásica 3' de la DNA polimerasa. FUENTE: LEHNINGER, 1991

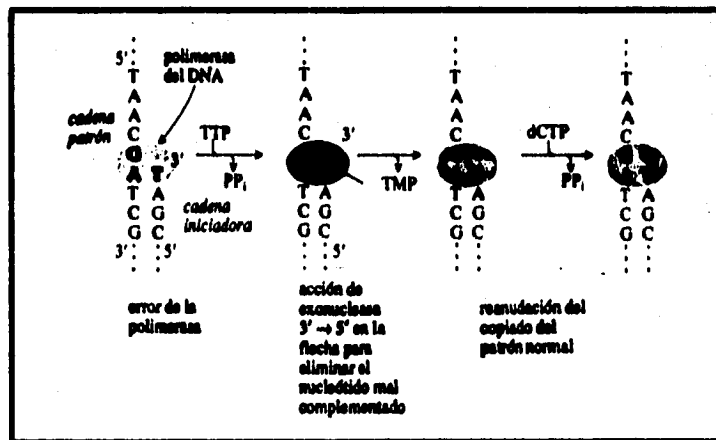


Figura 7-47 Corrección por la polimerasa del DNA. FUENTE: BOHINSKI, 1991

**7.6.2. TRANSCRIPCIÓN**

La fase principal siguiente del flujo de la información genética es la transcripción de la información genética del DNA en forma de RNA. En este proceso, un sistema enzimático sintetiza una hebra de RNA que tiene una secuencia de bases complementarias con la de una de las hebras de DNA.

Los productos de la transcripción son de tres clases de RNA en procariontes. (1)(46)

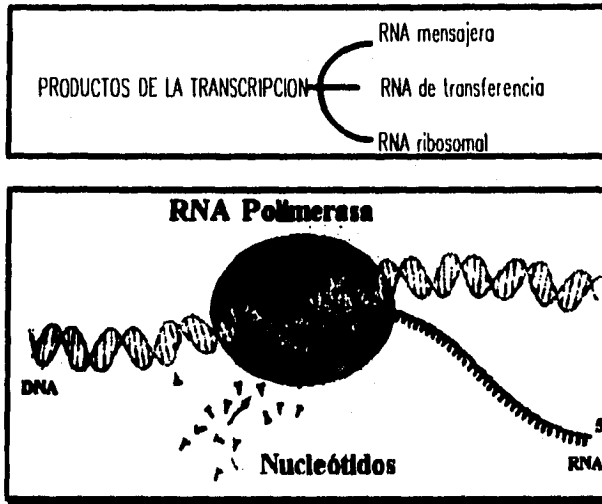


Figura 7-48 Principio básico de la Transcripción. La enzima (RNA polimerasa) lee la información del DNA y la transcribe hacia RNA, adicionando nucleótidos, lográndose así una secuencia de bases complementaria con la de una de las hebras de DNA.

FUENTE: MATHEWS, 1990

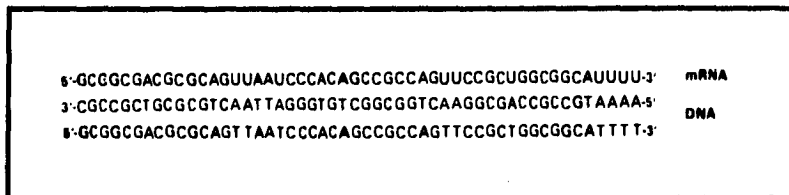


Figura 7-49 La secuencia de bases del mRNA es complementaria de la secuencia de la hebra de DNA molde.

FUENTE: STRYER, 1994

**DIFERENCIA IMPORTANTE ENTRE LA REPLICACION Y LA TRANSCRIPCION**

Durante la replicación se copia el cromosoma completo, lo que da lugar a DNAs hijos idénticos al DNA progenitor. Sin embargo, en el proceso de transcripción no se transcribe, necesariamente, toda el DNA de la célula, ya que, en general, sólo se transcriben genes individuales o bien grupos de genes. Por tanto, la transcripción del DNA es selectiva, ya que está determinada por secuencias reguladoras específicas que señalan el comienzo y el final de los segmentos de DNA que van a ser transcritos. (4)

**7.6.2.1. RNA Polimerasa**

El RNA mensajero se sintetiza por una RNA polimerasa-DNA dirigida, este enzima precisa de  $Mg^{2+}$  y de las cuatro 5'-trifosfatos de las ribonucleótidos (ATP, GTP, UTP y CTP) como precursores de las unidades nucleotídicas del RNA. La RNA polimerasa prolonga una hebra de RNA adicionando unidades ribonucleotídicas al extremo 3' hidroxilo de la cadena de RNA; por tanto, las cadenas de RNA se construyen en la dirección 5'-3', lográndose así una secuencia de bases complementaria con la de una de las hebras de DNA. La RNA polimerasa necesita de la presencia de DNA preformada para ejercer su actividad. (4)(20)

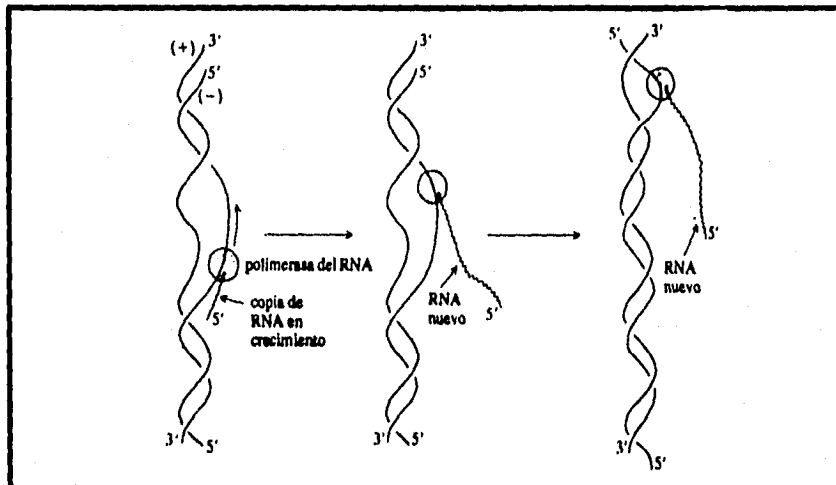


Figura 7-50 Polimerasa del RNA que avanza sobre la cadena patrón después de un destorcimiento local del DNA doble. La copia en crecimiento del RNA permanece adherida a la polimerasa hasta que alcanza el sitio de terminación.

FUENTE: BOHINSKI, 1991

## 7.8.2.2. PROCESO DE LA TRANSCRIPCIÓN

La RNA polimerasa no puede ejercer su función hasta que se une a una señal de iniciación específica presente en la hebra patrón del DNA. Seguidamente el enzima inicia la síntesis, del nuevo RNA por su extremo 5', la cual comienza, habitualmente, con un residuo de GTP o de ATP, cuyo grupo 5'-trifosfato, simbolizado por ppp, no se escinde a PPi, ya que permanece inalterado a lo largo de la transcripción. (1)(2)

Esta enzima es muy grande y compleja que contiene cinco subunidades polipeptídicas; dos cadenas  $\alpha$ , una cadena  $\beta$ , una cadena  $\beta'$  y una cadena  $\sigma$  (sigma). (27)

La estructura de la forma holoenzima de la polimerasa se simboliza por  $\alpha_2\beta\beta'\sigma$ .

Tabla 7-12 Etapas Del Proceso De Transcripción.

Etapas del proceso.	Nombre de la etapa.	Pasos que sigue la transcripción.
Primer etapa	Iniciación.	Es la unión del holoenzima a un centro específico presente en la molécula de DNA, denominado <i>centro promotor</i> , constituido por una corta secuencia de nucleótidos que es reconocido por la RNA polimerasa.
Segunda etapa	Prolongación de la cadena.	Una vez que la RNA polimerasa se halla correctamente situada en el <i>centro promotor</i> , y ha elaborado unos pocos enlaces fosfodiéster, la subunidad $\sigma$ se disocia del holoenzima. Seguidamente el RNA es prolongado, nucleótido a nucleótido, por la polimerasa remanente ( $\alpha_2\beta\beta'$ ) denominada "enzima núcleo"
Tercer etapa	Terminación.	La prolongación del RNA continúa hasta que se alcanza una secuencia de terminación específica en el DNA patrón, que señala el término del gen o de los genes que están siendo transcritos. Para finalizar la transcripción y liberar a la RNA polimerasa del DNA, se precisa de otra proteína específica denominada $\rho$ ( <i>rho</i> ).

FUENTE: LEHNINGER, 1991

**Tabla 7-13** Polimerasas DNAs Dirigidas Por DNA En Las Células Vivas.

ENZIMA	COMPOSICION (PM)
<b>Procariones</b>	
Polimerasa del RNA	$\alpha_2\beta\beta'\sigma$ (480 000) con $Zn^{+2}$ adherido
<b>Eucariotes</b>	
<b>Nucleares</b>	
Polimerasa del RNA I <sup>a</sup> (nucleolo)	Octámero de seis subunidades (500 000)
Polimerasa del RNA II <sup>b</sup> (nucleoplasma)	Cinco subunidades
Polimerasa del RNA III <sup>c</sup> (nucleoplasma)	Nueve subunidades
<b>Mitocondria</b>	
Polimerasa del RNA	Variable en las diferentes especies

**a** Para copiar genes de rRNA.

**b** Para copiar genes de mRNA.

**c** Para copiar genes de tRNA.

FUENTE: BOHINSKI, 1991

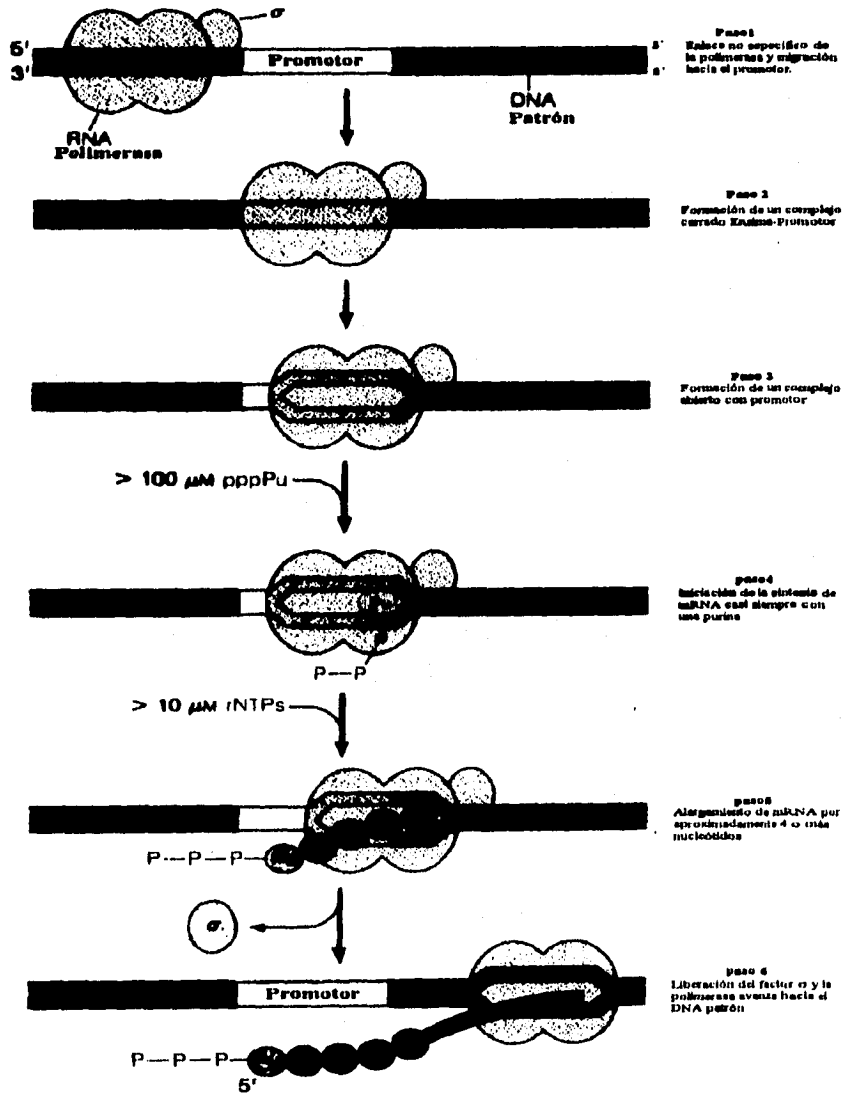


Figura 7-51 Etapas de la iniciación y elongación en la transcripción por una RNA polimerasa bacteriana.

FUENTE: MATHEWS, 1990



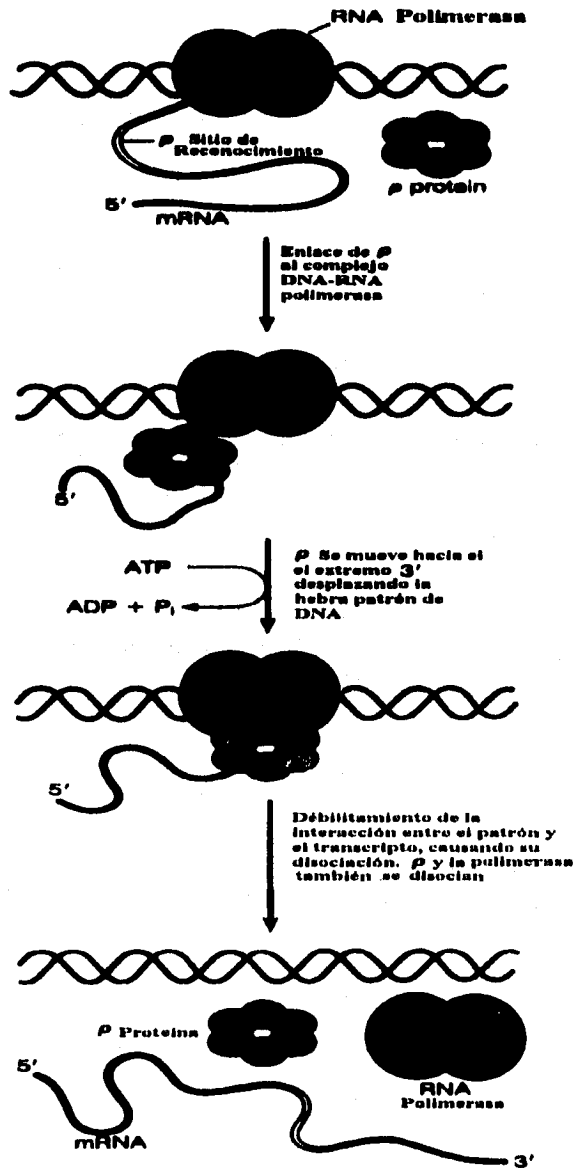


Figura 7-52 La terminación depende del factor ρ.

FUENTE: MATTHEWS, 1990

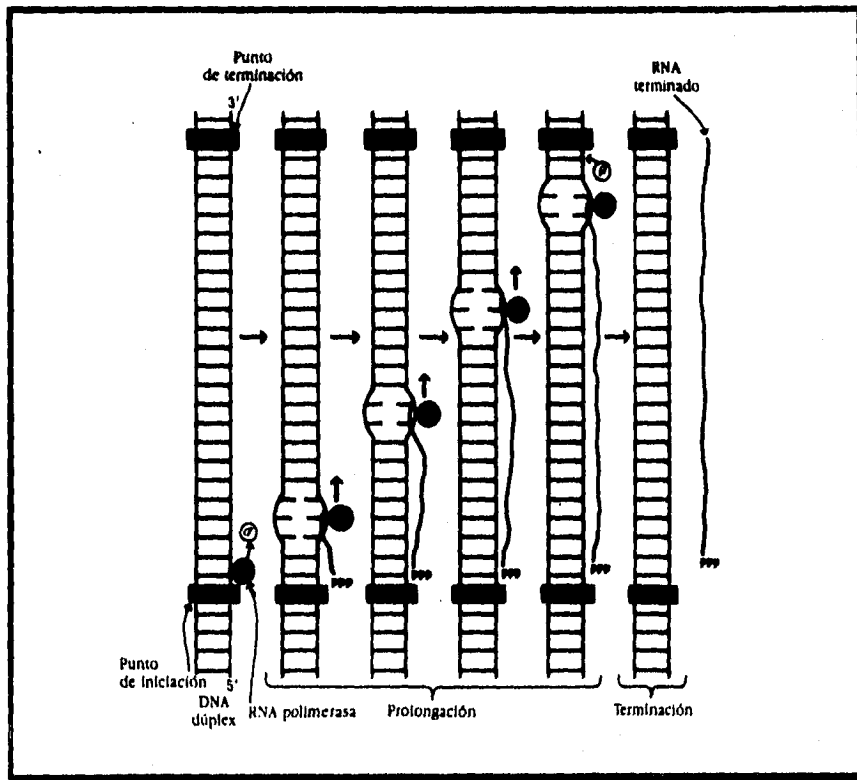


Figura 7-53 Resumen de las etapas de la transcripción. En procariotas, la RNA polimerasa, debe insertarse, en primer lugar, en el centro promotor del DNA. Después se desplaza a lo largo de la secuencia de iniciación en la dirección 5'⇒3' y comienza a transcribir a partir del nucleótido correcto. Este diagrama no muestra la longitud real del híbrido DNA-RNA, que contiene, aproximadamente, una docena de nucleótidos. Después de la iniciación, la subunidad  $\sigma$  se disocia.

La terminación de la cadena precisa de la subunidad  $\rho$ .

FUENTE: LEHNINGER, 1991

### 7.6.3. TRADUCCION

La inmensa mayoría de cada uno de los genes de un cromosoma codifican la biosíntesis de un polipéptido específico (proteína).

Después de la transcripción ( y el procesamiento del mRNA en los eucariotes), la secuencia de bases del mRNA aporta las instrucciones para el ensamblaje secuencial de los aminoácidos que integrarán dicho polipéptido. El proceso se denomina traducción porque estriba en la conversión del "lenguaje" de la estructura primaria de una secuencia de bases en una secuencia de aminoácidos.

(4)(12)  
Las instrucciones del mRNA están contenidas en juegos de tres bases sucesivas llamadas tripletes o codones. Las asignaciones de codificación de los 64 codones, se conocen desde hace unos 20 años. Sin embargo, aunque es mucho lo que se ha aprendido sobre el proceso de traducción algunos aspectos, en el mejor de los casos, apenas se comprenden. (27)(42)

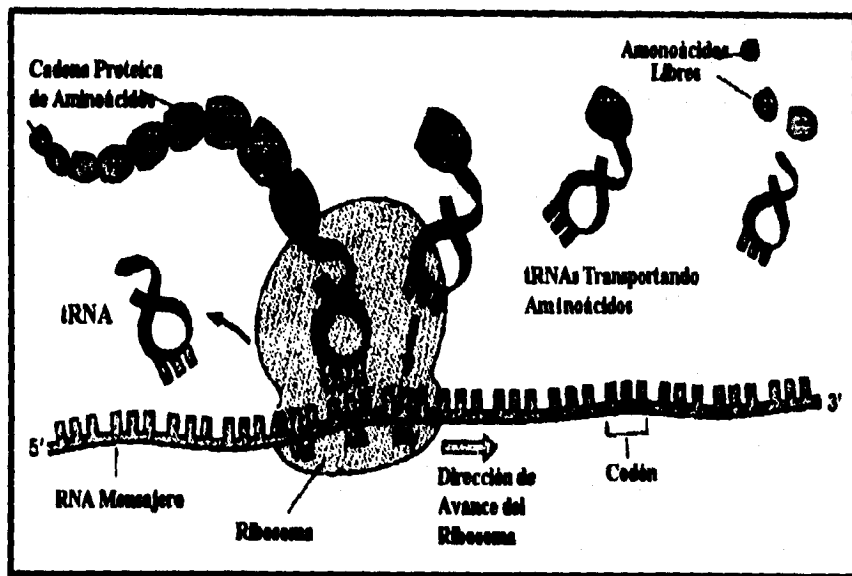


Figura 7-54 Traducción. El ribosoma se une al mRNA, el cual contiene la información genética. La información se traduce en juegos de tres bases sucesivas llamadas codones o tripletes. Por otro lado el tRNA se une al aminoácido correspondiente, y lo translada hacia el ribosoma, una vez que el tRNA haya identificado al codón apropiado en el mRNA, comienza a adicionar los aminoácidos formando enlaces peptídicos, lográndose así la formación de una proteína.

FUENTE: MATHEWS, 1990

Puesto que el proceso de traducción es muy complejo, en general se considera que ocurre en cinco pasos (fig. 7.55). (4)

1. Activación y selección de aminoácidos.
2. Inicio de la formación de la cadena polipeptídica.
3. Elongación de la cadena polipeptídica.
4. Terminación de la formación de la cadena polipeptídica.
5. Plegamiento y transformación. Los pasos de ensamblaje (2,3 y 4) en realidad ocurren en la superficie de los ribosomas, donde ciertas proteínas ribosómicas individuales realizan funciones específicas. Además del RNA mensajero y de los ribosomas, otras sustancias participantes son los RNA de transferencia, diversas proteínas no catalíticas y como fuentes de energía ATP y GTP. (4)

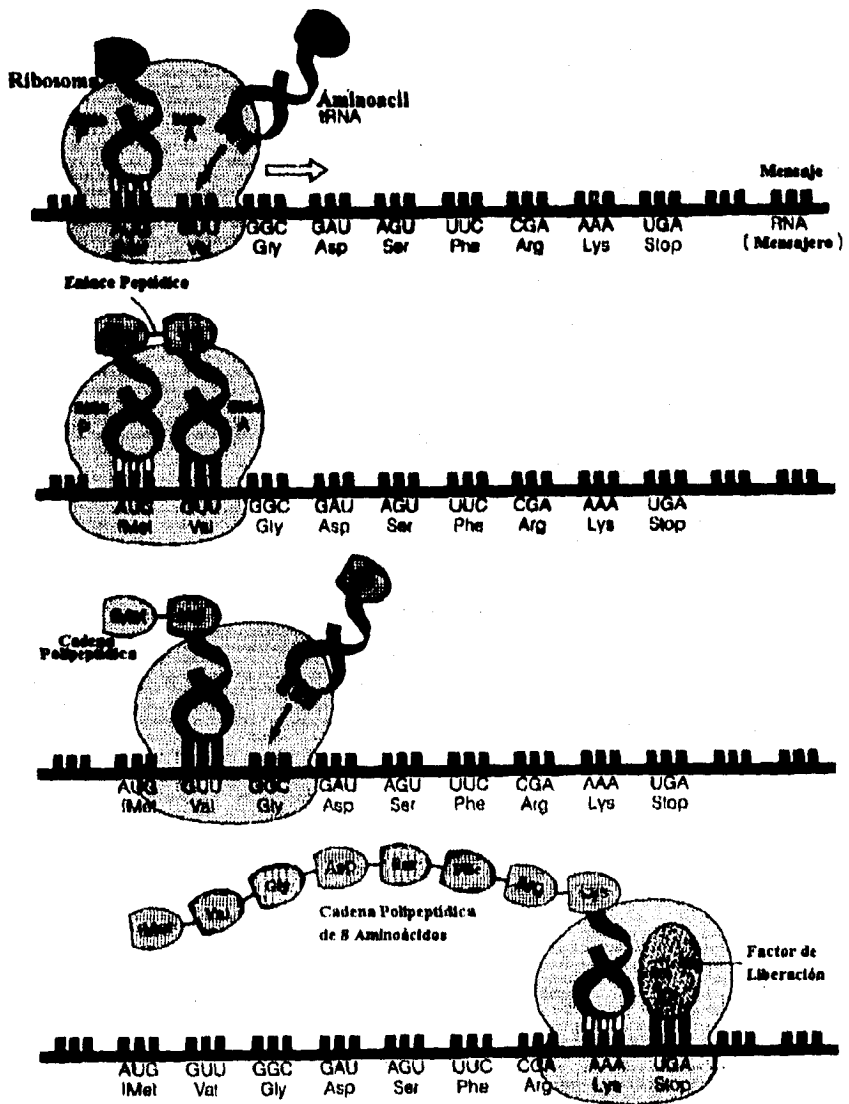


Figura 7-55 Proceso de traducción. En el esquema se representan los primeros cuatro pasos del proceso, sin embargo no se consideró el plegamiento de la proteína sintetizada.

FUENTE: MATHEWS, 1990

**Tabla 7-14 Componentes Necesarios En Las Cinco Etapas Principales De La Síntesis De Polipéptidos En E.Coli.**

ETAPA	COMPONENTES NECESARIOS
1. Activación de los aminoácidos	20 aminoácidos 20 aminoacil-tRNA sintetasas 20 o más RNAs de transferencia ATP Mg <sup>2+</sup>
2. Iniciación de la cadena polipeptídica	RNA mensajero N-formilmetionil-tRNA Codón de iniciación en el mRNA (AUG) Subunidad ribosomal 30S Subunidad ribosomal 50S GTP Mg <sup>2+</sup>
3. Prolongación	Factores de iniciación (IF-1, IF-2, IF-3) Ribosoma 70S funcional (complejo de iniciación) Aminoacil-tRNAs especificados por codones Mg <sup>2+</sup> Factores de prolongación (Tu, Ts y G) GTP
4. Terminación	Peptidil transferasa ATP Codón de terminación en el mRNA Factores de liberación del polipéptido (R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> y S)
5. Plegamiento y transformación	Enzimas y cofactores específicos necesarios para la eliminación de los residuos iniciadores y de las secuencias conductoras de señalización, para la modificación de los residuos terminales, para la unión de grupos prostéticos del enzima, y para la modificación covalente de grupos R de aminoácidos específicos, por unión de grupos fosfato, metilo, carboxilo.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

### 7.6.3.1. CODIGO GENETICO

Seguidamente se va analizar el modo mediante el cual el lenguaje de cuatro letras del DNA se traduce en el lenguaje de veinte letras de las proteínas. Cada aminoácido está codificado, por tres restos nucleotídicos del DNA. Si las 4 bases se toman en grupos de 3, originan  $4^3=64$  combinaciones distintas. (27)

El código genético tiene algunas características notables (fig. 7-56).

En primer lugar, debe indicarse que 3 de los 64 tripletes nucleotídicos posibles (UAG, UAA y UGA) no codifican a ninguno de los aminoácidos conocidos; son los denominadas codones sin sentido.

La segunda característica principal reside en el hecho de que los vocablos del código aminoácido son idénticos en todas las especies que han sido investigadas, que incluyen a los seres humanos, a E. coli, a la planta del tabaco y a los anfibios, entre otras muchas especies, así como en los genomas virales. (27)(42)

**El código genético.**

Primera posición (extremo 5')	Segunda posición				Tercera posición (extremo 3')
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U C A G
	Phe	Ser	Tyr	Cys	
	Leu	Ser	<del>Leu</del>	<del>Leu</del>	
	Leu	Ser	<del>Leu</del>	Trp	
C	Leu	Pro	His	Arg	U C A G
	Leu	Pro	His	Arg	
	Leu	Pro	Gln	Arg	
	Leu	Pro	Gln	Arg	
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U C A G
	Ile	Thr	Asn	Ser	
	Ile	Thr	Lys	Arg	
	<del>Met</del>	Thr	Lys	Arg	
G	Val	Ala	Asp	Gly	U C A G
	Val	Ala	Asp	Gly	
	Val	Ala	Glu	Gly	
	Val	Ala	Glu	Gly	

Figura 7-56 Los codones están escritos en la dirección 5' ⇒ 3'. Existen tres codones de terminación denominados por la palabra "stop" y el codón de iniciación está formado por la secuencia AUG. Obsérvese que todos los aminoácidos, excepto la metionina y el triptófano, tienen más de un codón. Los vocablos del código aminoácido, tal como se muestra en el DNA, son complementarios y antiparalelos a los vocablos del código existente en el mRNA. Por ejemplo, los codones de la metionina en el mRNA y en el DNA serían.

mRNA (5') AUG (3') y en el DNA (3') TAC (5')

Normalmente, los codones y los anticodones se escriben de izquierda a derecha, es decir, en la dirección 5' ⇒ 3'.

FUENTE: LEHNINGER, 1991



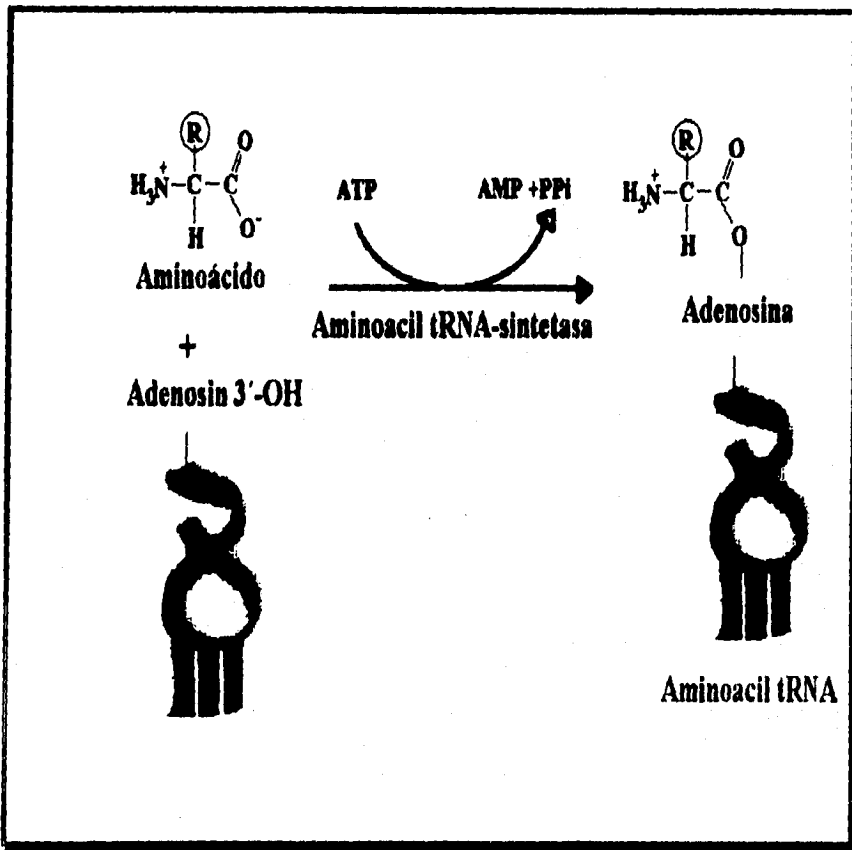


Figura 7-57 Activación de la biosíntesis de proteínas en procariotes.  
FUENTE. MATTHEWS, 1990

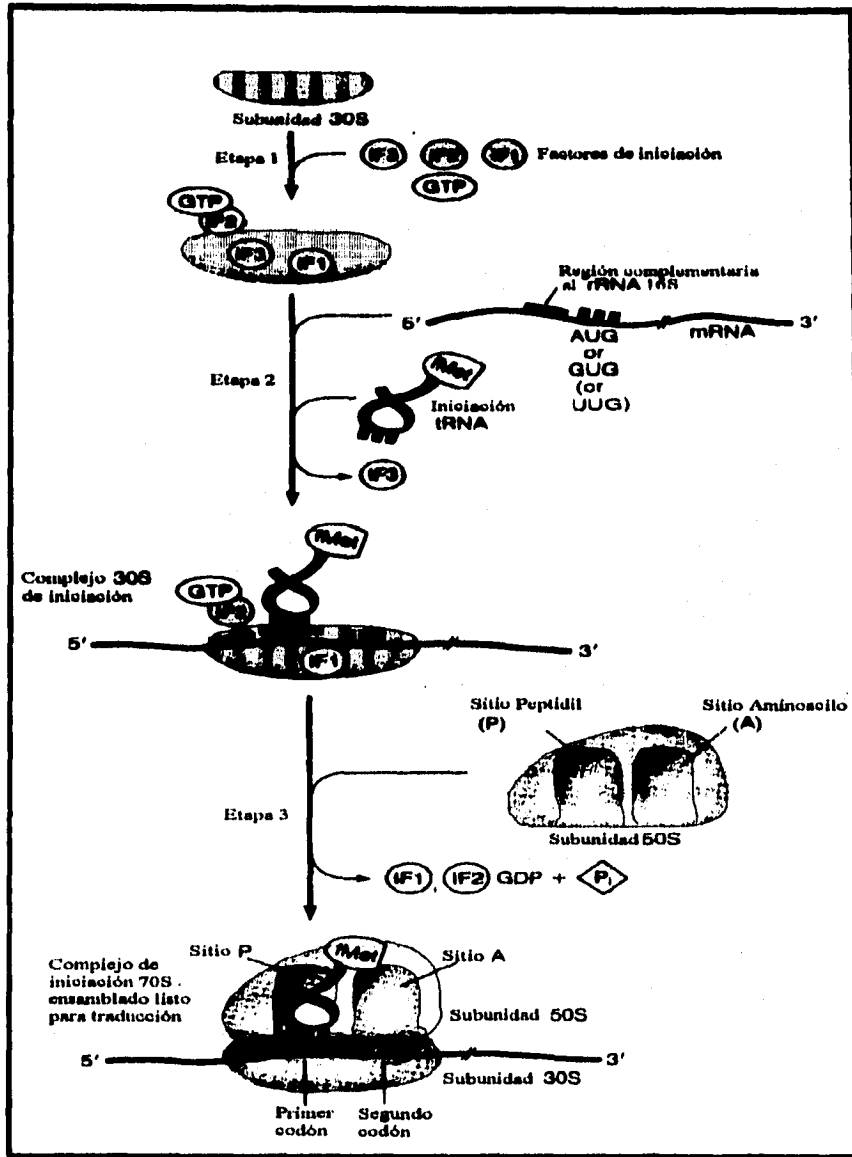


Figura 7-58 Iniciación de la biosíntesis de proteínas en procariotes.

FUENTE: MATHEWS, 1990

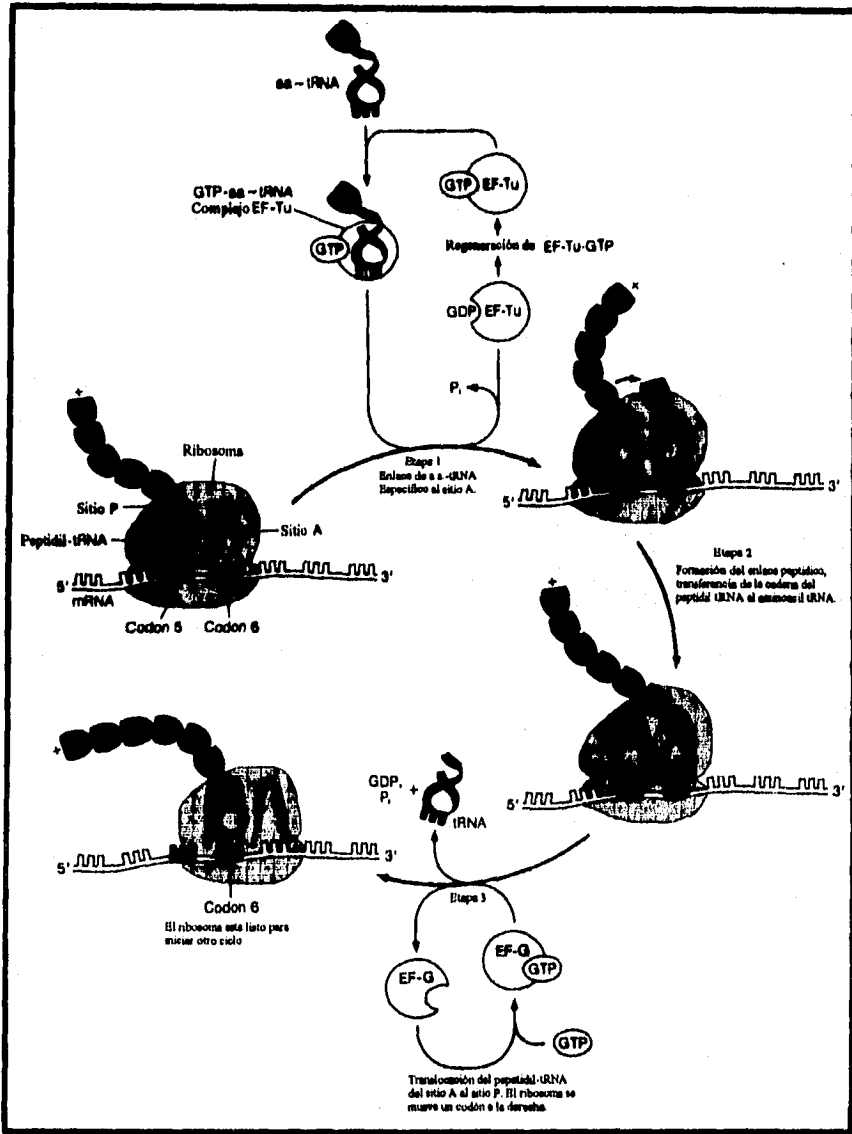


Figura 7-59 Elongación de la biosíntesis de proteínas en procaríotes.

FUENYI, MATTHEWS, 1990

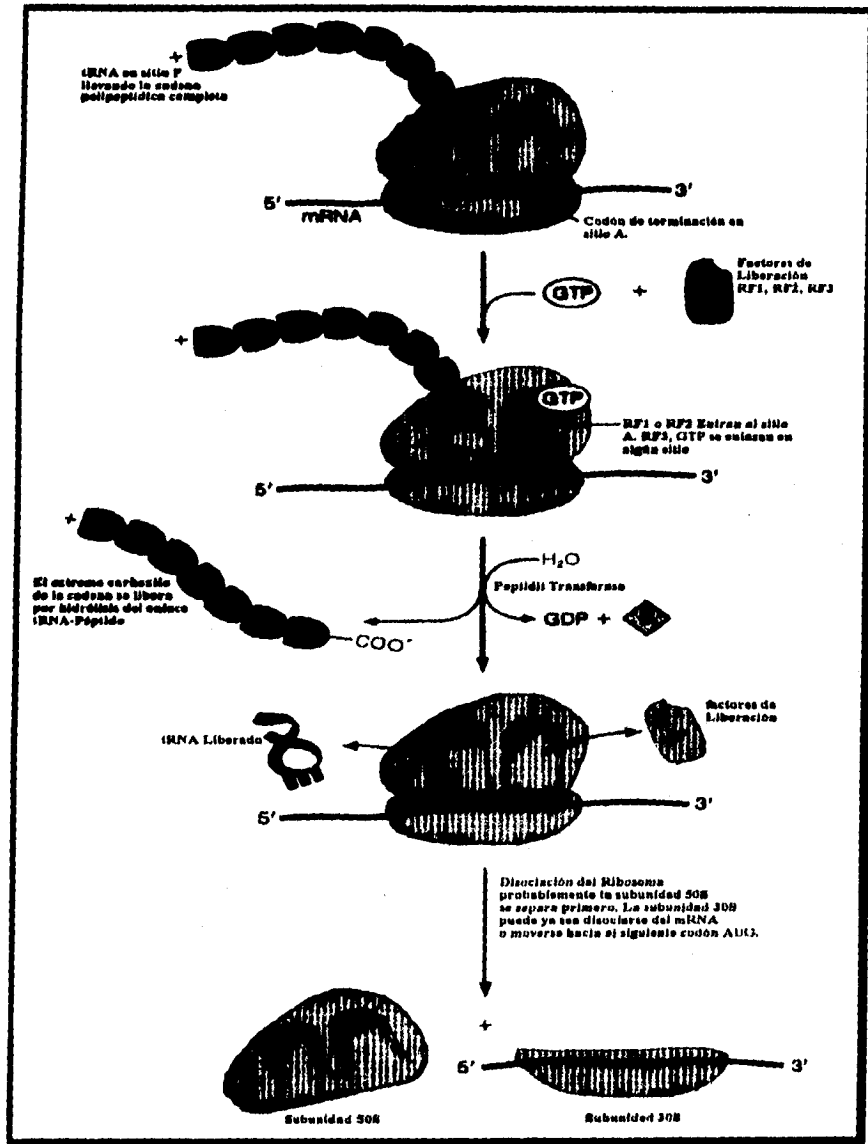


Figura 7-60 Terminación de la traducción en procariotes.

FUENTE: MATTHEWS, 1990

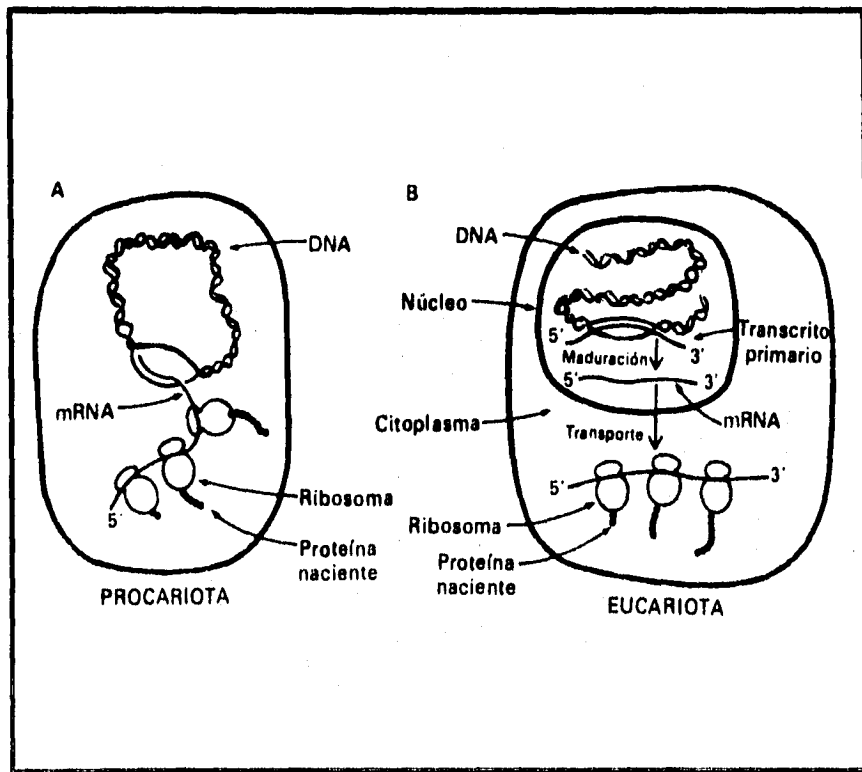


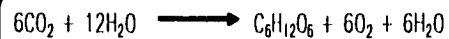
Figura 7-61 La transcripción y la traducción se asocian íntimamente en los procariotas, mientras que se separan espacial y temporalmente en los eucariotas. A) En los procariotas el transcrito primario sirve como mRNA y se utiliza inmediatamente como molde para la síntesis de proteínas. B) En los eucariotas, los precursores del mRNA se maduran y empalman en el núcleo antes de ser transportados al citosol.

FUENTE: STRYER, 1994



## 1. INTRODUCCIÓN

Los carbohidratos son una de las cuatro clases principales de biomoléculas, las otras tres son: las proteínas, ácidos nucleicos y lípidos. Los carbohidratos constituyen la mayor parte de la materia orgánica de la tierra a causa de sus variadas funciones en todos los seres vivos. Son la fuente más abundante y barata de alimentos de la naturaleza y por lo tanto los más consumidos por los seres humanos (en muchos países constituyen de 50 a 80% de la dieta del pueblo); los provenientes de las especies del reino vegetal son más variados y abundantes que los del reino animal. Son los principales compuestos químicos almacenadores de la energía radiante del sol; de hecho, la glucosa sintetizada en las plantas por el proceso de fotosíntesis representa la materia prima fundamental para la fabricación de la gran mayoría de ellos: el dióxido de carbono reacciona con agua para formar glucosa, con el consecuente desprendimiento de oxígeno:



A su vez, mediante diversas rutas bioquímicas, este azúcar da origen a muchos otros como la sacarosa y la fructosa, o bien a polímeros como la celulosa y el almidón. (3)(4)

La mayoría de los compuestos orgánicos que se encuentran en los plantas y en los animales son derivados de hidratos de carbono; la misma síntesis de proteínas se lleva a cabo con los aminoácidos provenientes de la reacción entre hidratos de carbono y diversas sustancias

nitrogenadas. Los azúcares simples no se suelen encontrar libres en la naturaleza, sino integrando polisacáridos, los que a su vez forman parte de la estructura firme del producto, en cuyo caso no son digeribles, o bien como reserva energética. (3)

Existe un gran número de hidratos de carbono; los más conocidos son la sacarosa, la glucosa, el almidón y la celulosa; existen otros que, aunque se encuentran en menor concentración en los productos que consumimos diariamente, tienen mucha importancia debido a sus propiedades físicas, químicas y nutricionales. (3)

La glucosa es la forma de hidrato de carbono más importante en el metabolismo de las células y su oxidación completa a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  por medio de la glucólisis y el ciclo de Krebs genera ATP, base energética de los sistemas biológicos. La reserva de estos compuestos en los animales y en las plantas son, respectivamente, el glucógeno y el almidón, polímeros de glucosas cuyo combustión genera 4 kcal/g; sin embargo, en la mayoría de los vegetales siempre existe una fracción de polisacáridos no digerible, denominada fibra cruda (vg. celulosa, pectinas y hemicelulosa), que al no ser metabolizada por el organismo humano, se elimina en las heces y no produce energía. (3)

Para el profesional en el área de alimentos es recomendable conocer la estructura química de los hidratos de carbono, ya que, ésta determina su funcionalidad y las características que repercuten de diferente manera en los alimentos, principalmente en el sabor, la viscosidad, la estructura y el color. Es decir, las propiedades de los alimentos, tanto naturales como procesados, dependen del tipo de hidrato de carbono que contengan y de las reacciones en que éstos intervienen. (3)

## 8.2. QUÍMICA DE LOS CARBOHIDRATOS

### 8.2.1. FUNCIÓN BIOLÓGICA

- Las enormes cantidades de almidón y de otros carbohidratos que se producen por fotosíntesis constituyen las fuentes últimas de energía y de carbono de las células no fotosintéticas de los animales, plantas y del mundo microbiano.
- Los carbohidratos, en forma de azúcar o de almidón, representan una parte principal del consumo calórico total de los humanos y de la mayor parte de las formas de vida animal, así como de muchos microorganismos.
- El almidón y el glucógeno actúan como reserva temporal de glucosa, el combustible primordial para generar energía.
- El ATP, la unidad biológica de energía libre, es un derivado de azúcar fosforilado (ver capítulo 6) como también lo son muchas coenzimas.
- Los azúcares de ribosa y desoxirribosa forman parte de la trama estructural del RNA y el DNA. La flexibilidad conformacional de los anillos de estos azúcares es importante en el almacenamiento y expresión genética. (ver capítulo 7)
- Los carbohidratos polímeros insolubles desempeñan el papel de elementos estructurales y de soporte en las paredes celulares de las bacterias y de las plantas y en los tejidos conectivos y las cubiertas celulares de animales.
- Otros carbohidratos actúan como lubricantes de las articulaciones del esqueleto, como adhesivos entre las células y para conferir especificidad biológica sobre la superficie de las células animales.

FUENTE: STRYER, 1994 y LEHNINGER, 1991



**8.2.2. CLASIFICACION DE CARBOHIDRATOS**

Los carbohidratos son polihidroxialdehidos o cetonas o sustancias que rinden tales compuestos por hidrólisis. El nombre de carbohidratos se debe originalmente al hecho de que la mayor parte de las sustancias de esta clase poseen fórmulas empíricas que sugieren que son "hidratos" de carbono en los que la relación de los átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno es 1:2:1. Por ejemplo, la fórmula empírica de la D-glucosa es  $C_6H_{12}O_6$ , que puede escribirse también  $(CH_2O)_6$  o  $C_6(H_2O)_6$ . Aunque muchos carbohidratos corrientes se adaptan a la fórmula  $(CH_2O)_n$ , otras no muestran esta relación y algunos contienen también nitrógeno, fósforo o azufre. (28)

Los carbohidratos se clasifican en base a su: 1) Grado de hidrólisis, 2) No. de carbonos y 3) gpo. funcional (aldehido o cetona, ver sección 8.2.3.1.).

**Tabla 8-1 Clasificación General De Carbohidratos.**

GRADO DE HIDROLISIS	No. DE CARBONOS	GRUPO FUNCIONAL	
		ALDEHIDO	CETONA
MONOSACARIDOS	3. TRIOSAS	ALDOTRIOSAS	CETOTRIOSAS
	4. TETROSAS	ALDOTETROSAS	CETOTETROSAS
	5. PENTOSAS	ALDOPENTOSAS	CETOPENTOSAS
	6. HEXOSAS	ALDOHEXOSAS	CETOHEXOSAS
OLIGOSACARIDOS (ej. disacáridos)	VARIABLE (CONSTITUIDOS POR CADENAS CORTAS DE UNIDADES DE MONISACARIDOS.)	ej. SACAROSA. CONSTITUIDO POR LOS AZUCARES D-GLUCOSA Y D-FRUCTOSA	
POLISACARIDOS	VARIABLE (CONSTITUIDOS POR CADENAS LARGAS QUE POSEEN CENTENARES O MILLARES DE UNIDADES DE MONISACARIDOS).	ej. ALMIDON, GLUCOGENO, Y CELULOSA	

FUENTE: ALBERTS, ET. AL., 1990

Tabla 8-2 Clases Principales De Carbohidratos.

Clases.	Características.
Monosacáridos o azúcares simples.	(La palabra "sacárido" se deriva de un vocablo griego que significa azúcar). Los <i>monosacáridos</i> están constituidos por una sola unidad de polihidroxialdehído o cetona. El monosacárido más abundante en la naturaleza es la D-glucosa, azúcar de 6 carbonos.
Oligosacáridos.	(Del griego oligos, "pocos") están constituidos por cadenas cortas de unidades de monosacáridos, unidas mediante enlaces covalentes. Las más abundantes de éstos son los <i>disacáridos</i> que poseen dos unidades de monosacárido. Es típica la sacarosa o <i>azúcar de caña</i> , constituida por los azúcares de 6-carbonos D-glucosa y D-fructosa, unidas por enlace covalente. La mayor parte de los oligosacáridos que poseen tres o más unidades no se hallan en forma libre sino que se hallan unidas como cadenas laterales o polipéptidos en las <i>glucoproteínas</i> y en las <i>prateoglucanos</i> .
Polisacáridos.	Están constituidos por cadenas largas que poseen centenares o millares de unidades de monosacárido. Algunos polisacáridos tales como la <i>celulosa</i> , poseen cadenas lineales, mientras que otros, tales como el <i>glucógeno</i> , poseen cadenas ramificadas. Los polisacáridos más abundantes, el <i>almidón</i> y la <i>celulosa</i> del mundo vegetal, están constituidas por unidades de D-glucosa que se repiten, pero se diferencian en el modo como están unidas las unidades de D-glucosa entre si. Los monosacáridos y disacáridos corrientes tienen todos nombres terminados en el sufijo -asa.

FUENTE: DEVLIN, 1992; LEIBINGER, 1991 y MATHEWS, 1990

### 8.2.3. PROPIEDADES Y ESTRUCTURAS DE MONOSACARIDOS

#### PROPIEDADES

Los monosacáridos son sólidos incoloros, cristalinos, muy solubles en el agua pero insolubles en disolventes no polares. La mayor parte tienen sabor dulce. (9)

Como se ha indicado antes, los monosacáridos corrientes tienen la fórmula empírica  $(CH_2O)_n$ , en donde  $n=3$  o un número mayor. El esqueleto de los monosacáridos es una cadena carbonada sencilla, con los carbonos unidos por enlace simple y que no posee ramificaciones. Uno de los átomos de carbono está unido por enlace doble a un átomo de oxígeno para formar un grupo carbonilo, cada uno de los demás átomos de carbono poseen un grupo hidroxilo. (34)

#### 8.2.3.1. FAMILIAS DE MONOSACARIDOS. ALDOSAS Y CETOSAS

Si el grupo carbonilo se halla al extremo de la cadena carbonada, el monosacárido es un aldehído y se llama *aldosa*, si el grupo carbonilo se halla en cualquier otra posición, el monosacárido es una cetona y se llama *cetosa*. Los monosacáridos más sencillos son los de 3-carbonos o triosas: el gliceraldehído, una aldosa, y la dihidroxiacetona, una cetosa (fig. 8-1). (27)(30)

Los monosacáridos que poseen 4, 5, 6, y 7 átomos de carbono en sus esqueletos reciben, respectivamente, el nombre de *tetrosas*, *pentosas*, *hexosas* y *heptosas*. Cada una de ellas existe en dos series: aldosterosas y cetotriosas, aldopentosas y cetopentosas, y así sucesivamente. Las hexosas, entre las que se halla la aldohexosa, D-glucosa, y la cetohexosa, D-fructosa (fig. 8-2), son los monosacáridos más abundantes en la naturaleza. Las aldopentosas D-ribosa y 2-desoxi-D-ribosa son componentes de los ácidos nucleicos (ver capítulo 7). (43)

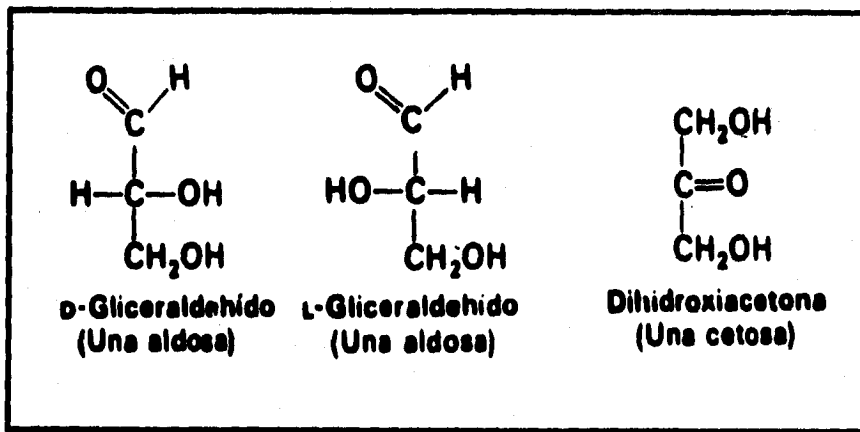


Figura 8-1 Representación de dos triosas.

FUENTE: STRYER, 1994

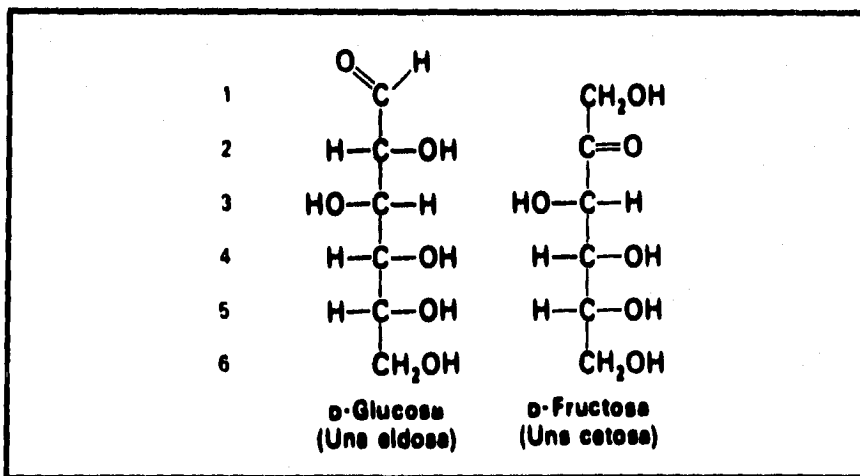


Figura 8-2 Representación de dos hexosas comunes, la D-glucosa y la D-fructosa.

FUENTE: STRYER, 1994

**8.2.3.2. CENTROS ASIMÉTRICOS DE LOS MONOSACÁRIDOS COMUNES**

Todos los monosacáridos, excepto la dihidroxiacetona, contienen uno o más átomos de carbono asimétricos o quirales y aparecen, por tanto, en formas isómeras ópticamente activas. La aldosa más sencilla, el gliceraldehído contiene solamente un centro quiral, y por tanto, es capaz de existir en forma de 2 isómeros ópticos diferentes que son entre sí imágenes especulares no superponibles (fig. 8-3). Las aldohexosas poseen 4 centros quirales y pueden existir en forma de  $2^n = 2^4 = 16$  estereoisómeros diferentes, entre los cuales está la forma corriente de la glucosa; es decir, la D-glucosa. Las figuras 8-4 y 8-5 muestran las estructuras de las aldosas y cetosas, respectivamente, que contienen 3, 4, 5 y 6 átomos de carbono de la serie D. (27)(51)

Los monosacáridos corrientes que aparecen en la naturaleza (con excepción de la dihidroxiacetona) son ópticos. La D-glucosa, forma común de la glucosa en la naturaleza, es dextrorrotatoria, con una rotación específica de  $[\alpha]_D^{20} = +52,7^\circ$ , mientras que la D-fructosa, forma común de la fructosa es levorrotatoria ( $[\alpha]_D^{20} = -92,4^\circ$ ). Al igual que las formas estereoisómeras de los aminoácidos (capítulo 4), los estereoisómeros de los monosacáridos pueden relacionarse todos con un compuesto de referencia estándar, el gliceraldehído, que tiene una forma D y una forma L (fig. 8-3). Sin embargo, como muchas de las aldosas poseen dos o más centros quirales, los prefijos D- y L- se emplean para referirse a la configuración del carbono quiral más distante del átomo de carbono carbonílico. Cuando el grupo hidroxilo del carbono quiral más distante se proyecta hacia la derecha de la fórmula de proyección, designa a un azúcar D y cuando se proyecta hacia la izquierda, designa a un azúcar L. De modo semejante pueden escribirse las estructuras de todas las D-cetosas de hasta 6 átomos de carbono, todas tienen la misma configuración en el átomo de carbono asimétrico más distante del grupo carbonilo. (27)

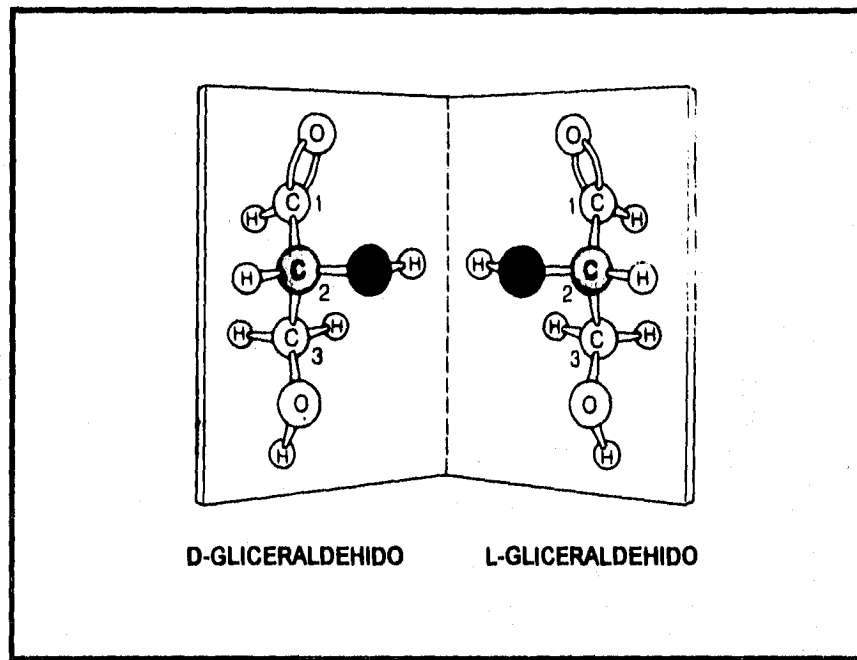


Figura 8-3 Estereoisómeros del gliceraldehído.

FUENTE. MATHEWS, 1990

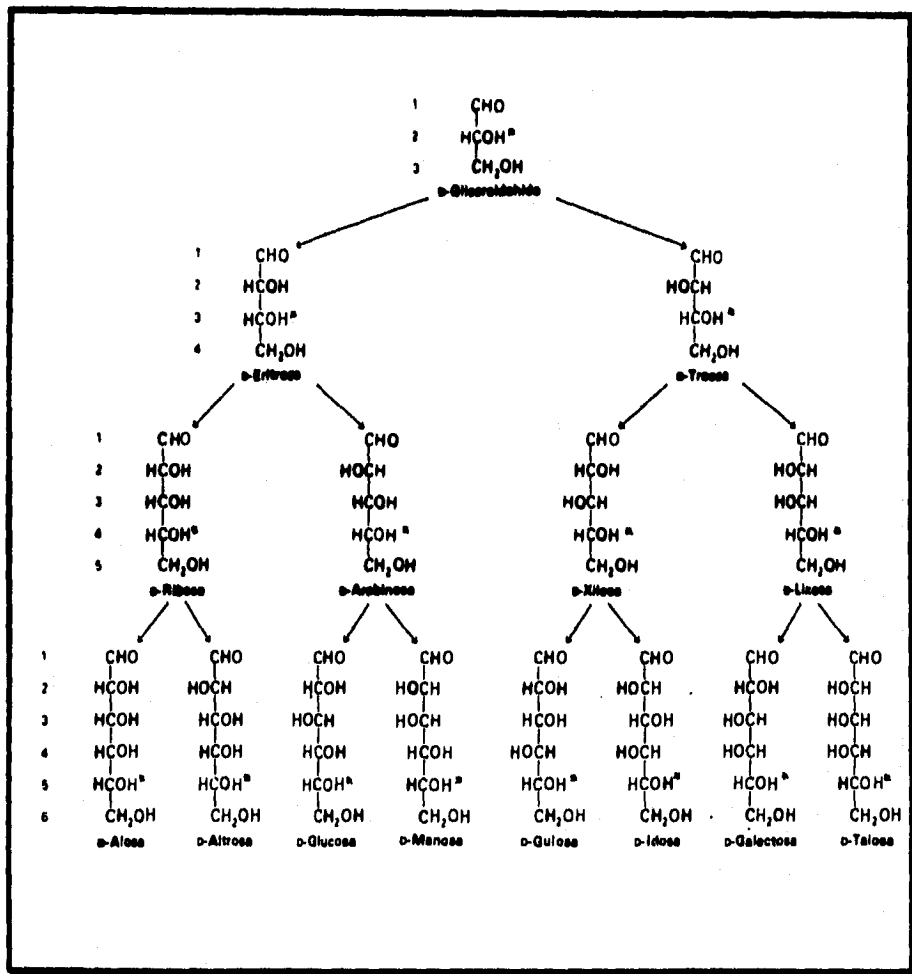


Figura 8-4 Relaciones estereoquímicas de las D-aldosas que contienen 3, 4, 5 y 6 átomos de carbono. Estos azúcares son D-aldosas porque contienen un grupo aldehído y tienen la configuración del D-gliceraldehído en su centro asimétrico más alejado del grupo carbonilo.<sup>a</sup>

FUENTE: STRYER, 1994

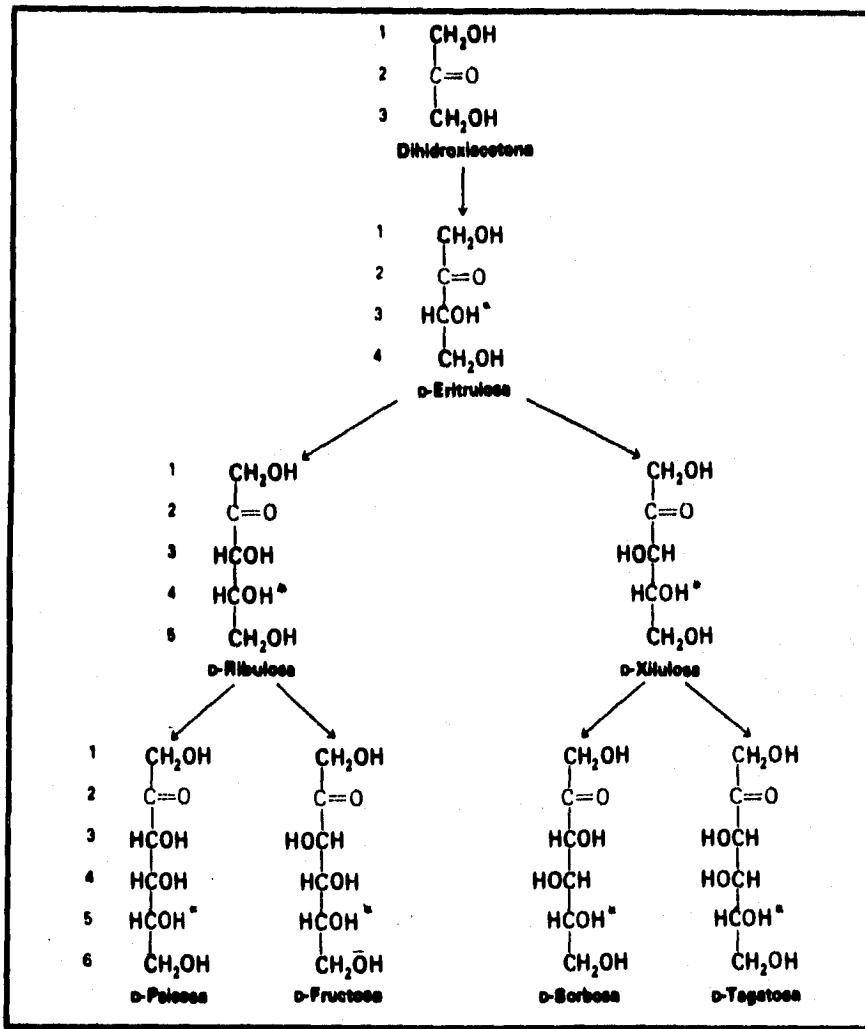


Figura 8-5 Relaciones estereoquímicas de las D-cetosas que contienen 3, 4, 5 y 6 átomos de carbono. Estos azúcares son D-cetosas porque contienen un grupo ceto y tienen la configuración del D-gliceraldehído en su centro asimétrico más alejado del grupo carbonilo.<sup>9</sup>

FUENTE: STRYER, 1994



Cuando dos azúcares difieren solamente en la configuración entorno de un átomo de carbono específico, reciben el nombre de *epímeros* entre sí. La D-glucosa y la D-manosa son epímeros con respecto al átomo de carbono 2 y la D-glucosa y la D-galactosa son epímeros con respecto al átomo de carbono 4 (fig.8-6). (48)

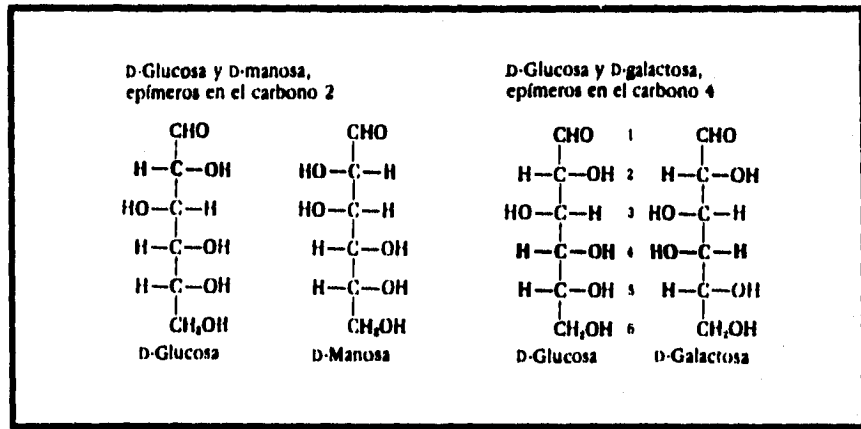


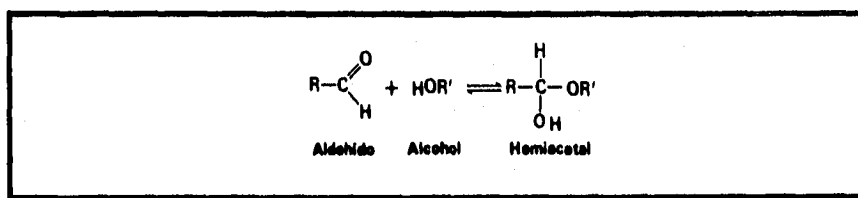
Figura 8-6 Dos epímeros de la D-glucosa.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

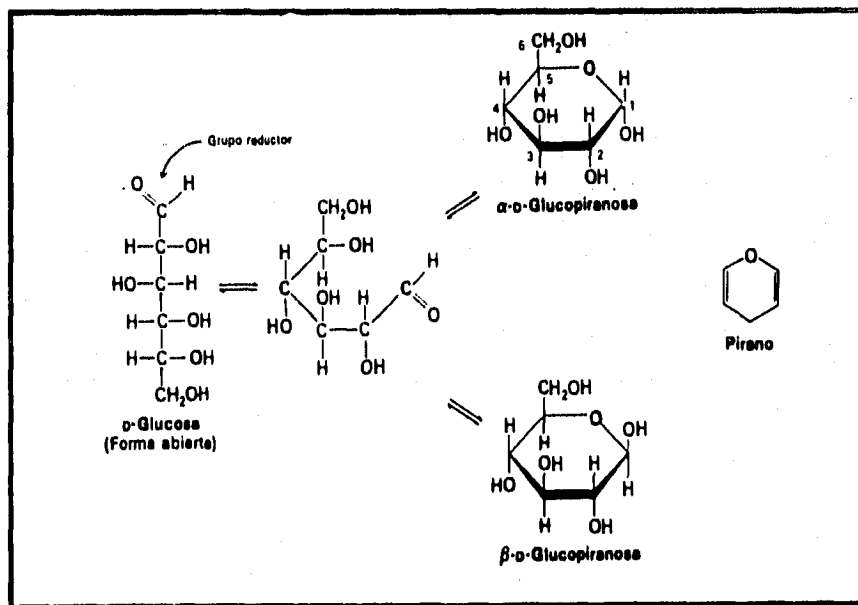
### 8.2.3.3. LOS MONOSACARIDOS COMUNES APARECEN EN FORMA CICLICA

En las figuras 8-1 a 8-6 se hallan escritas las estructuras de varias aldosas y cetosas en forma de cadena lineal. Aunque estas estructuras son correctas para los triosas y las tetrasas, los monosacáridos de 5 o más átomos de carbono en su esqueleto aparecen habitualmente en disolución en forma de estructuras cíclicas o anulares en las que el grupo carbonilo no se halla en forma libre, como en las estructuras citadas, sino que ha formado un enlace covalente con uno de los grupos hidroxilos situados a lo largo de la cadena. (28)

Las formas predominantes de la glucosa y fructosa en disolución no son las de la cadena abierta, sino que estas cadenas se ciclan en anillos. En general, el grupo aldehído puede reaccionar con un alcohol para formar un hemiacetal. (43)

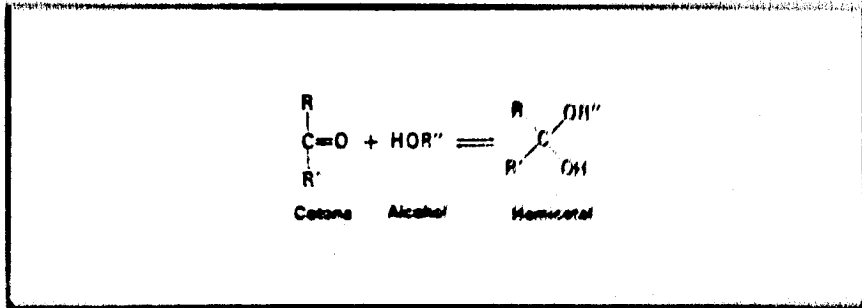


El aldehído del C-1 de la forma abierta de la glucosa reacciona así con el hidroxilo del C-5 para formar un hemiacetal intramolecular. El anillo resultante de seis eslabones se llama piranósico por su semejanza con el pirano. (43)

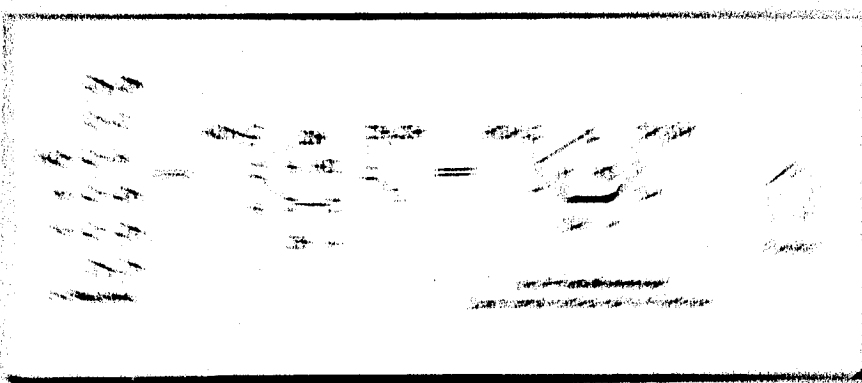


• La posición del "OH" indica si el isómero es  $\alpha$  o  $\beta$ .

Un número semejante al grupo cetona puede reaccionar con un alcohol para formar un hemiacetal.

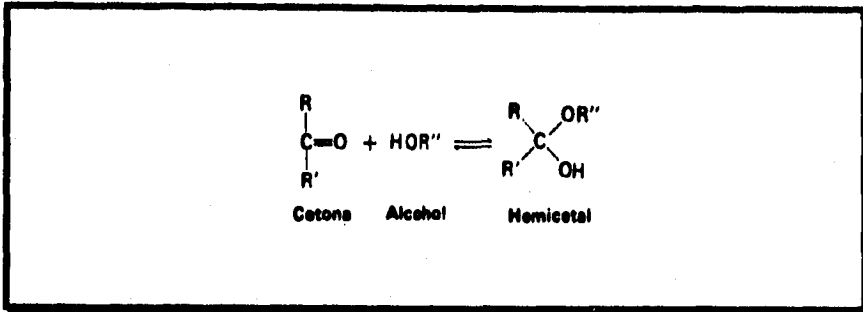


El grupo cetona de un azúcar puede reaccionar con un alcohol para formar un hemiacetal. Este tipo de reacción es reversible y se denomina hemiacetalización.

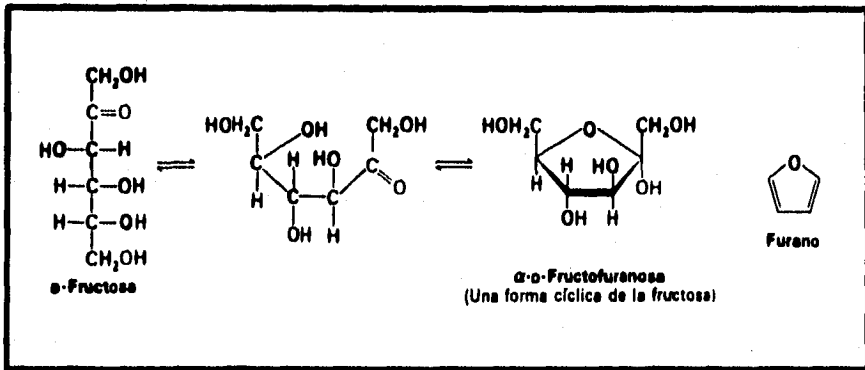


Este tipo de reacción es reversible y se denomina hemiacetalización. En los azúcares, este tipo de reacción es fundamental para la formación de los ciclos piranosianos.

De manera semejante el grupo cetona puede reaccionar con un alcohol para formar un hemicetal.



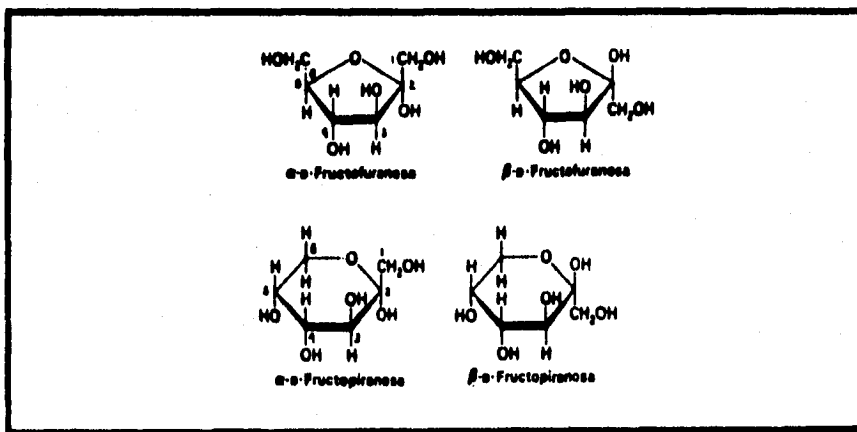
El grupo ceto del C-2 de la forma abierta de la fructosa puede así reaccionar con el hidroxilo del C-5 para formar un hemicetal intramolecular. Este anillo de cinco estabanes se denomina furanósico por su semejanza con el furano. (43)



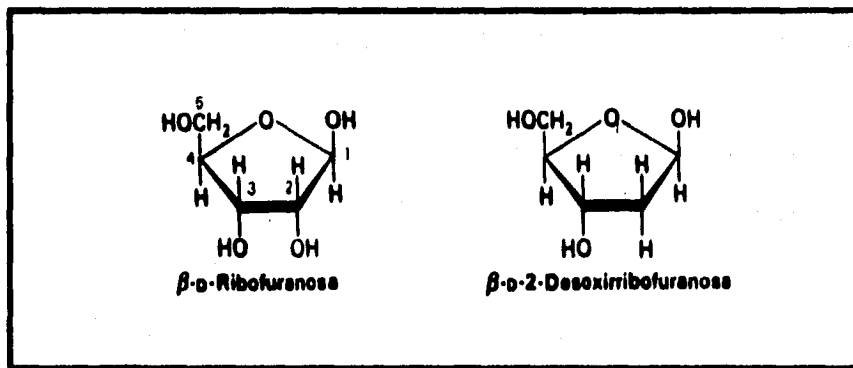
Las fórmulas estructurales de glucopiranosas y fructofuranosas son proyecciones de Haworth. En estas proyecciones no se muestran explícitamente los átomos de carbono del anillo. El plano aproximado del anillo es perpendicular al plano del papel, estando la línea gruesa del anillo más cerca del espectador.

Cuando se cicla la glucosa se crea un nuevo centro de asimetría. El carbono-1, el átomo de carbono carbonílico en la forma de la cadena abierta, se convierte en un centro asimétrico en la forma cerrada. Al cerrarse el anillo se pueden formar dos estructuras: la  $\alpha$ -D-glucopiranososa y la  $\beta$ -D-glucopiranososa. En la serie de azúcares D la designación  $\alpha$  significa que el grupo hidroxilo unido al C-1 queda por debajo del plano del anillo;  $\beta$  significa que está por encima del plano. Al carbono C-1 se le denomina átomo de carbono anomérico y por ello las formas  $\alpha$  y  $\beta$  son anómeras. (43)(44)

Se aplica la misma nomenclatura a las formas de la fructosa ciclada en anillo furanósico, con la excepción de que  $\alpha$  y  $\beta$  se refieren a los grupos hidroxilo unidos al C-2, el átomo de carbono anomérico de las cetosas. La fructosa forma también anillos piranósicos. De hecho, la forma piranósica es la predominante en la fructosa libre, mientras que la furanósica es la principal en la mayoría de sus derivados. (43)



Los azúcares de cinco carbonos, como la D-ribosa y la D-desoxirribosa, forman anillos furanósicos, como se ha visto en la estructura química del RNA y el DNA (ver capítulo 7).



En disoluciones acuosas, la  $\alpha$ -D-glucopiranososa y la  $\beta$ -D-glucopiranososa se interconvierten a través de la forma abierta del azúcar. Esta interconversión llamada mutarrotación fué detectada hace muchos años por la rotación óptica (la rotación de la luz polarizada), una técnica espectroscópica sensible a la asimetría molecular. De igual forma, los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$  de las formas piranósicas y de los furanósicos de la fructosa se interconvierten a través de la forma abierta. Algunas células contienen mutarrotasas, enzimas que aceleran la interconversión de azúcares anoméricos. (43)

**8.2.3.4. CONFORMACION ESPACIAL DE LOS ANILLOS PIRANOSICOS Y FURANOSICOS**

El anillo piranósico de seis eslabones no puede ser plano debido a la geometría tetraédrica de los átomos de carbono saturados. En su lugar, los anillos piranósicos adoptan conformaciones de silla y de bote (fig. 8-7). Los sustituyentes de los carbonos del anillo son de dos tipos: axiales y ecuatoriales. (30)(43)

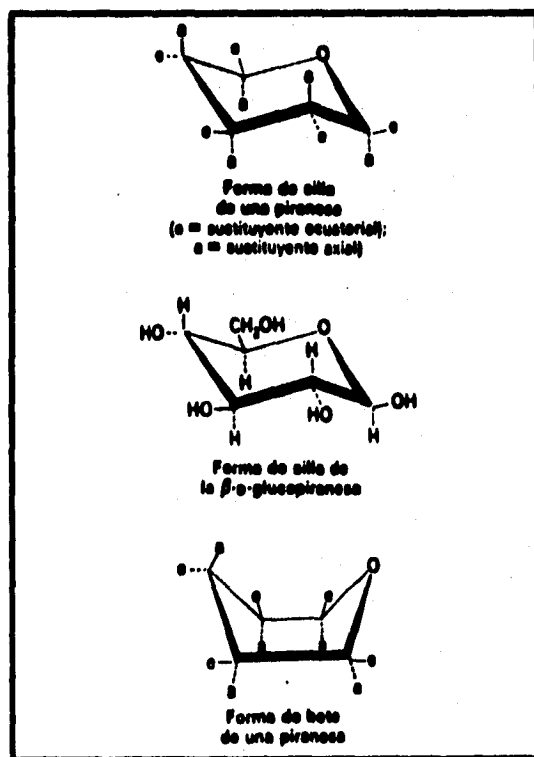


Figura 8-7 Conformaciones de los anillos de piranosa en silla y bote. La forma de silla resulta energéticamente más favorecida.

FUENTE: STRYER, 1994

Los anillos furanósicos tampoco son planos. Pueden doblarse de modo que cuatro de sus átomos son prácticamente coplanares y el quinto átomo está alejado 0,5 Å de este plano. Esta conformación se conoce como *forma de sobre* porque recuerda un sobre abierto con la solapa levantada. (fig. 8-8).

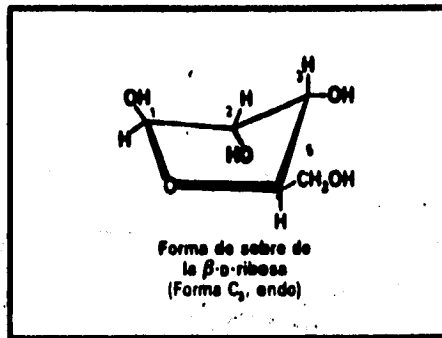


Figura 8-8 Forma de sobre de la  $\beta$ -D-ribosa.

FUENTE: STEVENS, 1994

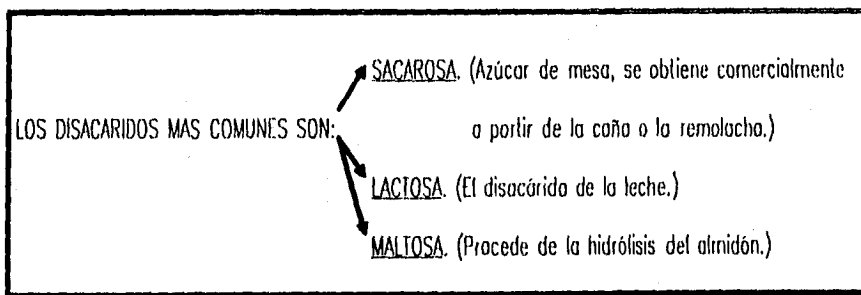
### 8.2.3.6. LOS MONOSACARIDOS SIMPLES SON REDUCTORES

Los monosacáridos reducen con facilidad a agentes oxidantes como el ferricianuro, el peróxido de hidrógeno o el ión cúprico ( $\text{Cu}^{2+}$ ). En estas reacciones el azúcar se oxida en el grupo carbonilo y el agente oxidante se reduce. (Recuérdese que los agentes reductores son donadores de electrones y los agentes oxidantes aceptan electrones). La glucosa y otros azúcares capaces de reducir a los agentes oxidantes se llaman *azúcares reductores*. Esta propiedad es útil en el análisis de los azúcares. Midiendo la cantidad de un agente oxidante que es reducido por una disolución de azúcar resulta posible valorar la concentración de azúcar. Pueden analizarse de este modo la orina y la sangre para determinar su contenido en glucosa en el diagnóstico de la *diabetes mellitus*, en la que el nivel de la glucosa en la sangre es anormalmente elevado y se produce una excreción urinaria excesiva de glucosa. (30)(43)



### 8.2.4. PROPIEDADES Y ESTRUCTURA DE DISACARIDOS

Los disacáridos son también abundantes en la naturaleza. Los disacáridos están constituidos por dos monosacáridos unidos entre sí por covalencia. En la mayor parte de los disacáridos el enlace químico que liga a los dos unidades de monosacáridos se llama *enlace glucosídico* y se forma cuando un grupo hidroxilo de uno de los azúcares reacciona con el carbono del segundo azúcar. Los enlaces glucosídicos se hidrolizan con facilidad por los ácidos pero resisten a la acción hidrolítica de las bases. Así, los disacáridos pueden hidrolizarse para dar sus componentes monosacáridos libres por ebullición con ácido diluido. (27)



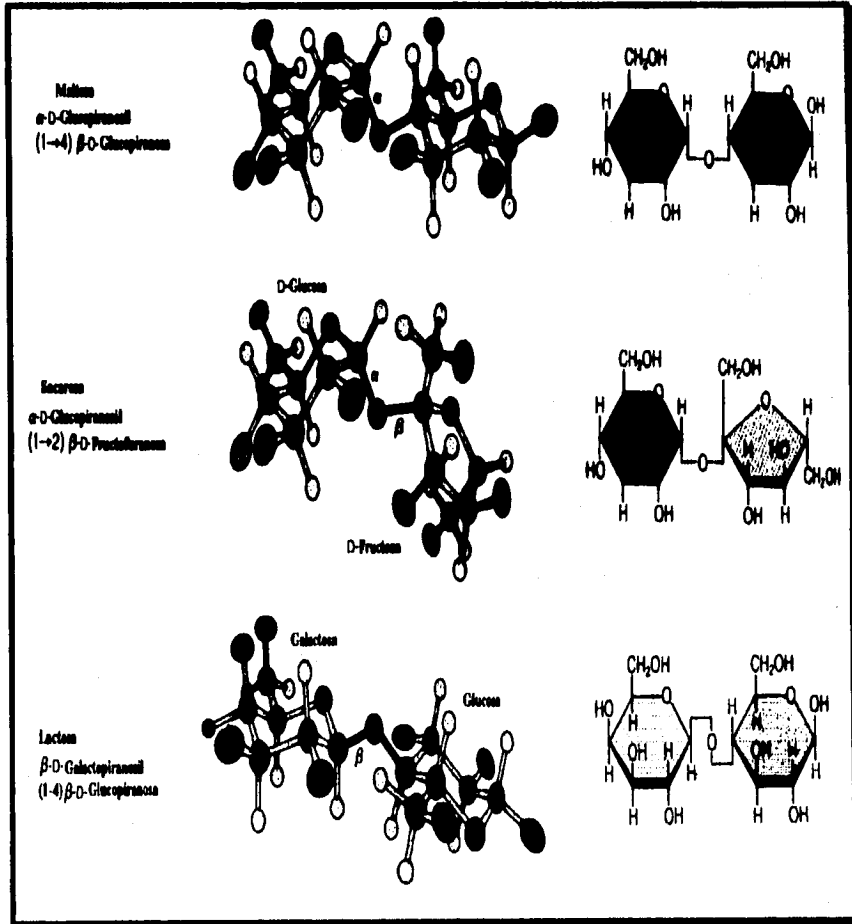


Figura 8-9 Fórmulas de los tres disacáridos más abundantes: sacarosa, lactosa y maltosa. La maltosa y la lactosa aquí representadas presentan el carbono anomérico en configuración  $\alpha$ .

FUENTE: METHUEWS, 1990

Tabla 8-3 Propiedades De Los Tres Disacáridos Mas Comunes.

Disacárido	Propiedades
SACAROSA	<p>Azúcar constituido por glucosa y fructosa. Lo forman muchas plantas pero no aparece en los animales superiores. En contraste con la maltosa y la lactosa, la sacarosa no contiene ningún átomo de carbono anomérico libre, ya que los carbonos anoméricos de sus dos unidades monosacáridas constituyentes se hallan unidas entre si (fig. 8-9). Por esta razón la sacarosa no es un azúcar reductor.</p> <p>Los animales no pueden absorber sacarosa como tal, pero pueden disponer de ella para su absorción, por la intervención del enzima <u>sacarasa</u>, también llamado <u>invertasa</u>, que se halla en las células que recubren el intestino delgado hidrolizando la sacarosa a D-glucosa y D-fructosa, que son fácilmente absorbidos y posan a la sangre.</p> <p>La sacarosa es, con ventaja, el más dulce de los tres disacáridos comunes. Es, también, más edulcorante que la glucosa (tabla 8-4). Se ha desarrollado un nuevo proceso industrial para manufacturar un edulcorante más dulce a partir de la D-glucosa. En este proceso, se hidroliza primero el almidón para obtener D-glucosa en forma de jarabe de maíz, disolución neutra concentrada de D-glucosa. Se deja fluir por una columna grande rellena de un material de soporte inerte, al que se ha unido por enlace covalente el enzima <u>glucosa isomerasa</u>, de diferentes procedencias vegetales. El enzima inmovilizado sobre el soporte inerte, cataliza la reacción reversible.</p> <div style="text-align: center; border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 10px auto;"> <math display="block">D\text{-glucosa} \rightleftharpoons D\text{-fructosa}</math> </div> <p>Originando una mezcla equimolar de estos 2 monosacáridos. Como la D-fructosa posee</p>

un poder edulcorante 2,5 veces superior que la D-glucosa (tabla 8-4), el poder edulcorante del jarabe de maiz aumenta mucho. Este nuevo producto se emplea profusamente en alimentación, refrescos y helados.

Recientemente se ha puesto en el mercado un nuevo producto, fructosa, del 90% de pureza, obtenida también por el procedimiento de la isomerasa, para emplearlo como edulcorante de mesa, pero su precio es el doble que el de la sacarosa, por unidad de peso.

Edulcorantes artificiales que no poseen ningún valor como alimentos se han desarrollado particularmente para pacientes obesos o diabéticos, para quienes el exceso de consumo de azúcar es dañino. Los edulcorantes artificiales estimulan las mismas papilas gustativas de la lengua que son estimulados por los azúcares, pero no son empleados como alimentos por el organismo. El edulcorante artificial empleado con más profusión es la sacarina (fig. 8-10), que posee un poder edulcorante 400 veces superior al de la sacarosa (tabla 8-4). Otro edulcorante que en los últimos años se ha empleado con gran frecuencia es el aspartamo (fig. 8-10), que es de 100 a 200 veces más dulce que la sacarosa (tabla 8-4) y aparentemente no tiene un resabio amargo como otros edulcorantes.

**LACTOSA**

El disacárido lactosa (fig. 8-9) que rinde D-galactosa y D-glucosa por hidrólisis, aparece solamente en la leche. Como posee un grupo carbonilo libre, potencialmente, sobre el residuo de glucosa, la lactosa es un disacárido reductor. Durante la digestión la lactosa experimenta hidrólisis enzimática por la lactasa de las células de la mucosa intestinal. La lactosa no puede ser absorbida del intestino o la corriente sanguínea a

	<p>menos que haya experimentado primero la hidrólisis en sus unidades monosacáridas, la lactosa permanece sin ser absorbida en el tracto intestinal de los individuos intolerantes a la lactosa, provocando diarrea, dolores y flujo intestinal anormal.</p>
<b>MALTOSA</b>	<p>C contiene 2 residuos de D-glucosa, unidos por un enlace glucosídico entre el átomo de carbono 1 (el carbono anomérico) del primer residuo de glucosa y el átomo de carbono 4 de la segunda glucosa (fig. 8-9). Los dos residuos de glucosa de la maltosa se hallan en forma de piranosa. La maltosa es un azúcar reductor ya que posee un grupo carbonilo libre, potencialmente, que puede oxidarse. El segundo residuo de glucosa de la maltosa es capaz de existir en formas <math>\alpha</math> y <math>\beta</math>; la forma <math>\alpha</math>, que se muestra en la figura 8-9, se forma por la acción del enzima <u>amilasa</u> salivar sobre el almidón. La maltosa se hidroliza, rindiendo dos moléculas de D-glucosa por la <u>maltasa</u>, enzima intestinal, que es específico para el enlace <math>\alpha(1 \rightarrow 4)</math>. El disacárido <u>celobiosa</u> contiene, también dos residuos de D-glucosa, pero se hallan unidos por enlace <math>\beta(1 \rightarrow 4)</math>.</p>

FUENTE: LEHNINGER, 1991, SILVER, 1994 y ARMSTRONG, 1989

Tabla 8-4 Poder Edulcorante De Algunos Azúcares Y De La Sacarina.

Azúcar	Relación de edulcoración
Sacarosa	100
Glucosa	70
Fructosa	170
Maltosa	30
Lactosa	16
Sacarina	40000
Aspartamo	10000-20000

FUENTE: RADUI, 1999 Y LEHNINGER, 1991

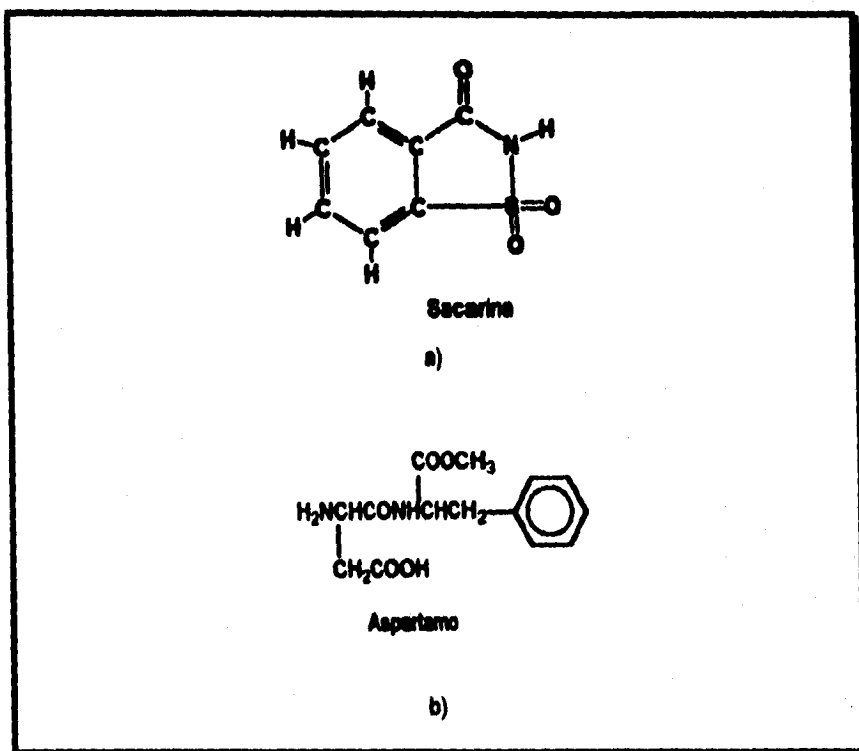


Figura 8-10 Estructura química de dos edulcorantes empleados frecuentemente. a) Sacarina, edulcorante artificial sin valor alimenticio. b) Aspartamo, que es el éster metílico del dipéptido L-aspartil-L-fenilalanina y consecuentemente, se metaboliza como cualquier otro péptido, generando dos aminoácidos. Su empleo se ha difundido mucho en la última década, sobre todo en la industria de las bebidas refrescantes bajas en calorías. El problema que presenta su consumo es que algunas personas a las que se les llama fenilcetonúricos son intolerantes a concentraciones elevadas de fenilalanina porque tienen una deficiencia de la enzima hidroxilasa de la fenilalanina o de sus derivados, en la sangre provoca una mielización deficiente del cerebro, y en consecuencia, un retraso mental. (3)

FUENTE: BADAU, 1993 Y LEHNINGER, 1991

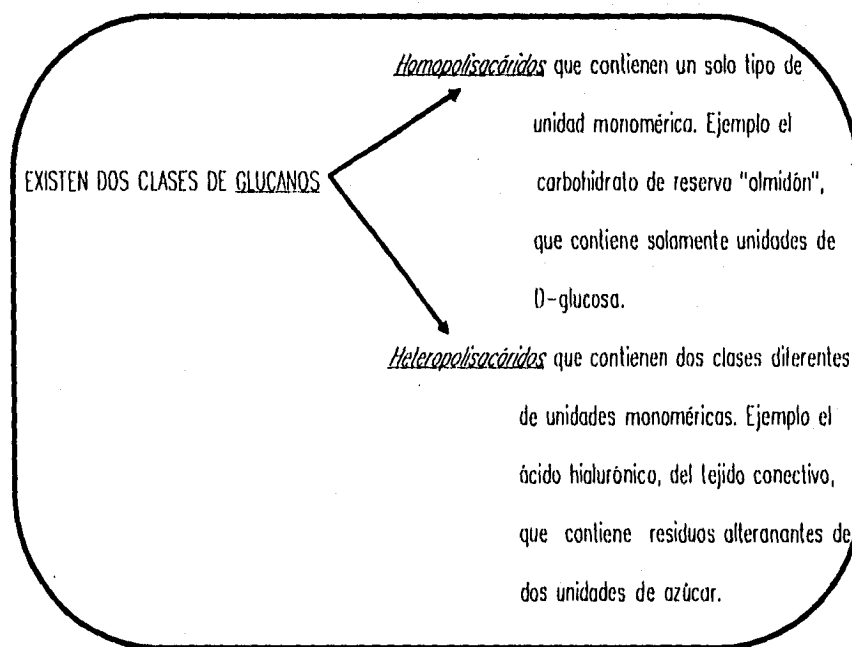
En la naturaleza los monosacáridos son de la serie D, se ha comprobado que algunos de la serie L tienen un poder edulcorante semejante al de los primeros, pero con la gran ventaja que no producen calorías porque no son metabolizados. (3)

### 8.2.5. PROPIEDADES Y ESTRUCTURAS DE LOS PRINCIPALES

#### POLISACARIDOS

La mayor parte de los carbohidratos que se encuentran en la naturaleza aparecen como polisacáridos de peso molecular elevado. Algunos polisacáridos desempeñan biológicamente el papel de formas de reserva de los monosacáridos mientras que otros actúan como elementos estructurales en las paredes celulares y en los tejidos conectivos. Por hidrólisis completa, mediante enzimas específicos o con ácidos, los polisacáridos rinden monosacáridos o sus derivados.

Los polisacáridos llamados también glucanos, difieren en la naturaleza de sus unidades monosacáridas, en la longitud de sus cadenas y en el grado de ramificación. (9)(12)(27)



FUENTE: DEVLIN, 1992 Y LEHNINGER, 1991

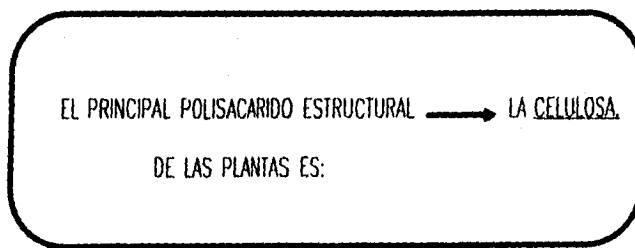
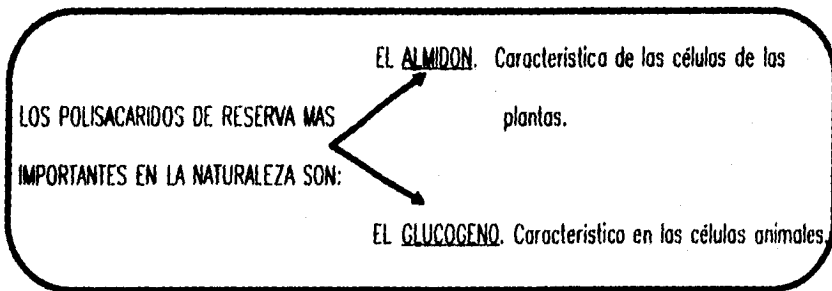




Tabla 8-5 Características De Los Principales Polisacáridos Estructurales Y De Reserva.

Glucógeno	<p>Las células animales almacenan glucosa en forma de glucógeno. El glucógeno es un polisacárido ramificado, de la D-glucosa. La mayoría de las unidades de glucosa del glucógeno están unidas por enlace <math>\alpha(1 \rightarrow 4)</math> glicosídicos. Las ramificaciones se forman por enlaces <math>\alpha(1 \rightarrow 6)</math> glicosídicos y aparecen en una de cada diez unidades de glucosa (fig. 8-11). Estas ramificaciones sirven para aumentar la solubilidad del glucógeno y facilitan la liberación de unidades de glucosa. El glucógeno es especialmente abundante en el hígado, en donde puede alcanzar hasta el 7% del peso húmedo; se halla presente, también, en el músculo esquelético. En las células hepáticas el glucógeno se encuentra en gránulos grandes, que están compuestos de gránulos menores que, a su vez, son moléculas de glucógeno muy ramificadas, con un peso molecular de varias millones. Estas gránulos de glucógeno hepática contienen, también, unidos en forma muy íntima, las enzimas responsables de la síntesis del glucógeno y de su degradación.</p>
Almidón	<p>La reserva nutricional de las plantas es el almidón. El almidón abunda especialmente en las tubérculos, tales como la patata, y en las semillas, especialmente en el maíz, pero la capacidad de sintetizar almidón la poseen las células de muchas plantas. El almidón contiene dos clases de polímero de glucosa, <math>\alpha</math>-amilosa y amilopectina. El primero está constituido por cadenas de unidades de D-glucosa, largas y sin ramificar con uniones <math>\alpha(1 \rightarrow 4)</math>. Estas cadenas exhiben pesos moleculares variables, que oscilan desde unas millares hasta 500000. La amilopectina tiene, también un peso molecular elevado pero está muy ramificada (fig. 8-12). Los enlaces glicosídicos que mantienen unidos los residuos sucesivos de glucosa en las cadenas de amilopectina son enlaces <math>\alpha(1 \rightarrow 4)</math>,</p>

	<p>pero en los puntos de ramificación se establecen enlaces <math>\alpha(1 \rightarrow 6)</math>. La forma ramificada <math>\alpha(1 \rightarrow 6)</math>, aparece cada treinta enlaces <math>\alpha(1 \rightarrow 4)</math>, de modo que es semejante al glucógeno excepto en que presenta menor grado de ramificación.</p> <p>Más de la mitad de los carbohidratos ingeridos por el hombre son almidón. Tanto la amilopectina como la amilosa son hidrolizadas rápidamente por el enzima <math>\alpha</math>-amilasa, secretado por las glándulas salivales y el páncreas. La <math>\alpha</math>-amilasa hidroliza los enlaces <math>\alpha(1 \rightarrow 4)</math>, internos, originando maltosa, maltotriosa y <math>\alpha</math>-dextrinas. La maltosa consta de dos unidades de glucosa unidas por enlace <math>\alpha(1 \rightarrow 4)</math>, y la maltotriosa consta de tres unidades unidas del mismo modo. La <math>\alpha</math>-dextrina está formada por varias glucosas unidas por enlaces <math>\alpha(1 \rightarrow 4)</math> y <math>\alpha(1 \rightarrow 6)</math>. La maltosa y la maltotriosa se hidrolizan a glucosa por acción de la maltasa, mientras que la <math>\alpha</math>-dextrina se hidroliza a glucosa por la <math>\alpha</math>-dextrinasa. La malta contiene un enzima distinto, llamado <math>\beta</math>-amilasa, que hidroliza el almidón hasta maltosa por eliminación secuencial de fragmentos de disacárido, a partir de los extremos no reductores.</p>
Dextrana	<p>Un polisacárido de reserva de las levaduras y bacterias, también contiene únicamente residuos de glucosa, pero se diferencia del glucógeno y del almidón en que están unidos por enlaces <math>\alpha</math>-1,6 de forma casi exclusiva. Según las especies de seres vivos se forman ramificaciones ocasionales con enlaces <math>\alpha</math>-1,2, <math>\alpha</math>-1,3 o <math>\alpha</math>-1,4.</p>
Celulosa	<p>Los polisacáridos estructurales proporcionan protección, forma y soporte a las células, a los tejidos o a los órganos. Existen muchos polisacáridos estructurales diferentes. La celulosa cumple funciones estructurales en vez de nutritivas.</p> <p>La celulosa, es una substancia fibrosa, resistente, insoluble en el agua; se encuentra en</p>

las paredes celulares protectoras de las plantas, particularmente en los tallos, troncos y en todas las porciones leñosas de los tejidos de las plantas. La celulosa es no solamente el polisacárido estructural extracelular más abundante del mundo vegetal, sino que también es la más abundante de todas las biomoléculas, de los animales o de las plantas. Las proteínas son, por supuesto, las macromoléculas intracelulares más abundantes.

La celulosa es un homopolisacárido lineal, no ramificada, constituida por 10000 o más unidades de D-glucosa unidas por enlaces  $1 \rightarrow 4$  glucosídicos, podría parecer que es semejante a la amilosa y a las cadenas principales del glucógeno. Existe una diferencia muy importante : en la celulosa los enlaces  $1 \rightarrow 4$  se hallan en configuración  $\beta$ , mientras que en la amilosa, la amilopectina y en el glucógeno, los enlaces  $1 \rightarrow 4$  son  $\alpha$ . Esta diferencia entre las estructuras de la amilosa y de la celulosa, tiene por resultado que se originan estructuras poliméricas de propiedades muy diferentes (fig. 8-13). Gracias a la geometría de sus enlaces  $\alpha(1 \rightarrow 4)$ , las cadenas principales de unidades de D-glucosa en el glucógeno y en el almidón, tienden a adoptar una conformación arrollada , helicoidal, lo que favorece la formación de gránulos densos, observada en muchas células animales y de plantas. Los enlaces  $\alpha(1 \rightarrow 4)$  del glucógeno y del almidón se hidrolizan con facilidad por la  $\alpha$ -amilasa en el tracto intestinal de los vertebrados y la D-glucosa así formada es absorbida y empleada como combustible rica en energía. Por otra parte, debido a sus enlaces  $\beta$ , las cadenas de D-glucosa de la célula adoptan una conformación extendida y experimentan una agregación lateral constituyendo fibrillas insolubles (fig. 8-13). Los enlaces  $\beta(1 \rightarrow 4)$

	<p>de la celulosa no son hidrolizadas por las <math>\alpha</math>-amilasas. Como el tracto intestinal de los vertebrados no segrega ningún enzima capaz de hidrolizar la celulosa, ésta no puede digerirse, sus unidades de D-glucosa no son asequibles para la alimentación en la mayor parte de los organismos superiores. Los únicos vertebrados capaces de emplear la celulosa como alimento son el ganado vacuno y otros animales rumiantes (oveja, cabra, camello, jirafa), que lo hacen de manera muy indirecta. Gran parte del volumen abdominal y 15% del peso total de una vaca están ocupados por su serie de cuatro estómagos. Los dos primeras, que constituyen el rumen, contienen microorganismos que segregan celulasa y degradan la celulosa para dar D-glucosa, que fermenta a ácidos grasos de cadena corta, dióxido de carbono y gas metano (<math>\text{CH}_4</math>).</p>
Quitina	<p>Las conchas insolubles y duras, o exoesqueletos de las langostas, cangrejos y muchos insectas, están constituidos, en su mayor parte, por quitina, polisacárido estructural que es un polímero lineal de la N-acetil-D-glucosamina, con uniones <math>\beta</math>. El entramado de quitina de los caparzones de la langosta y del cangrejo está impregnado y endurecido con carbonato de calcio.</p>

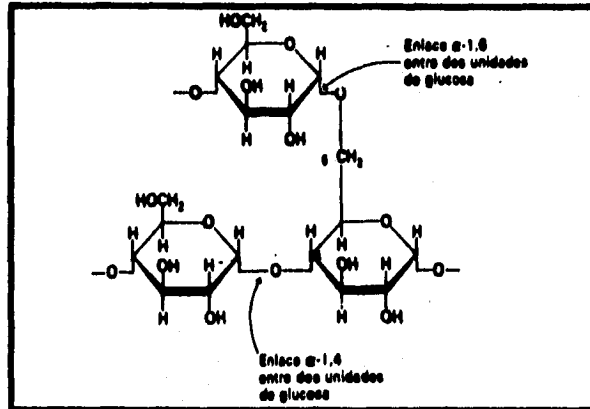


Figura 8-11 Una rama de glucógeno se forma mediante un enlace  $\alpha$ -1,6-glicosídico.

FUENTE: STEYER, 1994

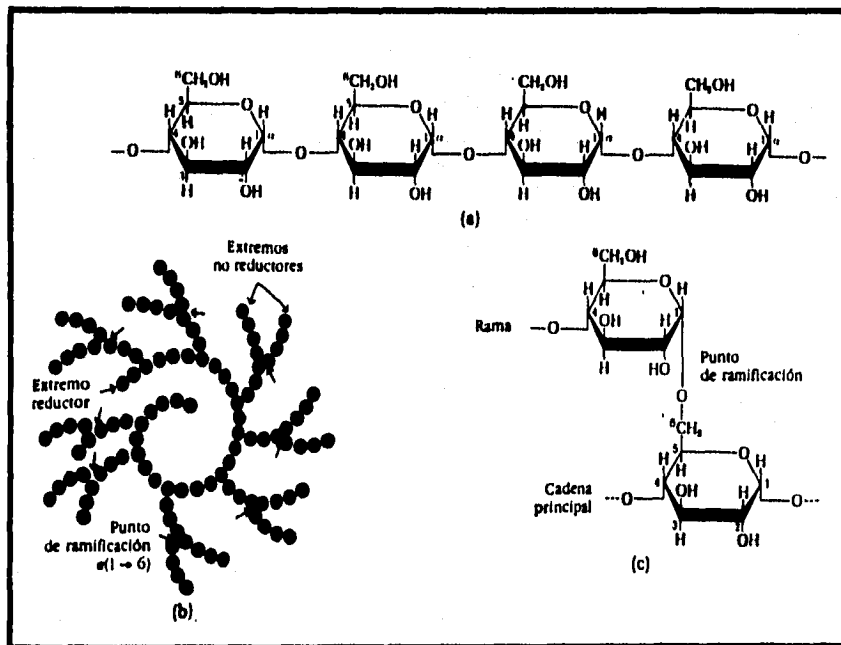


Figura 8-12 Amilosa y amilopectina, polisacáridos del almidón.

a) Amilosa, b) Amilopectina. Cada círculo representa un residuo de glucosa. c) Estructura de un punto de ramificación.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

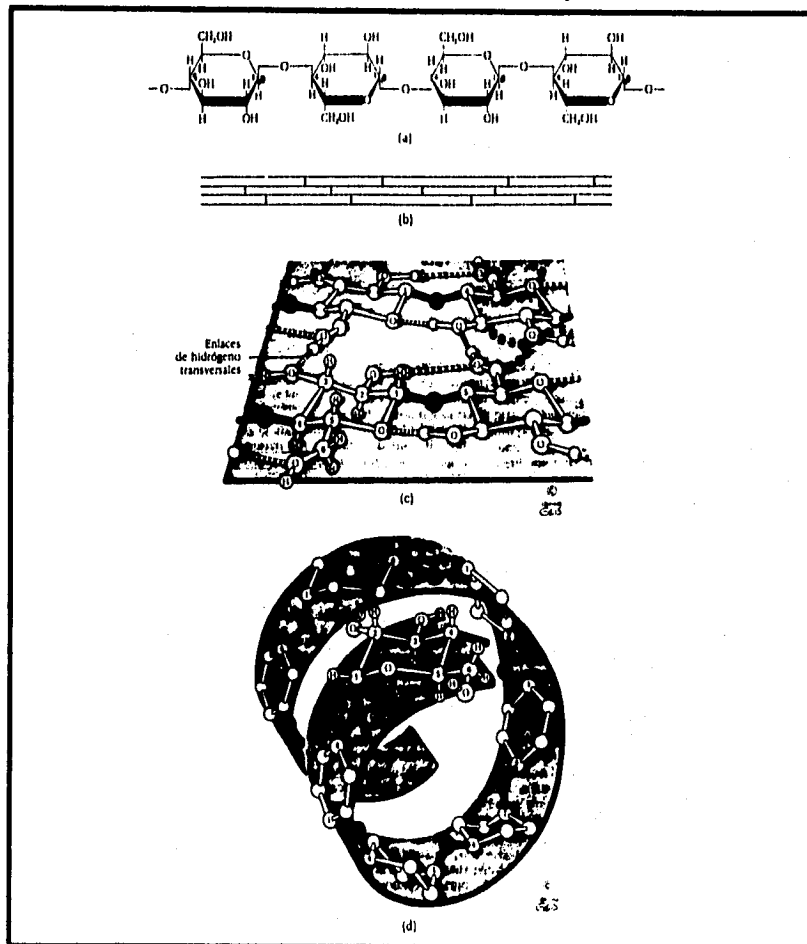


Figura 8-13 Estructura de la celulosa y diferencia en las conformaciones adoptadas por las cadenas de celulosa con enlace  $\beta(1 \rightarrow 4)$  y las cadenas de almidón y de glucógeno con enlaces  $\alpha(1 \rightarrow 4)$ . a) Cadenas de celulosa. b) Las cadenas de celulosa paralelas se mantienen reunidas mediante enlaces transversales de hidrógeno. c) Segmentos de dos cadenas de celulosa paralelas mostrando la configuración real de los residuos de D-glucosa y los enlaces de hidrógeno transversales. d) Dibujo de un segmento de amilosa. Los enlaces de la amilosa, amilopectina y glucógeno provocan que la cadena adopte una estructura helicoidal apretada, en la que muchos de los grupos hidroxilo se hallan orientados hacia el exterior.

FUENTE: LEHNINGER, 1991 Y MATHEWS, 1990

## 8.1. METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS

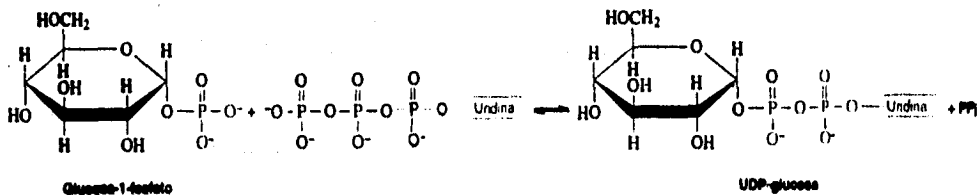
### 8.3.1. METABOLISMO DEL GLUCOGENO

#### 8.3.1.1. GLUCOGENESIS

En 1957, Luis Leloir y sus colaboradores, demostraron que el glucógeno se sintetiza por una vía que utiliza uridina difosfato glucosa (UDP-Glucosa). (26)

La UDP-glucosa, el dador de glucosa en la biosíntesis de glucógeno, es una *forma activada de la glucosa*. El átomo C-1 de la unidad glucosilo de la UDP-glucosa está activado, puesto que su grupo hidroxilo está esterificado con el difosfato del UDP. (43)

La UDP-glucosa se sintetiza a partir de glucosa-1-fosfato y uridina trifosfato (UTP) en una reacción catalizada por la *UDP-glucosa pirofosforilasa*. El pirofosfato liberado en esta reacción procede de los dos residuos fosforilo externos del UTP. (43)



Esta reacción es fácilmente reversible. Sin embargo, el pirofosfato es hidrolizado rápidamente in vivo hasta ortofosfato por una pirofosfatasa inorgánica. La hidrólisis esencialmente irreversible del pirofosfato dirige la síntesis de UDP-glucosa. (43)

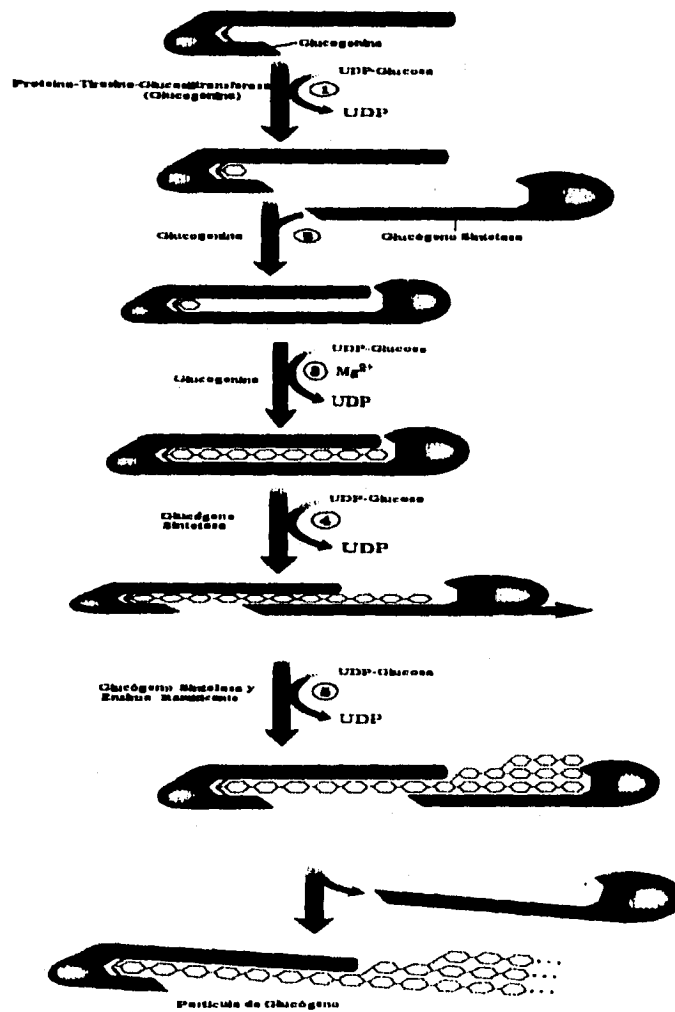


Figura 8-14 La síntesis de glucógeno sigue una vía diferente. La UDP-glucosa, el intermediario activado en la síntesis del glucógeno, se forma a partir de glucosa-1-fosfato y UTP. La glucógeno sintasa cataliza la transferencia de glucosa desde la UDP-glucosa hasta el grupo hidroxilo del C-4 de un residuo terminal, situado en la molécula de glucógeno en crecimiento. La síntesis de glucógeno es iniciada por la glucogenina, una proteína capaz de autoglicosilarse y que contiene un oligosacárido unido covalentemente a un residuo específico de tirosina. La glucógeno sintasa sólo es activa cuando está asociada con la glucogenina, lo que sirve para limitar el tamaño de los gránulos de glucógeno. Un enzima ramificante convierte algunos de los enlaces  $\alpha$ -1,4 en enlaces  $\alpha$ -1,6 para aumentar el número de glucosas terminales, de modo que el glucógeno pueda degradarse con mayor rapidez.  
FUENTE: LEHNINGER, 1993 y STRYER, 1994



### 8.3.1.2. GLUCOGENOLISIS

La mayor parte de las moléculas de glucógeno se degradan hasta glucosa-1-fosfato por acción de la fosforilasa. El enlace glucosídico entre el C-1 de un residuo terminal y el C-4 del adyacente se rompe mediante el ortofosfato para dar glucosa-1-fosfato, que puede convertirse reversiblemente en glucosa-6-fosfato. El piridoxal fosfato, un derivado de la vitamina B<sub>6</sub>, participa en la ruptura fosforolítica del glucógeno. Los puntos de ramificación son degradados por la acción concertada de una oligosacárido transferasa y una  $\alpha$ -1,6 glucosidasa. Este último enzima (conocido también como enzima desramificante) cataliza la hidrólisis de los enlaces  $\alpha$ -1,6, originando glucosa libre.

La síntesis y degradación del glucógeno son controladas coordinadamente por varias cascadas amplificadoras de reacciones. La glucógeno sintasa o sintetasa permanece inactiva cuando la fosforilasa es activa, y viceversa. La adrenalina y el glucagón estimulan la degradación del glucógeno e inhiben su síntesis por incremento del nivel citosólico de AMP cíclico, el cual activa a la proteína quinasa A (PKA). La fosforilasa quinasa se vuelve más activa, mientras que la glucógeno sintasa resulta menos activa, cuando ambas son fosforiladas por la PKA. Los niveles elevados de Ca<sup>2+</sup> citosólico actúan directamente sobre la fosforilasa quinasa, activándola. Este enzima contiene calmodulina como una de sus subunidades integrantes. Así pues, la contracción muscular y las hormonas que movilizan el calcio provocan la degradación del glucógeno. (12)(26)(43)

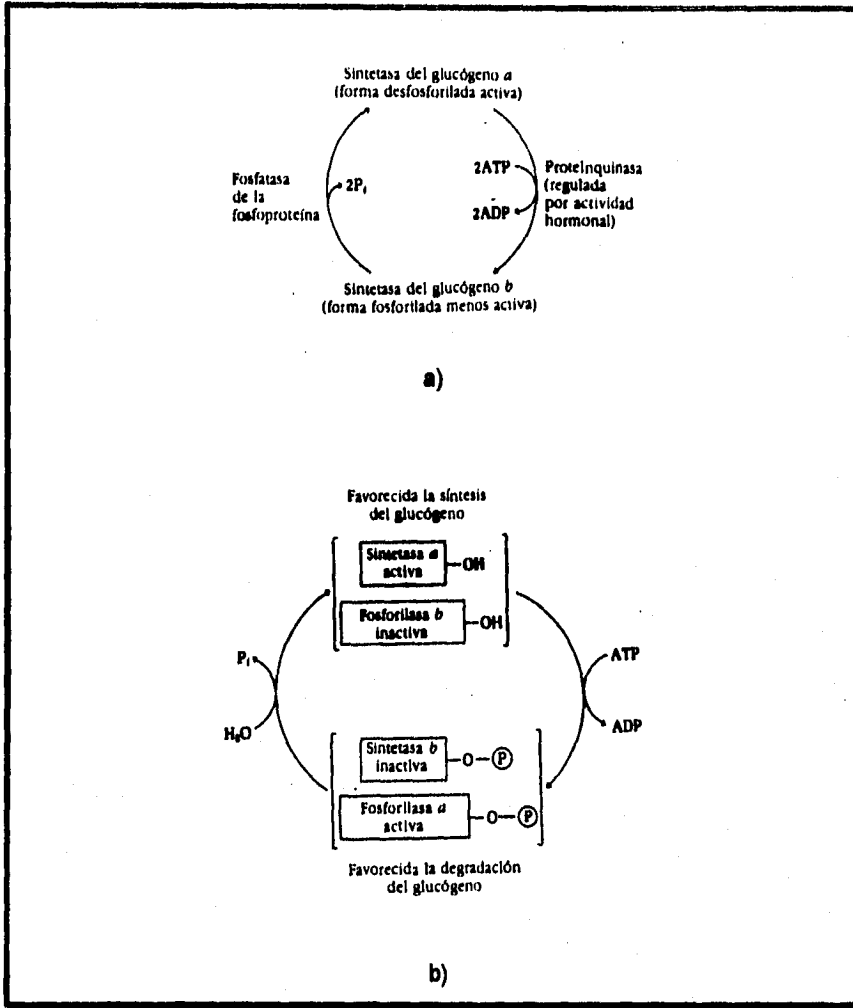


Figura 8-15 a) Regulación de la actividad de la sintetasa del glucógeno por su fosforilación enzimática y desfosforilación. La propia proteinquinasa aparece en dos formas, activa e inactiva, cuya relación se halla regulada hormonalmente. b) Regulación recíproca de la sintetasa del glucógeno y de la fosforilasa del glucógeno por fosforilación y desfosforilación. Los grupos de serina fosforilados están indicados por -O-P

FUENTE: LEHNINGER, 1991

### 8.3.2. GLUCONEOGENESIS

La gluconeogénesis es el proceso mediante el cual se da la formación de glucosa a partir de fuentes no glicídicas. (27)(30)(43)

La gluconeogénesis tiene lugar en el hígado principalmente y en el riñón; y ayuda a mantener el nivel de glucosa sanguínea de modo que el cerebro y el músculo puedan extraer suficiente glucosa para atender sus demandas metabólicas. (26)(30)

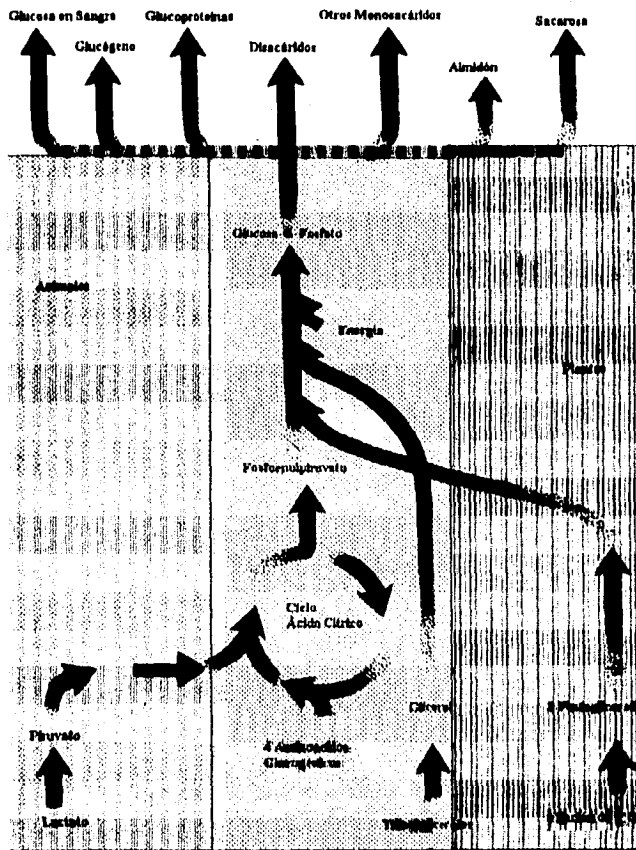


Figura 8-16 La ruta que conduce

desde el fosfoenolpiruvato al 6-fosfato de glucosa es compartida por muchos precursores diferentes para su conversión biosintética en diversos carbohidratos en los tejidos animales y vegetales.

FUENTE: LEHNINGER, 1993

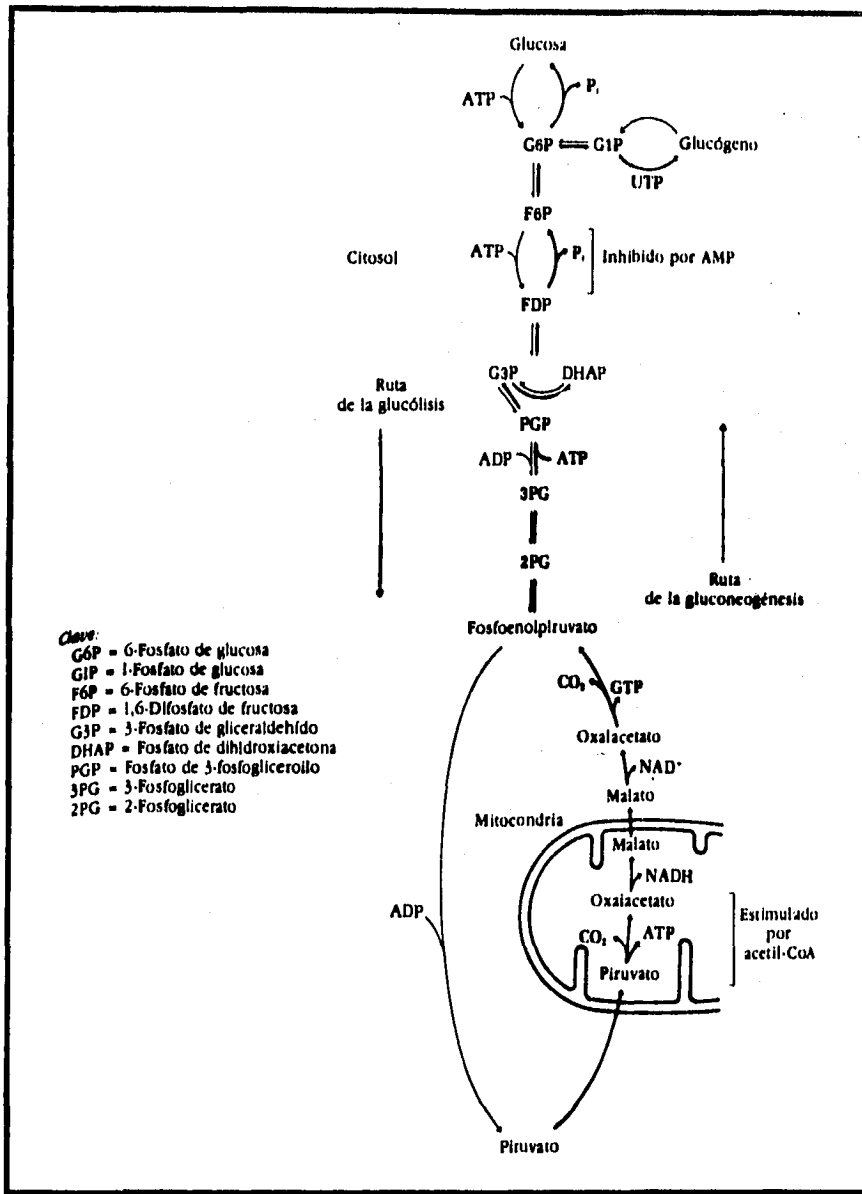
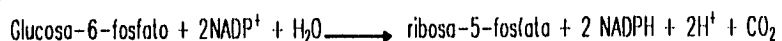


Figura 8-17 Rutas opuestas de la glucólisis y de la gluconeogénesis en el hígado de rata.

FUENTE: LEHNINGER, 1993

### 8.3.3. VIA DE OXIDACION DIRECTA (CICLO DE PENTOSAS)

En el capítulo 6 se trató la glicólisis, el ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa, estos temas se refirieron principalmente a la generación de ATP; partiendo de la glucosa como combustible. Ahora trataremos de la generación de un tipo diferente de energía metabólica, a saber, el poder reductor. La unidad del poder reductor más asequible en las células es el NADPH. Hay una distinción fundamental entre el NADPH y el NADH (además del grupo fosforilo), en la mayoría de las reacciones bioquímicas. El NADH se oxida por la cadena respiratoria para generar ATP, mientras que el NADPH sirve como dador de electrones (dador de ion hidruro) en las biosíntesis reductoras. En la vía de las pentosas fosfato, el NADPH se genera cuando la glucosa-6-fosfato se oxida hasta ribosa-5-fosfato. Este azúcar de cinco carbonos y sus derivados son componentes de biomoléculas importantes tales como el ATP, CoA, NAD<sup>+</sup>, FAD, RNA y DNA. (12)(27)(43)



La vía de las pentosas fosfato cataliza también la interconversión de azúcares de tres, cuatro, cinco, seis y siete carbonos en una serie de reacciones no oxidativas. Todas estas reacciones tienen lugar en el citosol. En las plantas, parte de la vía de las pentosas fosfato participa también en la formación de hexosas a partir de CO<sub>2</sub> en la fotosíntesis. La vía de las pentosas fosfato se denomina a veces shunt de las pentosas, vía de las hexosas monofosfato o vía oxidativa del fosfo gluconato. (43)

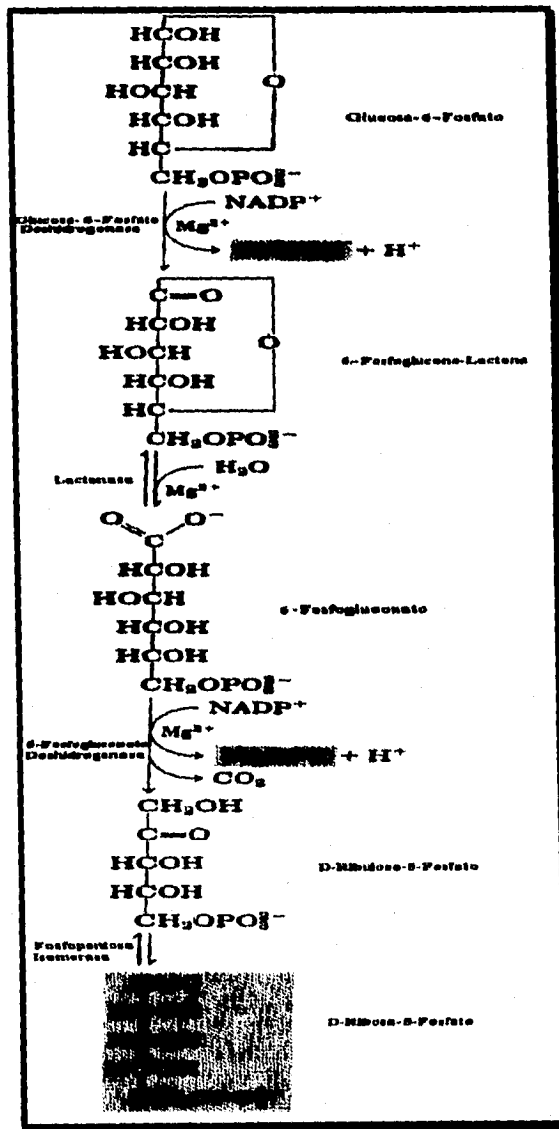


Figura 8-18 Reacciones oxidativas generadas durante la vía de la pentosa fosfato hasta D-ribosa-5-fosfato con producción de NADPH.

FUENTE: LEHNINGER, 1993

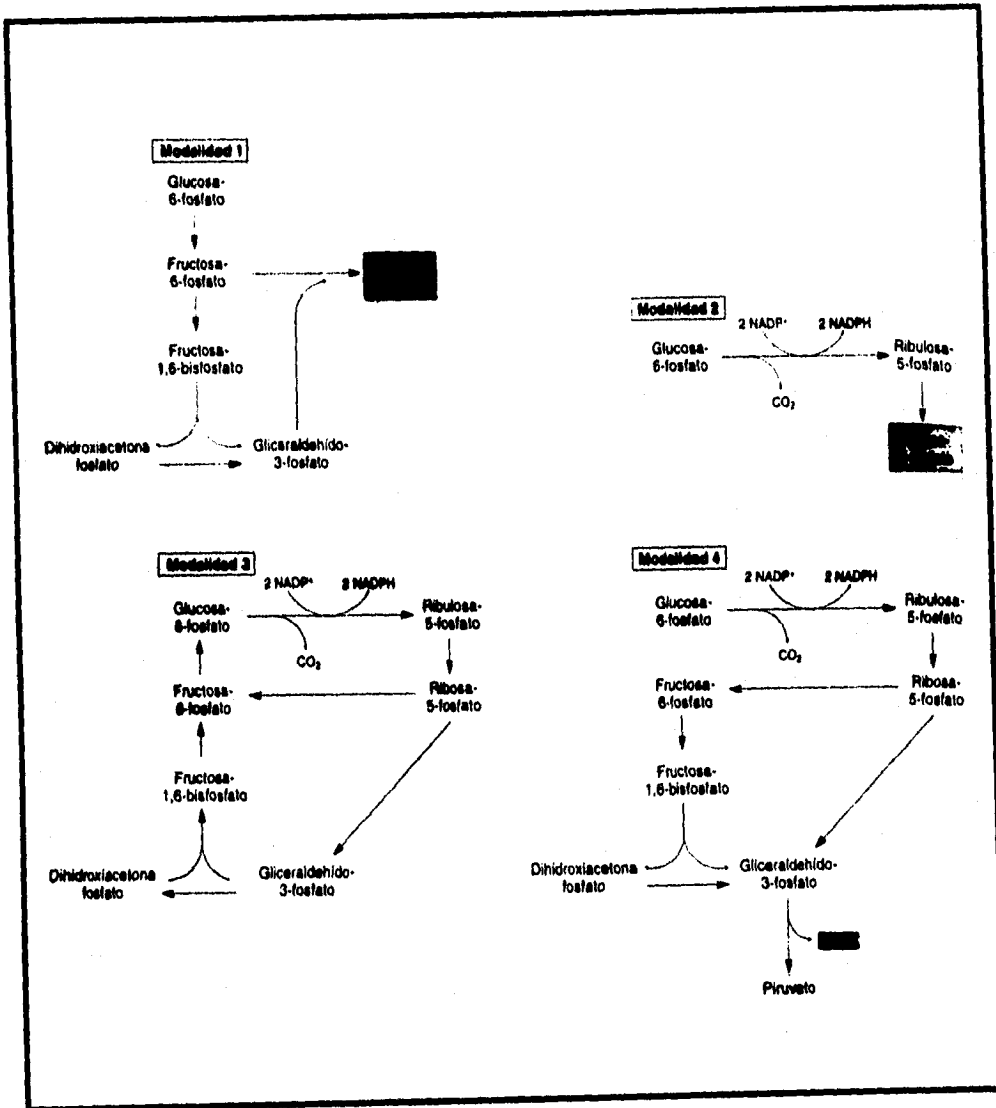


Figura 8-19 Cuatro modalidades de la vía de las pentosas fosfato. Los productos principales están representados en recuadros.

FUENTE: STEYER, 1994



## 8.1. INTRODUCCION

En capítulos anteriores se han examinado varios componentes importantes de las células: agua, proteínas, enzimas y carbohidratos. Existe todavía otra familia de biomoléculas, los lípidos.

La palabra lípido proviene del griego lipos, que significa grasa y cuya aplicación no ha sido bien establecida. (3)(27)

Los lípidos desempeñan muchas funciones en los tejidos; además de que son una fuente energética importante (cada gramo genera 9kcal), muchos de ellos cumplen una actividad biológica.

La clase de lípidos más abundantes son las grasas o triglicéridos que son la forma de almacenar energía química más importante de la mayor parte de los organismos. (3)

Las grasas y los aceites son los principales lípidos que se encuentran en los alimentos contribuyendo a la textura y en general a las propiedades sensoriales del producto. Las principales fuentes son los tejidos animales y las semillas oleaginosas, ya que las frutas y las hortalizas presentan normalmente muy bajas concentraciones, con algunas excepciones como el aguacate, las aceitunas y algunos tipos de nueces. (3)





### 9.2.1. DEFINICION

La palabra lipido, originalmente, se definía como "una sustancia orgánica insoluble en agua", pero soluble en disolventes "no polares" u orgánicos, tales como el clorofarma, hexano y éter de petróleo, bajo esta consideración de solubilidad, hay muchos otros compuestos, como terpenos y carotenoides que también están incluidos. Sin embargo, algunos autores contemplan como lípido sólo aquellas moléculas que son derivados reales o potenciales de los ácidos grasos y sustancias relacionadas, con lo cual se excluyen terpenos, carotenoides y colesterol, pero no los ésteres de este último. Según esta segunda definición, los aceites y las grasas se consideran por antonomasia como lípidos. (27)

A pesar de las discrepancias que existen sobre la naturaleza química de los lípidos, la clasificación con base en la solubilidad es la más vigente. Es un grupo de compuestos generalmente constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno, que integran cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas, aunque en ocasiones también contienen fósforo y nitrógeno. (27)(30)

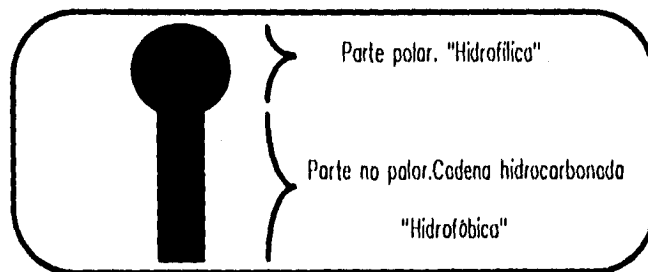


Figura 9-1 Estructura general de un lípido.

FUENTE: MATHEWS, 1990

### 9.2.2. FUNCION BIOLÓGICA

- Servir como una forma fundamental de almacenamiento de carbono y energía.
- Unos son parte estructural de las membranas celulares y de los sistemas de transporte de diversos nutrimentos.
- También actúan como aislantes naturales en el hombre y en los animales ya que, por ser pobres conductores del calor, el tejido adiposo mantiene estable la temperatura del organismo.
- Como aislantes que previenen choques térmicos, eléctricos y físicos.
- Como recubrimientos protectores que evitan infecciones y pérdidas o entradas excesivas de agua.
- Otros son vitaminas y hormonas.
- Algunos son pigmentos, etc.

FUENTE: STRYER, 1994

### 9.2.3. CLASIFICACION DE LÍPIDOS

Existen diversas clasificaciones pero todas ellas se basan en alguna de las propiedades físicas o químicas que los caracterizan. La clasificación más común es la que se basa en su estructura química (tabla 9-1).

Tabla 9-1 Clases Principales De Lípidos.

Clases.	Características.
<p>Lípidos simples.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Grasas y aceites.</li> <li>• Ceras.</li> </ul>	<p>Son materiales que sólo incluyen ésteres de ácidos grasos y un alcohol. Su hidrólisis genera:</p> <p>Glicerol + ácidos grasos</p> <p>Alcohol + ácidos grasos(ambos de cadena larga)</p>
<p>Lípidos compuestos.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fosfoacilgliceroles (fosfoglicéridos)</li> <li>• Esfingomielinas</li> <li>• Cerebrósidos</li> <li>• Gangliósidos</li> <li>• Lipoproteínas</li> </ul>	<p>Son diversos materiales que contienen otras sustancias además de un alcohol y ácidos grasos. Su hidrólisis genera:</p> <p>Glicerol + ácidos grasos + <math>\text{HPO}_4^{2-}</math> + otras formas de HOR</p> <p>Esfingosina + ácido graso + <math>\text{HPO}_4^{2-}</math> + colina</p> <p>Esfingosina + ácido graso + azúcares simples</p> <p>Esfingosina + ácido graso + 2-6 azúcares simples, uno de los cuales es ácido siálico.</p>
<p>Lípidos derivadas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Esteroides</li> <li>• Prostaglandinas</li> <li>• Leucotrienos</li> <li>• Vitaminas liposolubles (A,D,E,K)</li> </ul>	<p>Son los que no se pueden clasificar definitivamente como simples o compuestas.</p>

FUENTE: BOHENSIL, 1991

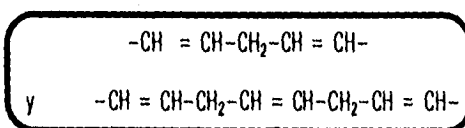
## 9.2.4. PROPIEDADES DE ACIDOS GRASOS SATURADOS E INSATURADOS

### 9.2.4.1. ACIDOS GRASOS

Los ácidos grasos son componentes silleros característicos, de la mayor parte de los lípidos. Los ácidos grasos son ácidos orgánicos de cadena larga que poseen desde 4 o 24 átomos de carbono, tienen un sólo grupo carboxilo y una "cola" prolongada no polar hidrocarbonada (fig.9-1), que confiere a la mayor parte de los lípidos su naturaleza de insolubles en el agua y su aspecto y consistencia grasosa u oleaginoso. Se han aislado muchos clases de ácidos grasos diferentes de los lípidos de diversas especies. Difieren unos de otros en la longitud de la cadena y en la presencia, en el número y en la posición de sus enlaces dobles; algunos ácidos grasos poseen también ramificaciones constituidas por grupos metilo. La figura 9-2 y la tabla 9-2 dan las estructuras de algunos ácidos grasos importantes que se encuentran en los lípidos que se hallan en la naturaleza. (2)(12)(27)

### 9.2.4.2. SATURACION E INSATURACION

Casi todos los ácidos grasos naturales poseen un número par de átomos de carbono, los que poseen 16 o 18 átomos de carbono son los más abundantes. La larga cadena hidrocarbonada puede hallarse completamente "saturada"; es decir, contiene sólo enlaces simples o puede ser insaturada, con uno o más enlaces dobles. En general, los ácidos grasos insaturados son dos veces más abundantes que los ácidos grasos saturados, tanto en los lípidos de las plantas como en los de los animales. En la mayor parte de los ácidos grasos insaturados existe un enlace doble (representado por  $\Delta^9$ ) entre los átomos de carbono 9 y 10. Cuando existen dos o más enlaces dobles, éstos están separados casi siempre por un solo grupo metileno; es decir:



En los ácidos insaturados, los enlaces dobles casi siempre tienen configuración *cis*, que produce una desviación rígida de la cadena alifática (fig. 9-2). (4)

Los ácidos grasos saturados, comprendidos entre C12 y C24, son sólidos que poseen una consistencia cerosa; por otra parte, los ácidos grasos no saturados son líquidos aceitosos a la temperatura del cuerpo. (4)(27)

Los abundantes enlaces apolares C-C y C-H de la cadena de hidrocarburos confieren bastante apolaridad a la molécula entera, incluso a pesar de que existe un grupo polar COOH. Desde luego, cualquier sustancia formada en parte por uno o más ácidos grasos es apolar en gran medida. Además de explicar la insolubilidad de los lípidos en agua, la apolaridad de las cadenas de ácidos grasos también es importante para apreciar el ensamblaje de los lípidos en las biomembranas. (4)



Tabla 9-2 Algunos Ácidos Grasos Que Aparecen En La Naturaleza.

Átomos de cárbono	Estructura	Nombre sistemático	Nombre trivial	Pto. fus. °C
Ácidos grasos saturados				
4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	n-Butanoico	Butírico	-5,9
6	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	n-Hexanoico	Capríico	-3,4
8	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	n-Octanoico	Caprílico	16,7
12	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	n-Dodecanoico	Ac. láurico*	44,2
14	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	n-Tetradecanoico	Mirístico*	53,9
16	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	n-Hexadecanoico	Palmitico*	63,1
18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	n-Octodecanoico	Esteárico*	69,6
20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	n-Eicosanoico	Araquídico	76,5
24	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	n-Tetracosanoico	Lignocérico	86,0

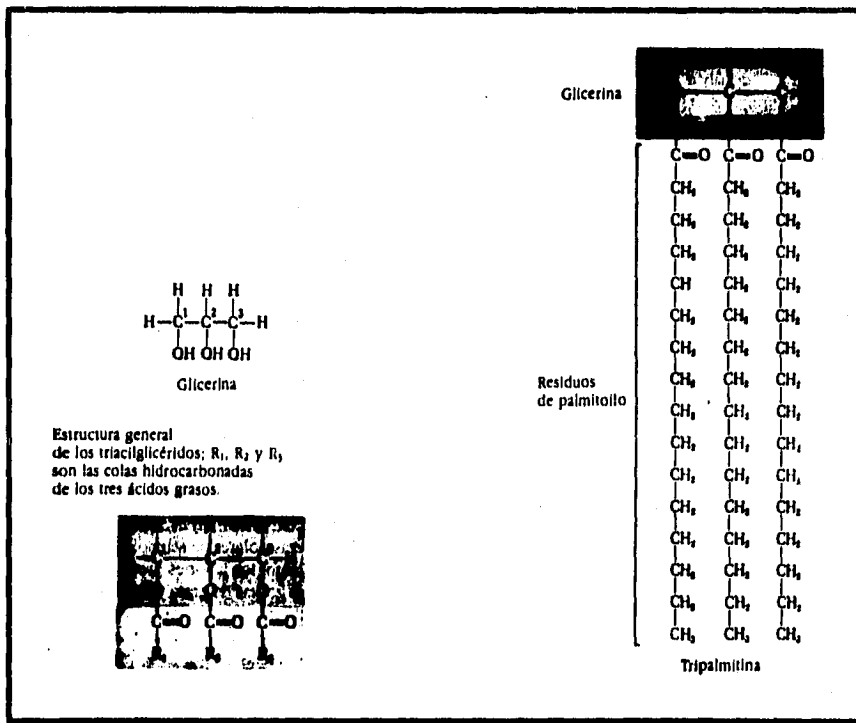
\*Ácidos grasos saturados más comunes en alimentos.

Átomos de cárbono	Estructura	Nombre trivial	Pto. fus. °C
Ácidos grasos insaturados			
16	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Palmitoleico	-0,5
18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Oleico	13,4
18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Linoleico	-5
18	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Linolénico	-11
20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	Araquidónico	-49,5

FUENTE: BUDU, 1993, Y LEHNINGER, 1993

**9.2.5. PROPIEDADES DE LAS GRASAS Y LOS ACEITES**

Los lípidos más abundantes y sencillos que contienen ácidos grasos como sillares constituyentes son los triacilglicéridos, designados frecuentemente con los nombres de grasas, grasas neutras o triglicéridos. Los triacilglicéridos son ésteres del alcohol glicerina, con tres moléculas de ácido graso (fig. 9-3); son los componentes principales del depósito graso o grasa de reserva en las células animales y de las plantas, pero no se encuentran normalmente en las membranas. Obsérvese que los triacilglicéridos no son polares, son moléculas hidrofóbicas y no contienen grupos funcionales con carga o de polaridad elevada. (27)(28)





**Tabla 9-3 Tipos De Triacilglicéridos Que Dependen De La Identidad Y De La Posición De Los Tres Ácidos Grasos Componentes Que Esterifican A La Glicerina.**

<p>Triacilglicéridos simples</p>	<p>Los que contienen una sola clase de ácido graso en las tres posiciones y se designan según el ácido graso que contienen.</p>	<p>Son ejemplos la triestearoilglicerina (triestearina)*, la tripalmitoilglicerina (tripalmitina)* y la trioleoilglicerina (trioleina)*, que contienen el ácido esteárico, el ácido palmítico y el ácido oleico.</p>
<p>Triacilglicéridos mixtos</p>	<p>Son aquellos que contienen dos a más ácidos grasos diferentes.</p>	<p>Son ejemplo, la mayor parte de las grasas naturales, tales como el aceite de olivo, la manteca y otras grasas comestibles, son mezclas complejas de triacilglicéridos simples y mixtos, que contienen una variedad de ácidos grasos, que difieren en su longitud de cadena y en el grado de saturación (tabla 9-4).</p>

\* Nombre trivial.

FUENTE: LEHNINGER, 1993 Y SIVEL, 1994

Los triacilglicéridos que contienen sólo ÁCIDOS GRASOS SATURADOS, tales como la triestearina, el componente principal del sebo de buey, son sólidos blancos y grasos a la temperatura ambiente.

**CARACTERÍSTICAS DE LAS GRASAS Y LOS ACEITES.**

Los triacilglicéridos que contienen sólo ÁCIDOS GRASOS NO SATURADOS, tales como la trioleína, el componente principal del aceite de oliva, son líquidos. La mantequilla es una mezcla de triacilglicéridos, algunos de los cuales poseen cadenas de ácido con cadenas relativamente cortas. Como los ácidos grasos de cadena más corta poseen puntos de fusión más bajos, confieren a la mantequilla su blandura a la temperatura ambiente.

FUENTE: LEHNINGER, 1991

Tabla 9-4 Composición En Ácidos Grasos De Tres Grasas Naturales\*.

Porcentaje de ácidos grasos total

	C <sub>4</sub> -C <sub>12</sub>	C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	No saturados C <sub>16</sub> + C <sub>18</sub>
Aceite de oliva	<2	<2	13	3	80
Monteco	11	10	26	11	40
Groso de buey	<2	<2	29	21	46

\*Estas grasas están constituidas por mezclas de triacilglicéridos que se diferencian en su composición en ácidos grasos y, por tanto, en sus puntos de fusión. El aceite de oliva es líquido a temperatura ambiente y contiene gran cantidad de ácidos grasos insaturados (líquido). La grasa de buey, que es rica en ácidos grasos saturados de cadena larga, es sólida a la temperatura ambiente. La manteca, que contiene cantidades significativas de ácidos grasos de cadena corta, es blanda a la temperatura ambiente.

FUENTE: LEHNINGER, 1993

**9.2.5.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS TRIACILGLICERIDOS**

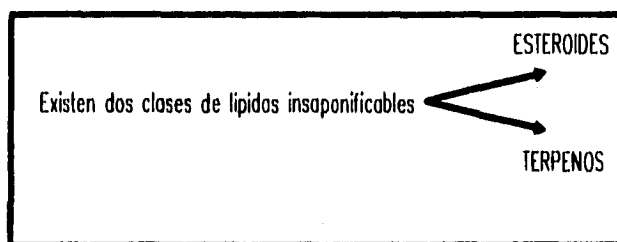
- Los triacilglicéridos que aparecen en la naturaleza son insolubles en el agua. Poseen una densidad inferior a la del agua. (2)

Se disuelven con facilidad en los disolventes no polares, tales como el cloroformo, benceno o éter, que se emplean con frecuencia para extraer las grasas de los tejidos. (2)(27)

- Experimentan hidrólisis cuando se hierven con ácidos o con bases o cuando experimentan la acción enzimática del enzima lipasa, que se halla en la secreción vertida por el páncreas al intestino delgado. (27)
- Los triacilglicéridos con un contenido elevada en ácidos grasos insaturados, y que, por tanto, son líquidas a la temperatura ambiente, pueden convertirse químicamente en grasas sólidas por hidrogenación parcial de sus enlaces dobles, provocando la conversión de algunos de sus enlaces dobles en enlaces sencillos. Cantidades grandes de aceites vegetales, tales como aceite de maíz, se convierten en sólidos, por ejemplo Crisco, mediante este proceso. (30)(43)
- Cuando se exponen al aire los triacilglicéridos que contienen ácidos grasos muy insaturados tienden a experimentar un proceso complejo llamado auto-oxidación. El oxígeno molecular puede atacar a los ácidos grasos que contienen dos o más enlaces dobles y rinden productos complejos que son responsables del sabor desagradable de las grasas rancias. (27)(43)

### 9.2.6. PROPIEDADES DE LOS ESTEROIDES

Los lípidos que se han comentado hasta este punto son saponificables; es decir, se hidrolizan por calefacción con álcali para dar jabones de sus ácidos grasos componentes. Las células contienen, también, lípidos insaponificables, que no contienen ácidos grasos y, por ello, no pueden formar jabones.



Los esteroides son moléculas liposolubles, complejas con cuatro anillos condensados (fig. 9-4). Los esteroides más abundantes son los esteroles que son alcoholes esteroides. El colesterol es el esteroles principal en los tejidos animales. El colesterol y sus ésteres con ácidos grasos de cadena larga son componentes importantes de las lipoproteínas del plasma y de la membrana celular externa. Las membranas de las células de las plantas contienen otras clases de esteroles, particularmente estigmasterol, que difiere del colesterol solamente en que posee un enlace doble entre los carbonos 22 y 23. La molécula del colesterol posee un grupo de cabeza polar, el grupo hidroxilo en la posición 3. El resto de la molécula es una estructura no polar relativamente rígida, como indica la figura 9-4 (b). (12)(27)(43)

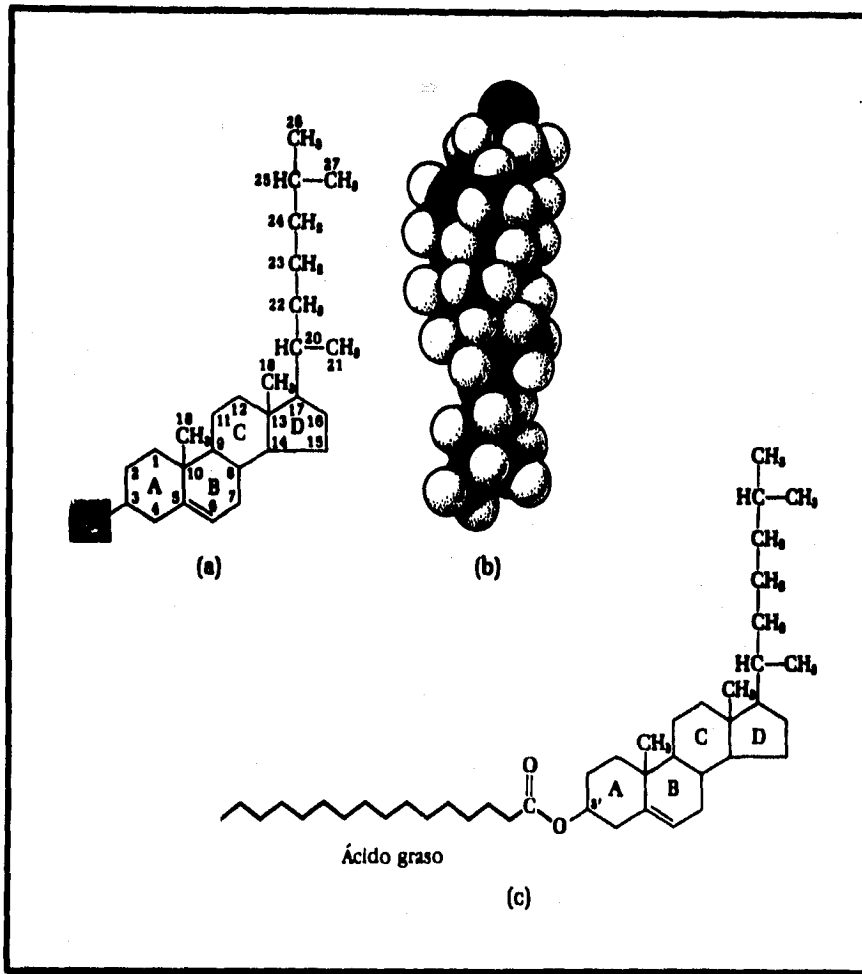


Figura 9-4 a) Colesterol, un alcohol esteroide. Se muestran la designación de los anillos de los esteroides y la numeración de los átomos de carbono. Debido a que los cuatro anillos son rígidos, la presencia del colesterol reduce la fluidez de las membranas. El grupo hidroxilo (sombreado) constituye la cabeza polar; el resto de la molécula es hidrofóbico. b) Modelo espacial compacto del colesterol. El grupo hidroxilo se halla en la parte superior. c) Ester del colesterol. Al igual que los triacilglicéridos, los ésteres del colesterol son saponificables.

FUENTE: BOHENSKI, 1992 Y LEHNINGER, 1991

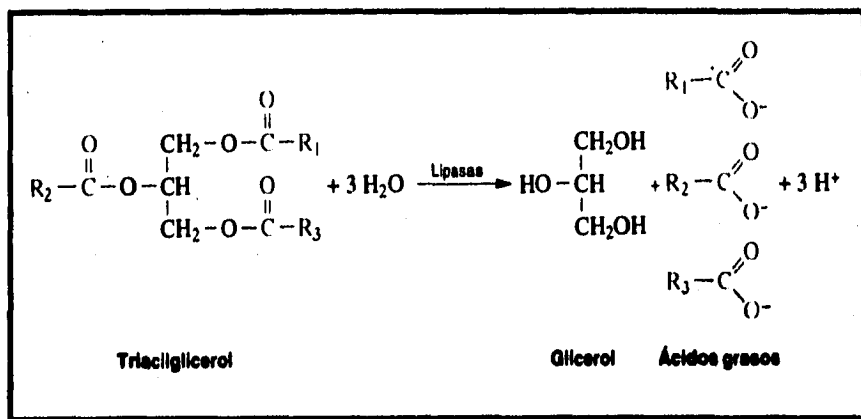
### 9.3. METABOLISMO DE LÍPIDOS

Pasemos ahora al metabolismo de los ácidos grasos, una clase de compuestos que contienen una larga cadena hidrocarbonada y un grupo terminal carboxilato. Los ácidos grasos son moléculas combustibles. Se almacenan como triacilgliceroles que son ésteres de glicerol sin carga eléctrica. A los triacilgliceroles también se les llama grasas neutras o triglicéridos. (43)

En los mamíferos, el centro principal de acumulación de triacilgliceroles es el citoplasma de las células adiposas (células grasas o adipocitos). Los gotitas de triacilglicerol se unen para formar un gran glóbulo que puede ocupar casi todo el volumen celular. Las células adiposas están especializadas en la síntesis y almacenamiento de triacilgliceroles y en su movilización como moléculas combustibles que son transportadas por la sangre a otros tejidos. (12)(43)

#### 9.3.1. HIDROLISIS DE TRIACILGLICEROLES POR LIPASAS

El acontecimiento inicial en la utilización de la grasa como fuente de energía es la hidrólisis del triacilglicerol por las lipasas. (43)

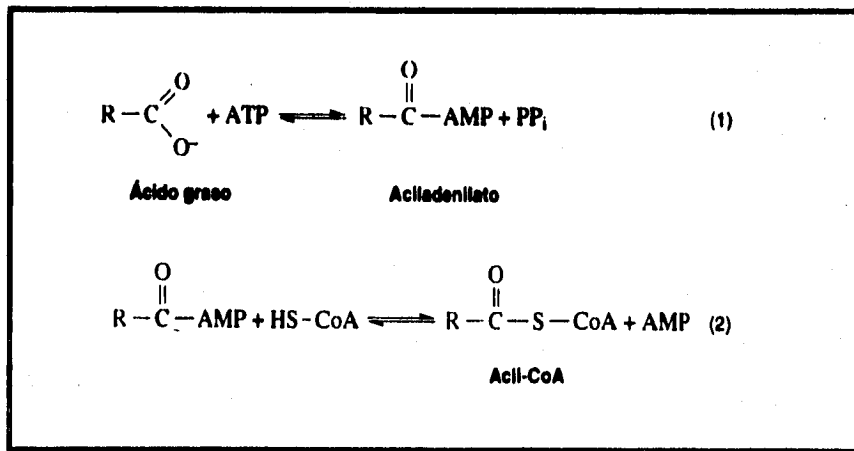


La actividad de la lipasa de la célula adiposa está regulada por hormonas. (27)

### 9.3.2. OXIDACION DE ACIDOS GRASOS

Los ácidos grasos se unen al coenzima A antes de ser oxidados.

En 1949, Eugene Kennedy y Albert Lehninger demostraron que los ácidos grasos se oxidan en las mitocondrias. Trabajos posteriores demostraron que se activan antes de su entrada en la matriz mitocondrial. La adenosin trifosfato (ATP) impulsa la formación de un enlace tioéster entre el grupo carboxilo de un ácido graso y el grupo sulfhidrilo del CoA. Esta reacción de activación tiene lugar en la membrana externa mitocondrial, donde es catalizada por la acil-CoA sintetasa. (43)



Los ácidos grasos se activan en la membrana externa mitocondrial y se oxidan en la matriz mitocondrial. Puesto que las moléculas de acil-CoA de cadena larga no atraviesan fácilmente la membrana interna mitocondrial, es necesario un mecanismo especial de transporte. Los ácidos grasos de cadena larga activados son transportados a través de la membrana interna mitocondrial conjugados con la *carnitina*, un compuesto de carácter zwitteriónico derivado de la lisina (fig. 9-5).





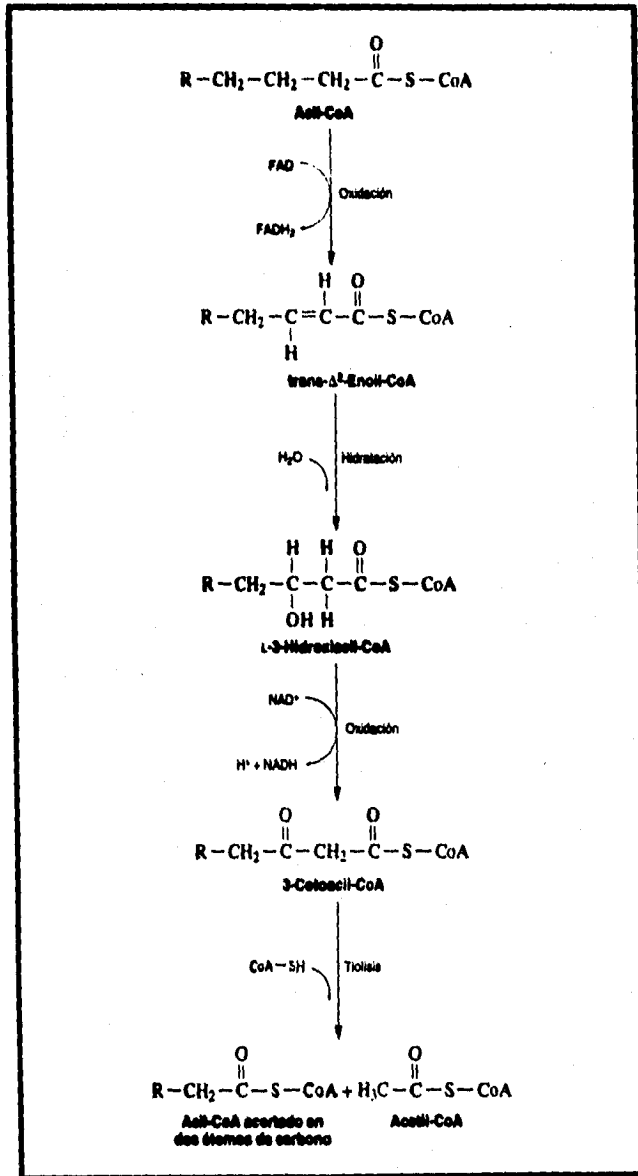


Figura 9-6 Secuencia de reacciones en la degradación de los ácidos grasos: oxidación, hidratación, oxidación y tiolisis.

FUENTE: STUYVER, 1994

**PARA LA OXIDACION DE LOS ACIDOS GRASOS INSATURADOS SE REQUIEREN UNA ISOMERASA Y UNA REDUCTASA**

Muchas de las reacciones son las mismas que para los ácidos grasos saturados. De hecho, solamente son necesarios dos nuevos enzimas.—una isomerasa y una reductasa—para degradar una amplia gama de ácidos grasos insaturados (fig. 9-7). (43)(51)

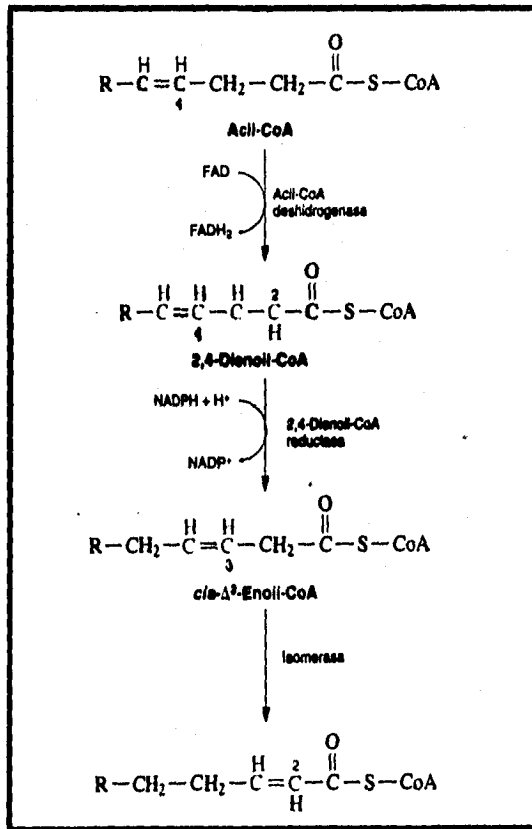


Figura 9-7 Dos enzimas accesorios - la 2,4-dienoil-CoA reductasa y la cis- $\Delta^3$ -enoil isomerasa- hacen posible la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados que contienen un doble enlace cis en posición par.

FUENTE: STRYER, 1994

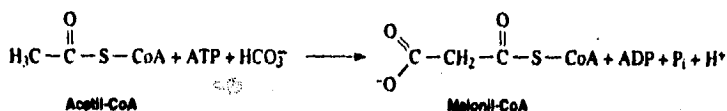
### 9.3.3. SINTESIS DE ACIDOS GRASOS

La síntesis de los ácidos grasos no tiene lugar por la vía inversa a la degradativa. Antes bien, consta de un nuevo conjunto de reacciones como ejemplo del principio de que las vías de síntesis y de degradación en los seres vivos son generalmente distintas. Algunas características sobresalientes de la vía para la biosíntesis de los ácidos grasos son:

- ◆ La síntesis se produce en el citosol, a diferencia de la degradación, que tiene lugar en la matriz mitocondrial.
- ◆ Los intermediarios en la síntesis de los ácidos grasos están covalentemente unidos a los grupos sulfhidrilo de una proteína portadora de grupos acilo ("acyl carrier protein", ACP), mientras que los intermediarios en la degradación de los ácidos grasos están ligados al coenzima A.
- ◆ En los organismos superiores muchos de los enzimas de la síntesis de los ácidos grasos están integrados en una única cadena polipeptídica llamada ácido graso sintetasa. Por el contrario, los enzimas degradativos no parecen estar asociados entre sí.
- ◆ La cadena del ácido graso en crecimiento se alarga por la adición secuencial de unidades de dos carbonos derivadas del acetil-CoA. El donador activado de unidades de dos carbonos en la etapa de elongación es el malonil-ACP. La reacción de elongación está dirigida por la eliminación de CO<sub>2</sub>.
- ◆ El reductor en la síntesis de los ácidos grasos es el NADPH, mientras que los oxidantes en la degradación de los ácidos grasos son el NAD<sup>+</sup> y el FAD.
- ◆ La elongación por el complejo ácido graso sintetasa se detiene en la formación del palmitato (C<sub>16</sub>). La elongación posterior y la inserción de dobles enlaces se lleva a cabo por otros sistemas enzimáticos.

FUENTE: SRYER, 1994

La síntesis de ácidos grasos comienza con la carboxilación del acetil-CoA hasta malonil-CoA. Esta reacción irreversible es la etapa limitante en la síntesis de los ácidos grasos. (27)(3)



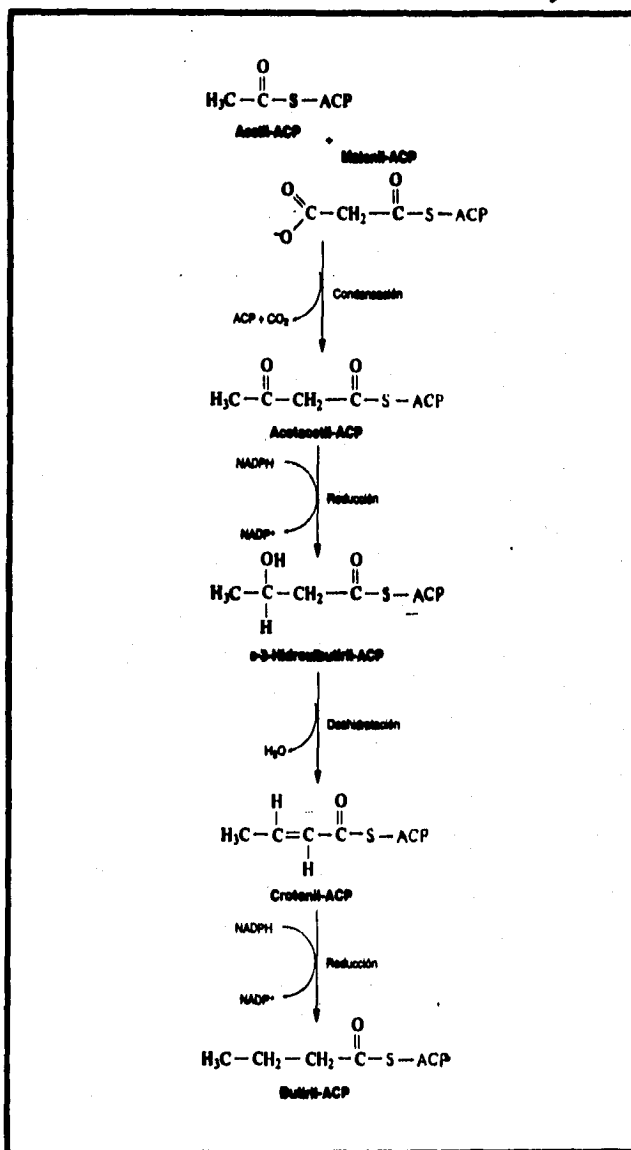


Figura 9-8 Secuencia de reacciones en la síntesis de ácidos grasos en *E. coli* : condensación, reducción, deshidratación y reducción. Los intermediarios indicados aquí se producen en el primer ciclo de la síntesis. Los ciclos de elongación continúan hasta que se forma un C<sub>16</sub>-acil-ACP. Este intermediario no es un sustrato para el enzima condensante, sino que se hidroliza para producir palmitato y ACP.

FUENTE: STRYER, 1994

### 9.3.3.1. LA ACETIL-CoA CARBOXILASA EJERCE UNA FUNCION CLAVE EN EL CONTROL DEL METABOLISMO DE LOS ACIDOS GRASOS

El metabolismo de los ácidos grasos está estrictamente controlado, de modo que la síntesis y la degradación obedecen fielmente a las necesidades fisiológicas. La síntesis de ácidos grasos es máxima cuando abundan los carbohidratos y cuando la carga energética es elevada y además escasean los ácidos grasos. *La acetil-CoA carboxilasa juega un papel clave en la regulación del metabolismo de los ácidos grasos* (fig. 9-9). Recordemos que este enzima cataliza la etapa limitante de la síntesis de los ácidos grasos, es decir, la producción de malonil-CoA (el dador de la unidad de dos carbonos activados). La carboxilasa está controlada por tres señales conjuntas: glucagón, adrenalina, e insulina; que reflejan las necesidades de todo el organismo. También ejercen un control los niveles de citrato, palmitil-CoA y AMP contenidos dentro de la célula (fig. 9-9). (4)

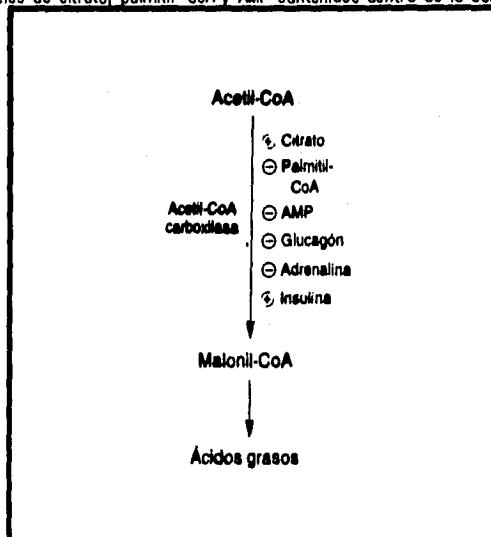


Figura 9-9 La acetil-CoA carboxilasa es un punto clave de control de la síntesis de ácidos grasos, porque cataliza la etapa limitante.

FUENTE: STRYER, 1994

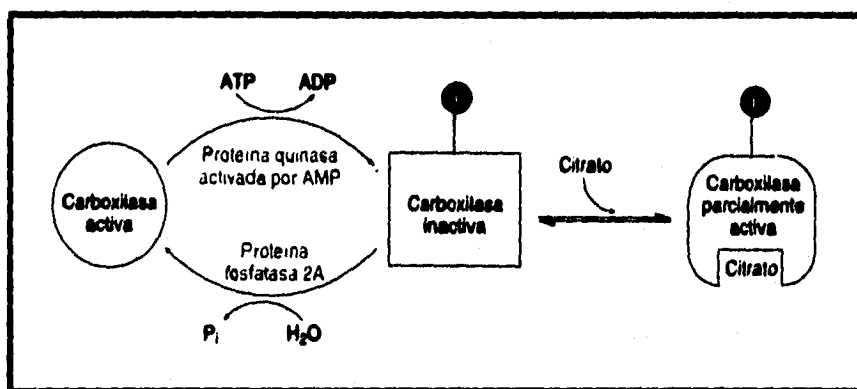


Figura 9-10 La acetil-CoA carboxilasa se inhibe por fosforilación y se activa por unión a citrato.  
FUENTE: STEVENS, 1994

#### 9.3.4. SÍNTESIS DEL COLESTEROL

El primer paso en la síntesis de colesterol es la formación de isopentenilpirofosfato a partir de acetil-CoA. Este conjunto de reacciones se inician con la formación de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (3-HMG-CoA) a partir de acetil-CoA y acetacetil-CoA. Uno de los destinos del 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA es su división en acetil-CoA y acetacetato. Alternativamente, el 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA puede reducirse a mevalonato (fig. 9-11). El 3-HMG-CoA está presente tanto en el citosol como en las mitocondrias de las células hepáticas. (51)

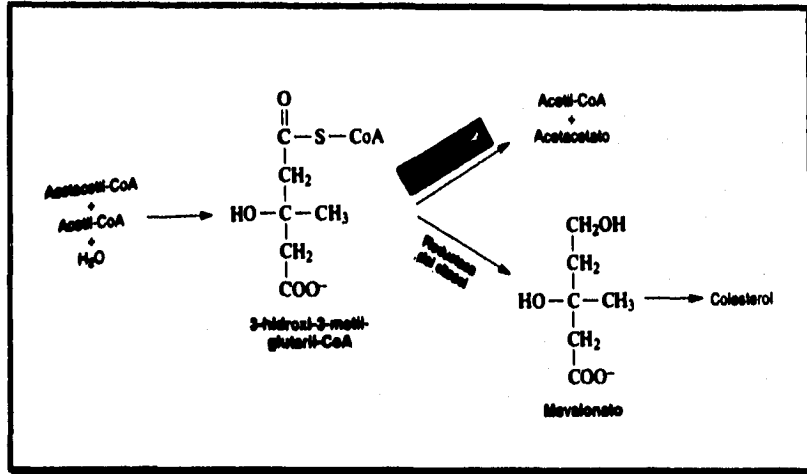


Figura 9-11 Síntesis y destinos de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA. La síntesis de mevalonato es la etapa limitante en la formación de colesterol.

FUENTE: STRYER, 1994

El mevalonato se convierte en 3-isopentenilpirofosfato en tres reacciones consecutivas que implican

ATP (fig. 9-12). (43)(51)

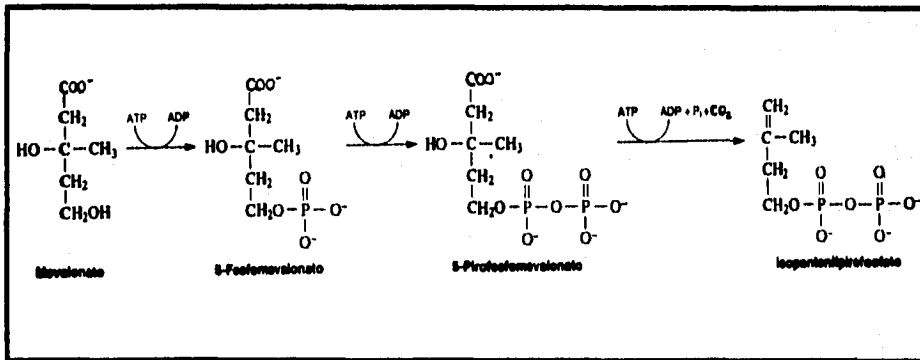


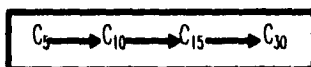
Figura 9-12 Síntesis de isopentenilpirofosfato a partir de mevalonato.

FUENTE: STRYER, 1994

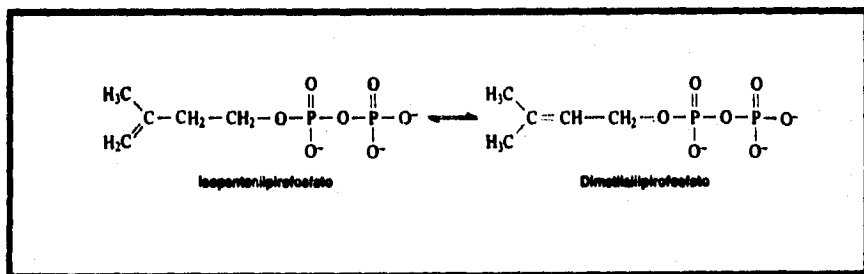


**SINTESIS DEL ESCUALENO (C<sub>30</sub>) A PARTIR DE SEIS MOLECULAS DE ISOPENTENILPIROFOSFATO (C<sub>5</sub>)**

El escualeno se sintetiza a partir de isopentenilpirofosfato mediante la secuencia de reacciones



Esta etapa en la síntesis del colesterol comienza con la isomerización del isopentenilpirofosfato hasta dimetilalilpirofosfato. (4)



Las reacciones que permiten convertir las unidades C<sub>5</sub> en escualeno, un isoprenoide C<sub>30</sub>, están señaladas en la figura 9-13.

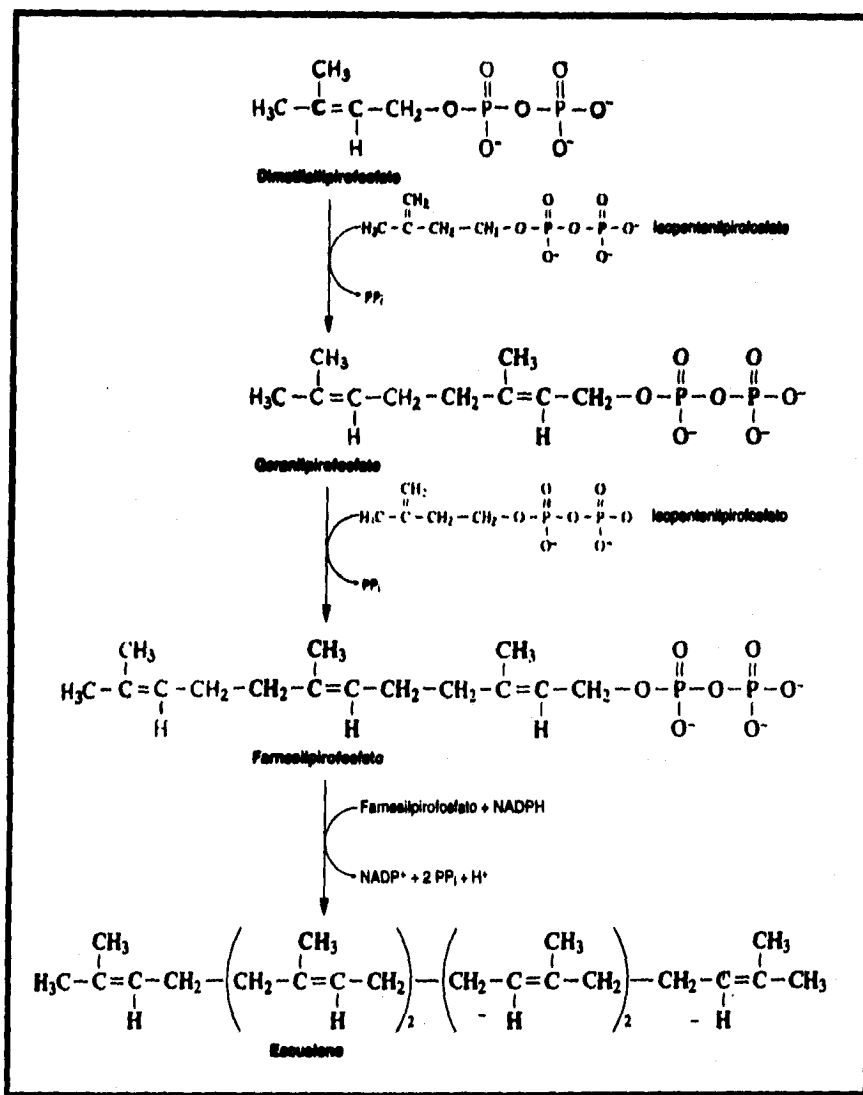


Figura 9-13 Síntesis del escualeno a partir de dimetilalilpirofosfato, un isómero del isopentenilpirofosfato.

FUENTE: STRYER, 1994

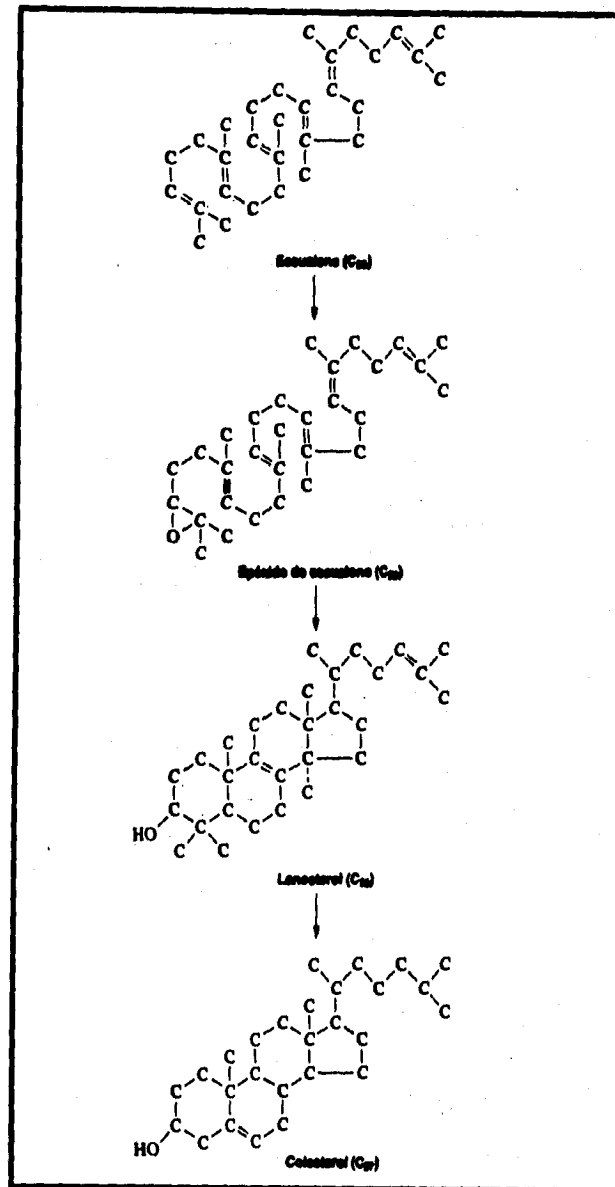


Figura 9-14 Síntesis de colesterol a partir de escualeno.  
FUENTE: STRYER, 1994

### 10.1. INTRODUCCION

Los tres principios nutritivos principales (los carbohidratos, los lípidos y las proteínas) experimentan hidrólisis enzimática durante la digestión en el tracto gastrointestinal de los mamíferos, hasta que se degradan rindiendo sus sillares fundamentales. La transformación es necesaria para que puedan ser empleados, ya que las células que recubren las paredes intestinales sólo son capaces de absorber, para trasladarlos a la corriente sanguínea, moléculas relativamente pequeñas. Por ejemplo, los polisacáridos y aún los disacáridos deben hidralizarse por completo, mediante los enzimas digestivos, antes de que puedan ser absorbidos. De modo análogo, las proteínas y los lípidos deben experimentar también una hidrólisis completa hasta rendir sus sillares componentes.

La figura 10-1 es un "mapa" para orientarse en el sistema digestivo humano. Aunque la digestión comienza en la boca y en el estómago, las fases finales de la digestión de todos los componentes de los alimentos principales y la absorción de sus sillares componentes por la sangre tiene lugar en el intestino delgado. Este se halla bien adaptado anatómicamente a estas funciones, ya que presenta una superficie muy grande a través de la cual puede realizarse la absorción. El intestino delgado no sólo es largo (de 37 a 43m) sino que también sus pliegues están dotados de numerosas protuberancias de forma dactilar, los vili. Cada una de ellas se halla recubierta de muchas células epiteliales, que poseen numerosos microvili. Los vili proporcionan un área superficial muy grande, a través de la cual los productos finales de la digestión pueden ser transportados

atravesando las células epiteliales y alcanzar los capilares sanguíneos y los vasos linfáticos interiores. El área de la superficie del intestino delgado humano es de unos  $180\text{m}^2$ , un poco menor que la superficie de un campo de tenis. (27)

Los microvilli contienen haces de microfilamentos de actina que conectan con una red de filamentos de miosina situados en la base de los microvilli. Este sistema de filamentos dota a los microvilli de un movimiento ondulatorio, lo que proporciona una agitación local que facilita la adsorción de los nutrientes digeridos. (51)

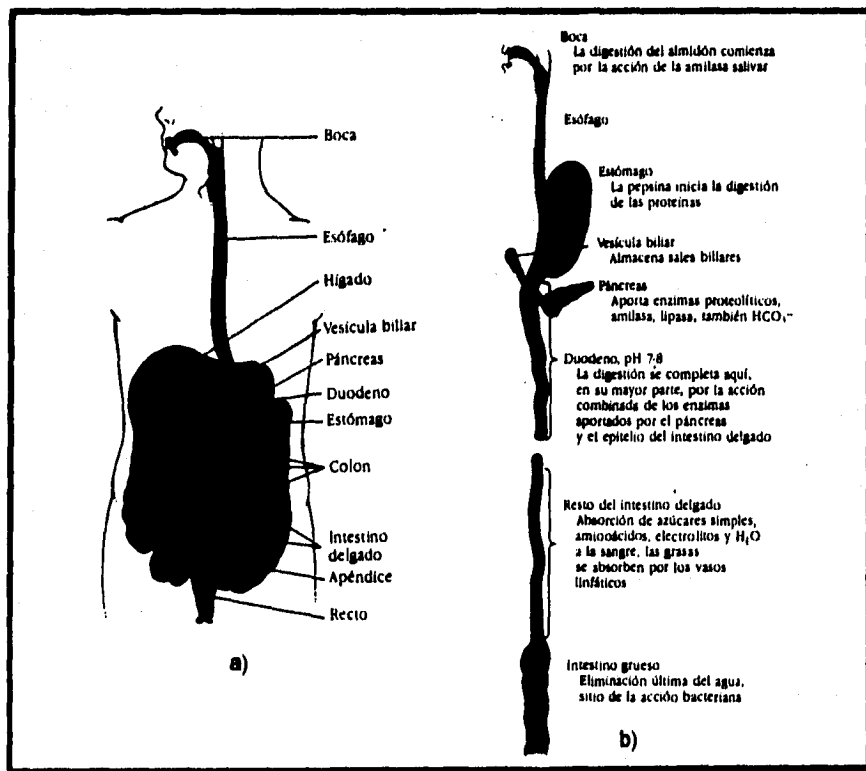


Figura 10-1 a) Tracto gastrointestinal humano. b) Diagrama de la digestión y de la absorción.  
FUENTE: LEIBINGER, 1991

### 10.2. VIA METABOLICA DE CARBOHIDRATOS

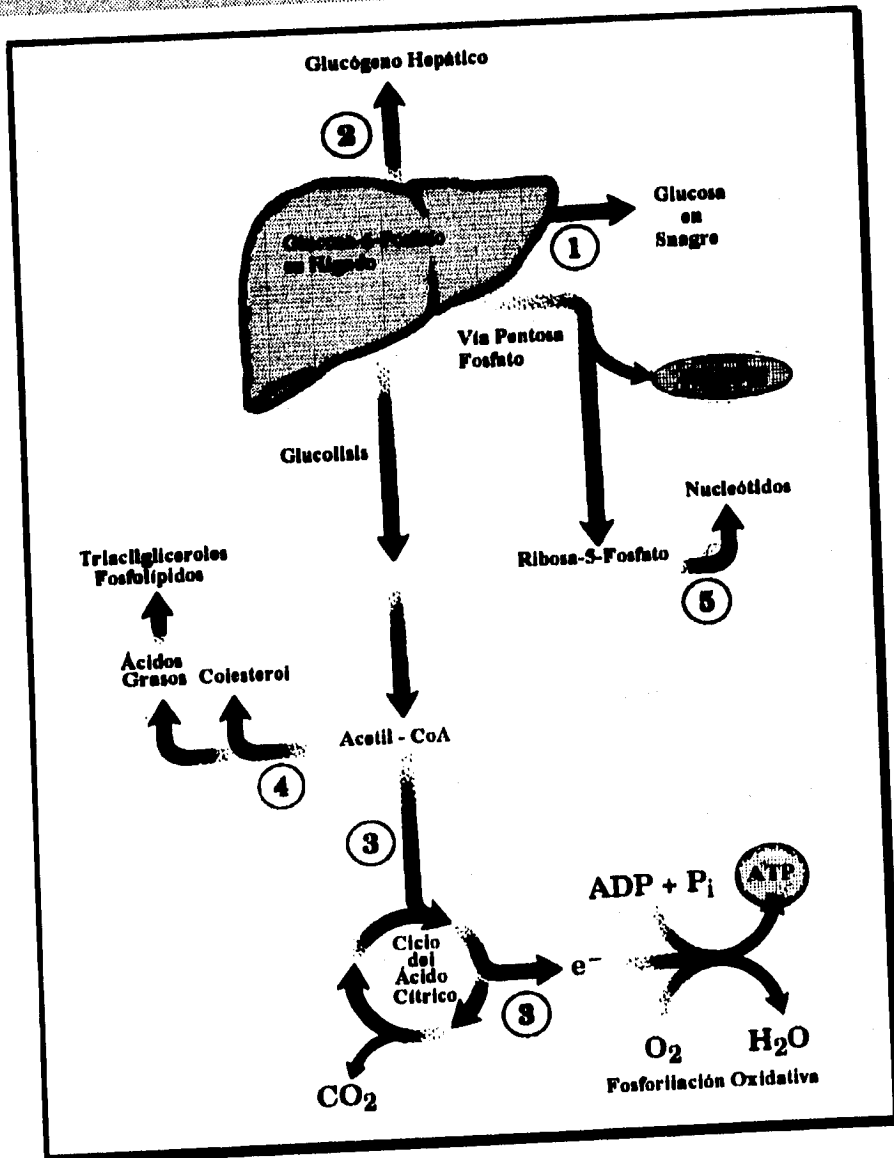


Figura 10-2 Via metabólica para glucosa-6-fosfato en el hígado.

FUENTE: LEHNINGER, 1993

### 10.3. VIA METABOLICA DE AMINOACIDOS

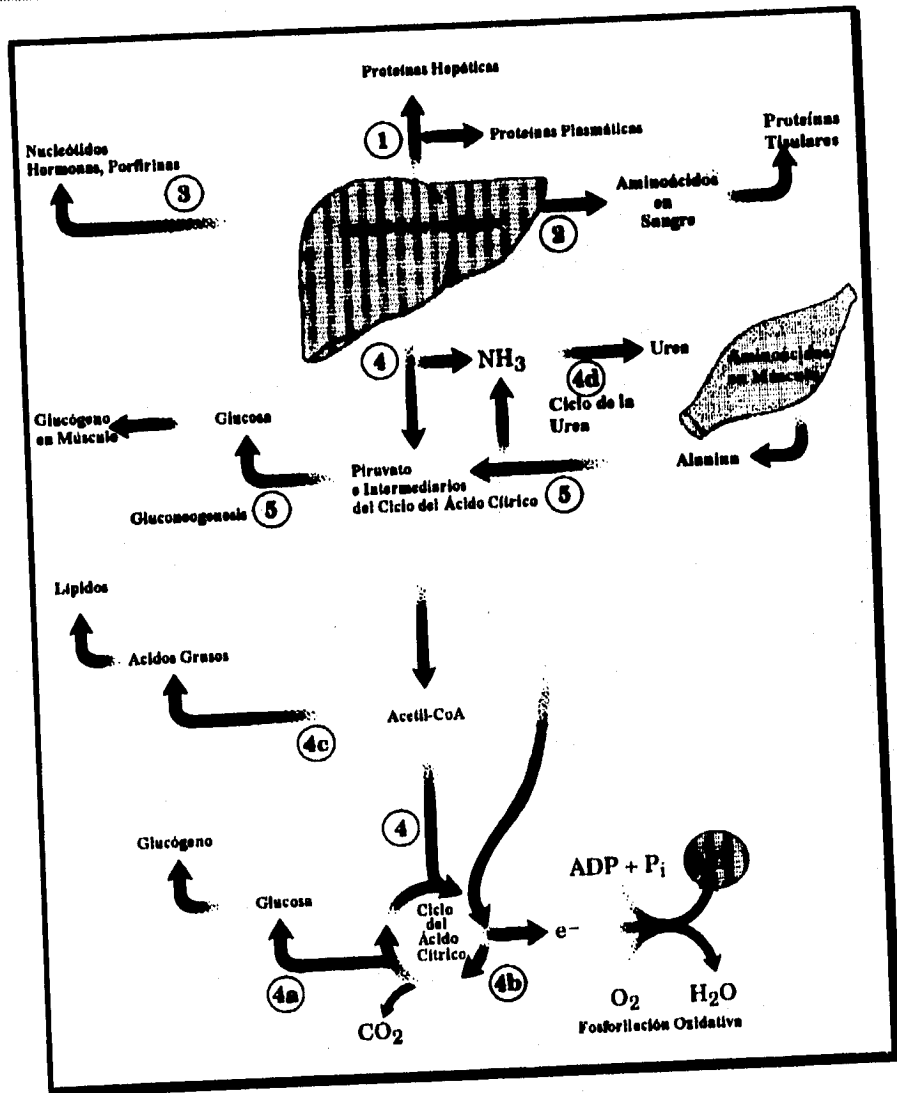


Figura 10-3 Metabolismo de aminoácidos en el hígado.

FUENTE: LEHNINGER, 1993

### 10.4. VIA METABOLICA DE ACIDOS GRASOS

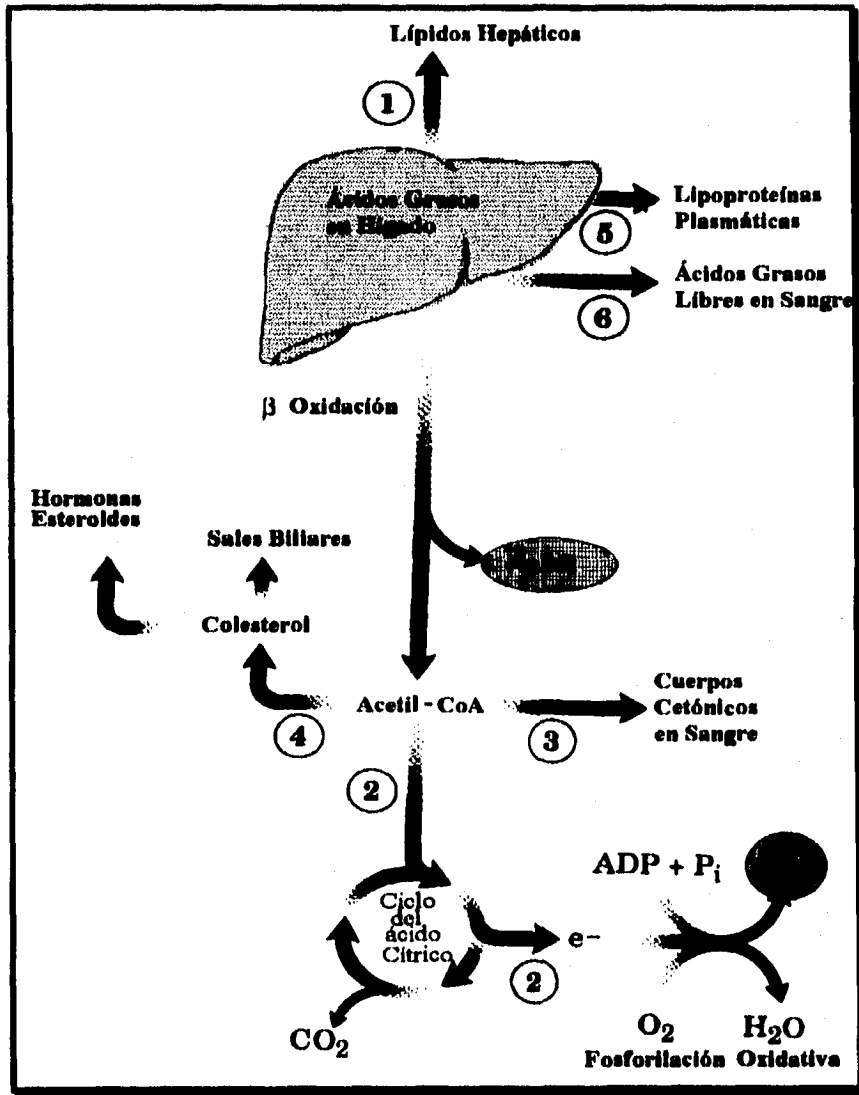


Figura 10-4 Metabolismo de ácidos grasos en el hígado.  
FUENTE: LEHNINGER, 1993





### 11.1. INTRODUCCION

Para estudiar cualquier serie de procesos relacionados entre sí, dentro de un sistema, normalmente es necesario estudiar las partes componentes del sistema. Ello requiere generalmente el aislamiento de los componentes y un análisis de éstos para establecer sus papeles individuales, seguido de una apreciación de cómo estos papeles encajan en el sistema funcional global, esto se puede llevar a cabo empleando ciertas técnicas instrumentales y de laboratorio.

Por lo que nuestra finalidad al incluir este capítulo es la de facilitar a los estudiantes la comprensión por medios ilustrativos algunos fundamentos y técnicas utilizadas en la bioquímica práctica, como lo son las diversas cromatografías, la diálisis, la electroforesis y el enfoque isoelectrónico. Espero que esta nueva característica de la obra ilustre como se abordan muchos problemas importantes en la investigación bioquímica.

## 11.2. TÉCNICAS ELECTROFORÉTICAS

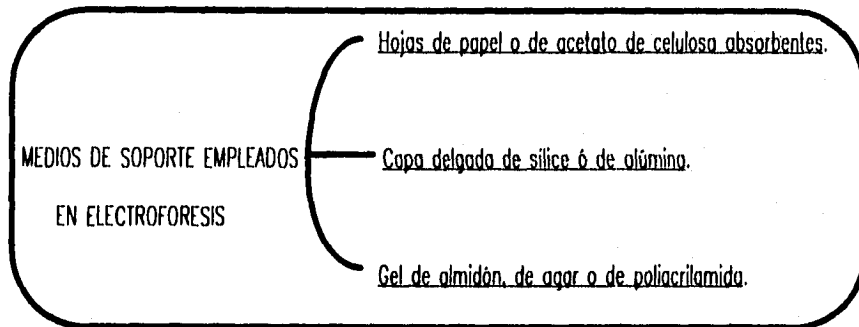
### 11.2.1. FUNDAMENTO GENERAL DE LA ELECTROFORESIS

Una molécula con una carga neta se desplaza en un campo eléctrico. Este fenómeno, llamado electroforesis, ofrece un método poderoso para separar muchas moléculas importantes en biología tales como aminoácidos, péptidos, proteínas y ácidos nucleicos, que poseen grupos ionizables y puede hacerse que existan en disolución en forma de especies con carga eléctrica, tanto como cationes (+) o como aniones (-). Además, las moléculas que tienen cargas similares poseerán distintas relaciones carga/masa, debido a inherentes diferencias de peso molecular. En conjunto estas diferencias constituyen base suficiente para una migración diferencial, cuando los iones en disolución se someten a un campo eléctrico. (6)

Los cationes se trasladan hacia el cátodo (-) y los aniones hacia el ánodo (+) a velocidades que dependen del equilibrio entre la fuerza impulsora del campo eléctrico sobre los iones cargados de la muestra y las fuerzas de retardo entre las moléculas migrantes y el medio circundante, y que son principalmente de fricción y electrostáticas. El material de la muestra debe estar disuelto o suspendido en una disolución tampón para que tenga efecto la electroforesis, y el medio de soporte tiene que estar saturado también con tampón para conducir la corriente. La corriente entre los electrodos es conducida tanto por la muestra como por las iones del tampón en disolución, mientras que la corriente, en el resto del circuito, es conducida por electrones. La corriente se mantiene por todo el circuito al tener lugar la electrólisis en los electrodos, los cuales están sumergidos en grandes recipientes con disolución tampón. (6)

La versatilidad de la electroforesis para la separación de sustancias con carga eléctrica, desde pequeños iones inorgánicos hasta grandes moléculas, depende en gran parte de que se lleve a cabo

sobre o en un medio de soporte inerte y relativamente homogéneo. Algunas veces, puede idearse un medio que interactúe específicamente con los iones que hay que separar, para explotar así las diferencias de la relación carga/masa e introducir de este modo fuerzas de retardo especiales que convengan al análisis. (6)



Los medios de soporte se emplean saturados de tampón, y cada uno de ellos puede ofrecer alguna ventaja sobre los otros para una determinada separación. Una característica común del empleo de todos los medios de soporte es la de que las sustancias migran formando zonas distintivas, las cuales al final del análisis se pueden detectar fácilmente mediante técnicas analíticas adecuadas. (6)

#### LA MUESTRA

La naturaleza de las compuestas con carga eléctrica afecta a su velocidad de migración de varias formas: (5)(6)

**CARGA.** La velocidad de migración aumenta cuando hay un incremento de la carga neta. Generalmente, la magnitud de la carga depende del pH.

**TAMAÑO.** La velocidad de migración es menor en las moléculas grandes, debido al incremento de las fuerzas de fricción y electrostáticas ejercidas por el medio circundante.

**FORMA.** Las moléculas de tamaño similar pero con diferentes formas, tales como las proteínas fibrosas y las globulares, exhiben distintas características migratorias a causa de los diferentes efectos de las fuerzas de fricción y electrostáticas.

### 11.2.2. ELECTROFORESIS EN PAPEL

No existe un papel especial para electroforesis; el papel de cromatografía es adecuado. El empleo de papel como medio de soporte es muy cómodo, pues no necesita de más preparación que el cartarlo al tamaño correcto. Cuando se emplean sistemas de papel siempre tiene lugar alguna adsorción, pero ésta puede disminuirse utilizando un tampón que sea más alcalino que el punto isoelectrico de la muestra. No obstante, siempre tiene lugar un cierto grado de electroósmosis a causa de la composición química del papel. (6)

La electroforesis de papel es la más sencilla y, probablemente, la más ampliamente utilizada de las técnicas electroforéticas.(fig. 11-1) y se ha mostrado satisfactoria para la separación de toda una gama de compuestas con carga eléctrica, pero su empleo ha sido sobrepasado por la electroforesis sobre acetato de celulosa y gel, que proporcionan una mayor resolución. La magnitud de la difusión de los pequeños moléculas es considerable en todos esos medios, y normalmente se obtienen mejores resultados con la electroforesis de alto voltaje. (27)(28)

#### PROCEDIMIENTO

Se coloca una gota de disolución acuosa de la mezcla problema (en este caso de aminoácidos) sobre una tira de papel de filtro humedecida con un tampón a un pH determinado. Se aplica un campo eléctrico de alto voltaje a la tira de papel. Debido a la diferencia de  $pK'$  los aminoácidos emigran en direcciones diferentes y a velocidades diferentes a lo largo de la tira, dependiendo del pH del sistema tampón y del voltaje aplicado. Por ejemplo, a pH 1,0, la histidina, la arginina, y la

lisina poseen una carga de +2 y se desplazan más rápidamente al cátodo cargado negativamente que los demás aminoácidos, los cuales poseen carga +1. Por otra parte, a pH 6 los aminoácidos con carga positiva (lisina, arginina, histidina) se desplazan hacia el cátodo y los aminoácidos con carga negativa (ácido aspártico y ácido glutámico) hacia el ánodo. Todos los demás aminoácidos permanecerán en el origen o muy próximos a él, ya que no poseen otros grupos que puedan ionizarse que los  $\alpha$ -amino y los  $\alpha$ -carboxilo y tienen, por ello, casi el mismo punto isoeléctrico, tal como puede determinarse de los valores de  $pK'_1$  y  $pK'_2$  de la tabla 4-2. Para localizar los aminoácidos sobre el papel se procede a secar éste, se pulveriza con ninhidrina y se calienta. Aparecerán sobre el papel manchas azules o púrpúreas, cada una de las cuales indica la presencia de un aminoácido. Especímenes conocidos de los diferentes aminoácidos, en las mismas condiciones, se emplean como "marcadores" a fin de determinar sus localizaciones características e identificar su presencia en la mezcla. (fig. 11-1). (27)

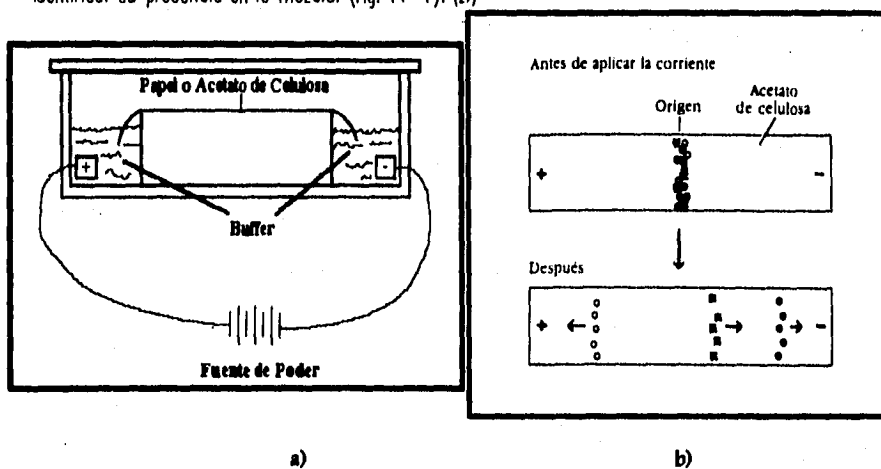


Figura 11-1 a) Aparato de electroforesis horizontal. b) Vista superior de la electroforesis de una mezcla de 3 proteínas en una tira que bien puede ser papel o acetato de celulosa humedecida con un tampón de pH fijo.

FUENTE: BOYER, 1986 y LEZINGIER, 1991

### 11.2.3. ELECTROFORESIS EN ACETATO DE CELULOSA

En los comercios se encuentra un acetato de celulosa de gran pureza en tiras delgadas y uniformes. Se produce muy poca adsorción de la muestra, de modo que se puede conseguir una gran resolución con pequeñas cantidades de ella, incluso en las grandes moléculas. Como quiera que el acetato de celulosa es menos hidrófilo que el papel, retiene menos tampón y, por tanto, una mayor proporción de corriente es conducida por la muestra, lo que proporciona separaciones muy rápidas (fig. 11-1). Esto provoca una mayor producción de calor, de manera que cuando se emplean elevados voltajes hay que tener cuidado de que no se seque la tira por evaporación.

La electroforesis sobre acetato de celulosa se emplea ampliamente. La carencia de adsorción por parte del acetato de celulosa tiene la ventaja de que, cuando se utilizan radioisótopos, las áreas radioactivas están claramente definidas dado la gran resolución del sistema. (5)(6)

### 11.2.4. ELECTROFORESIS DE CAPA FINA

En este tipo de electroforesis se pueden preparar sobre placas de vidrio capas finas de sílice, kieselguhr, alúmina o celulosa. Las placas se sitúan horizontalmente en el aparato de electroforesis, y se deja que la capa fina se sature de tampón, por difusión desde el recipiente a través de mechas de conexión. La electroforesis de capa fina (e.c.f.), es rápida y proporciona una buena resolución y una alta sensibilidad. (6)

Cuando se emplea conjuntamente con la cromatografía, la e.c.f. constituye un método conveniente para las separaciones bidimensionales, si la electroforesis en una dimensión va seguida de una cromatografía en una segunda dimensión. Ello proporciona un medio valioso para caracterizar proteínas e hidrolizados de ácidos nucleicos, observando los característicos patrones de nucleótidos

y de aminoácidos—esta técnica se conoce como la de "huellas dactilares". Para separaciones con alto voltaje, también pueden usarse medias de copa fina como los antes descritos. (6)

#### **11.2.5. ELECTROFORESIS EN GEL**

Las separaciones electroforéticas se realizan casi siempre sobre geles (o sobre soportes sólidos como el papel), en vez de disoluciones libres, por dos razones principales. La primera, los geles suprimen las corrientes de convección producidas por pequeños gradientes de temperatura, lo cual es un requerimiento para una separación más efectiva. La segunda, los geles sirven de tamices moleculares que potencian la separación. (fig. 11-3). Las moléculas más pequeñas que los poros del gel se desplazan fácilmente a través de él, mientras que las moléculas mucho mayores que los poros del gel permanecen casi inmóviles. Las moléculas de tamaños intermedios se desplazan o a través del gel con diversos grados de dificultad. (6)(42)

#### **11.2.6. ELECTROFORESIS EN GELES DE POLIACRILAMIDA**

Los geles de poliacrilamida son los soportes de elección para la electroforesis, porque son químicamente inertes y se forman con facilidad mediante polimerización de la acrilamida. Además, escogiendo distintas concentraciones de acrilamida y metilénbisacrilamida (un reactivo que establece enlaces cruzados) y variando los tiempos de polimerización se pueden conseguir tamaños de poro controlados (fig. 11-2). (5)(6)(42)(47)





entonces a electroforesis sobre gel de poliacrilamida, que normalmente se utiliza como un bloque delgado dispuesto verticalmente (fig. 11-3). La dirección de la electroforesis es vertical descendente. Por último, las proteínas pueden visualizarse sobre gel tiñéndolas con plata o con un colorante tal como el azul de Coomassie, que revela una serie de bandas (fig. 11-3). Si hubiese marcaje radioactivo podría detectarse colocando una película de rayos X sobre el gel y revelándola, procedimiento conocido como *autorradiografía*. (19)(42)(47)

*Las proteínas pequeñas se desplazan rápidamente a través del gel, mientras que las grandes permanecen arriba, cerca del punto de aplicación de la mezcla.* El desplazamiento de la mayoría de las cadenas polipeptídicas es, en estas condiciones, linealmente proporcional al logaritmo de la masa (fig. 11-4). Esta relación empírica no es universal; algunas proteínas ricas en azúcares y las proteínas de membrana emigran de forma anómala. La electroforesis sobre gel de SDS-poliacrilamida es rápida, sensible y capaz de un alto grado de resolución. La electroforesis y la tinción subsiguiente requieren varias horas de trabajo. Cuando se tiñe con azul de Coomassie, basta 0,1  $\mu\text{g}$  de proteína ( $\sim 2$  pmoles) para dar una banda diferenciada, mientras que con tinción de plata se necesita menor cantidad ( $\sim 0,02 \mu\text{g}$ ). Pueden habitualmente distinguirse entre sí proteínas que difieren en su masa sólo en un 2% (p.ej., 40 y 41 kd, lo que supone una diferencia aproximada de 10 residuos). (19)(42)(47)

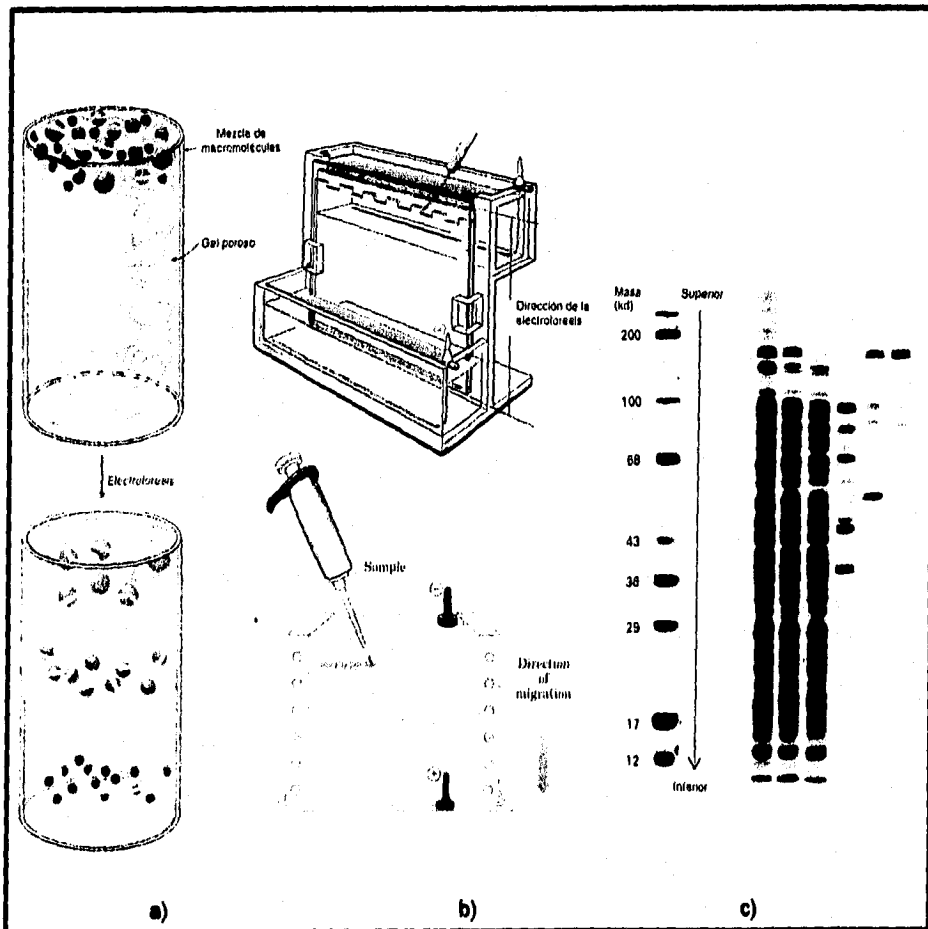


Figura 11-3 a) Acción de tamizado de un gel poroso de poliacrilamida. b) Carga de las muestras para electroforesis. Normalmente varias muestras se separan por electroforesis en un gel plano de poliacrilamida. Se utiliza una microjeringa para aplicar la disolución de proteínas en los pocillos del gel. Entonces se coloca una tapa sobre la cámara del gel y se aplican 200 voltios. Los complejos de SDS-proteína cargados negativamente migran en dirección al ánodo, la parte inferior del gel. c) Las proteínas separadas por electroforesis sobre gel de SDS-poliacrilamida pueden visualizarse por tinción con azul de Coomassie.

FUENTE: LEHNINGER, 1995 Y STRYER, 1994

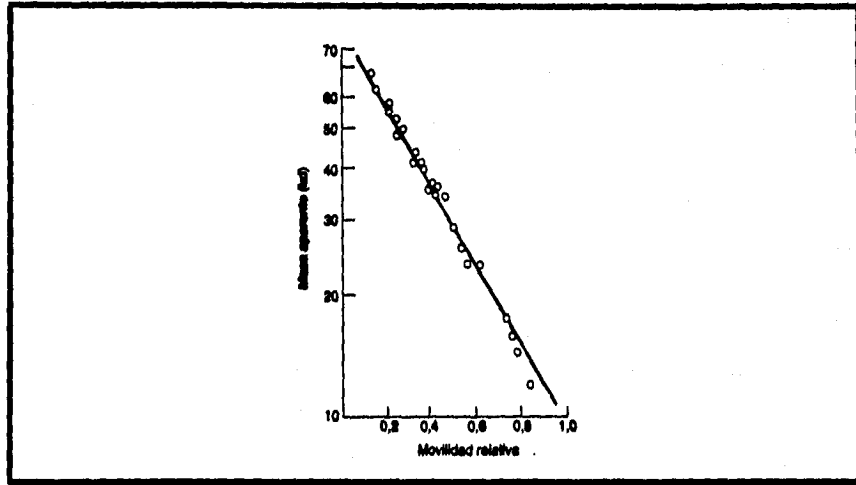


Figura 11-4 Las movilidades electroforéticas de muchas proteínas en geles de SDS-poliacrilamida son inversamente proporcionales al logaritmo de sus masas respectivas.  
FUENTE: STRYER, 1994

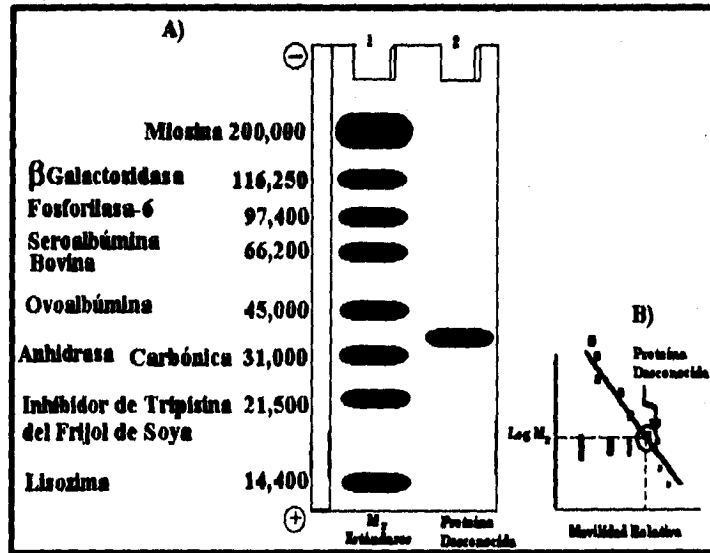


Figura 11-5 Estimación del peso molecular de una proteína. a) Estándar de proteínas de peso molecular conocido se colocan para la electroforesis en el carril 1. b) Una gráfica de logaritmo de peso molecular de las proteínas conocidas contra la migración relativa durante la electroforesis, permite hallar el peso molecular de la proteína desconocida.  
FUENTE: LEHNINGER, 1993

Las proteínas pueden también separarse electroforéticamente según sus contenidos relativos de aminoácidos ácidos o básicos. El *punto isoeléctrico* (pI) de una proteína es aquel pH en el cual su carga neta es cero. En este pH, su movilidad electroforética es nula. Así, por ejemplo, el pI del citocromo c, una proteína muy básica transportadora de electrones, es igual a 10,6; en cambio, el de la seroalbúmina, una proteína ácida de la sangre, es 4,8. Supongamos que una mezcla de proteínas, se somete a electroforesis, en un gradiente de pH, en un gel carente de SDS. Cada proteína se moverá en el gel hasta alcanzar una posición en la que el pH del medio coincida con el pI de la proteína. Este método de separación de proteínas según sus puntos isoeléctricos se denomina *isoelectroforesis* (fig. 11-6 y 11-7). El gradiente de pH del gel se consigue sometiendo a electroforesis previa una mezcla de polianfolitos (pequeños polímeros multicargados) con diferentes valores de pI. El isoelectroforesis permite distinguir proteínas que difieran en sus pI tan poco como 0,01, lo que significa que una sola carga neta basta para separarlos. El isoelectroforesis combinado con electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida permite obtener separaciones con una resolución muy elevada (fig. 11-7). (5)(26)(42)(47)

**Tabla 11-1 Puntos Isoeléctricos De Algunas Proteínas.**

Proteína	pH isoeléctrico.
Pepsina	<1,0
Ovoalbúmina	4,6
Seroalbúmina	4,9
Ureosa	5,0
$\beta$ -Lactoglobulina	5,2
$\gamma_1$ -Globulina	6,6
Hemoglobina	6,8
Mioglobina	7,0
Quimotripsinógeno	9,5
Citocromo c	10,7
Lisozima	11,0

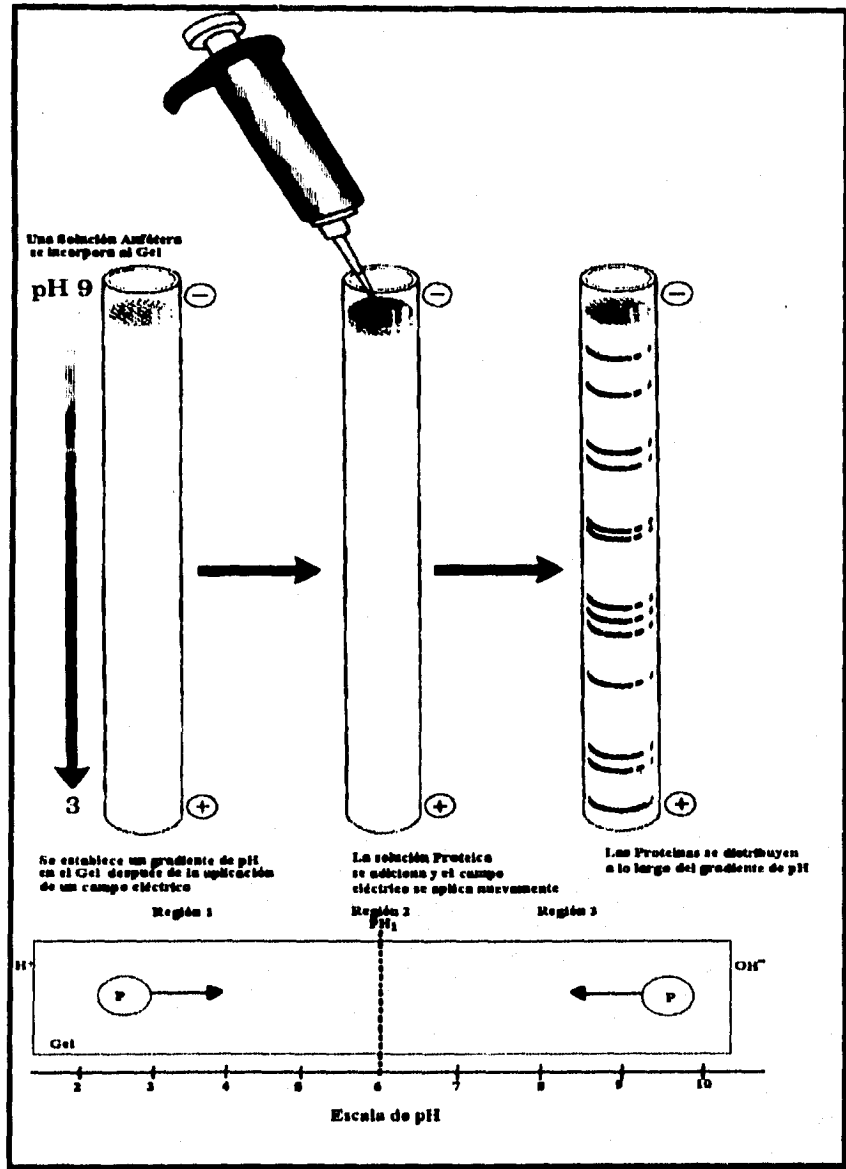


Figura 11-6 Enfoque isoelectrico. Esta técnica separa proteínas de acuerdo a sus puntos isoelectricos.

FUENTE: BOYER, 1986 y LEHNINGER, 1993

Enfoque Isoeléctrico

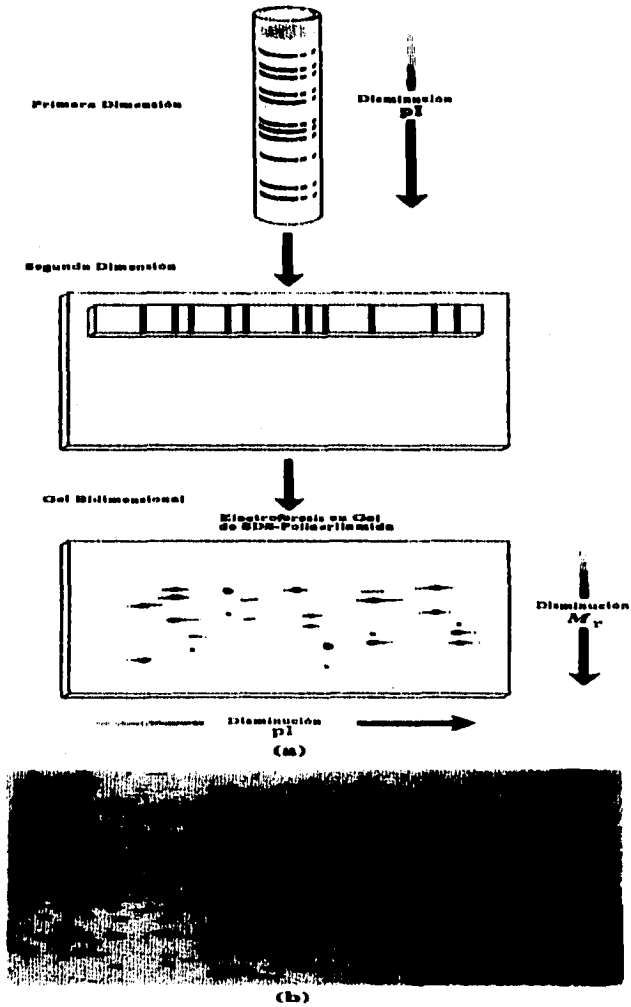


Figura 11-7 Electroforesis en dos dimensiones. Una única muestra se somete primero al isoelectroenfoque. Este gel se coloca ahora horizontalmente encima de un gel de SDS-poliacrilamida. De esta forma las proteínas quedan distribuidas en la parte superior del gel de acuerdo con su movilidad durante el isoelectroenfoque. A continuación se someten de nuevo a electroforesis en dirección perpendicular (verticalmente) para obtener una distribución bidimensional de las manchas. a) En un gel así, las proteínas se han separado horizontalmente según sus puntos isoelectrónicos y verticalmente según las masas moleculares. b) Es sorprendente que aplicando este sistema bidimensional a la bacteria *E.coli* se consiguen individualizar más de un millar de proteínas diferentes en un sólo experimento.  
FUENTE: STRYER, 1994

### 11.2.7. ELECTROFORESIS EN GELES DE ALMIDÓN

Los geles de almidón se preparan por calentamiento y enfriamiento de una mezcla de almidón parcialmente hidrolizado con un tampón adecuado, lo que hace que las cadenas ramificadas de las moléculas se entrelacen formando un gel semirrigido. La selección del tampón apropiado para los geles de almidón con frecuencia es empírica, y se ha utilizado una amplia gama de ellos con éxito. Los geles "débiles", de gran porosidad, se pueden preparar incorporando menos del 2% de almidón (p/v) al tampón, y los geles "fuertes", de baja porosidad, añadiendo del 8 al 15% (p/v). Sin embargo, no hay manera de conocer el tamaño exacto del poro de los geles de almidón.

En la práctica, los geles tienen la forma de bloques rectangulares, cuyas dimensiones varían según si la separación se ha de llevar a cabo con el gel en posición horizontal o vertical. Los geles horizontales tienen las dimensiones típicas de 20x10x0,6 cm, mientras que los verticales tienen como dimensiones 25x12,5x0,6 cm. Generalmente, los geles se disponen en bandejas de Perspex y se conservan a 0-4°C antes de su uso. (6)

La aplicación más importante de los geles de almidón en electroforesis ha sido la separación de mezclas complejas de moléculas estructurales y de proteínas fisiológicamente activas. (6)

### 11.2.8. ELECTROFORESIS EN GELES DE AGAR

El agar es una mezcla de dos polímeros de la galactosa, la agorosa y la agaroplectina. Como gel al 1% (p/v) en tampón, el agar posee un elevado contenido de agua, y los movimientos de los iones durante la electroforesis son muy rápidos. Cuando se detiene la electroforesis, también es rápida la difusión iónica. Esta propiedad hace del agar un medio muy apropiado para la separación y detección de antígenos por inmunoelectroforesis. (6)



### 11.3.1. FUNDAMENTO

Las proteínas pueden separarse de los moléculas pequeñas por medio de una diálisis a través de una membrana semipermeable, cuyas poros son ultramicroscópicas como por ejemplo la celofana o celulosa (fig. 11-8). Las moléculas con dimensiones significativamente mayores que el diámetro del poro quedan retenidas dentro del saco de diálisis al tiempo que las moléculas y los iones menores atraviesan los poros de la membrana y aparecen en el dializado fuera del saco de diálisis. Así, cuando un saco de diálisis contiene un extracto de tejido o celular y se suspende en agua, las moléculas pequeñas existentes en el extracto, tales como las sales, atravesarán los poros pero las proteínas de peso molecular elevado permanecerán en su interior. (26)(42)

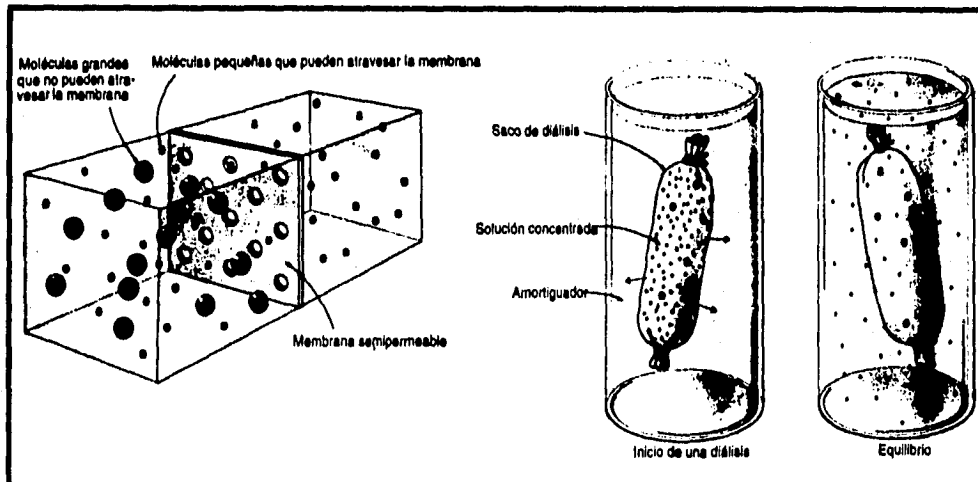


Figura 11-8 Diálisis. Separación de moléculas según su tamaño. Principio y Aplicación.  
FUENTE: STAVEL, 1994



### 11.4.1. FUNDAMENTOS GENERALES DE LA CROMATOGRAFIA

Las técnicas cromatográficas pueden utilizarse para la separación de grandes (varios gramos) o de pequeñas cantidades (picogramos) de materiales. La selección de una forma particular de cromatografía para conseguir una separación depende del material que hay que aislar, y es frecuente que se puedan utilizar varios métodos cromatográficos uno tras otro para lograr la purificación de un compuesto. Desde la introducción de la cromatografía como técnica analítica, se han utilizado numerosos refinamientos y nuevos métodos para ampliar el campo de acción de esta técnica. (5)(6)(40)

El término *coeficiente de distribución o de reparto* se usa generalmente para describir el modo como un compuesto se distribuye entre dos fases inmiscibles. Para un compuesto que se distribuye entre dos determinados disolventes, el valor de este coeficiente es una constante a una temperatura determinada, y puede definirse así:

$$\frac{\text{concentración en el disolvente A} = \text{constante}}{\text{concentración en el disolvente B}}$$

Sin embargo, la distribución de un compuesto puede describirse no sólo en términos de su distribución entre dos disolventes, sino también por su distribución entre dos fases cualesquiera, tales como sólido/líquido o gas/líquido. Así, el coeficiente de distribución de una sustancia entre el ácido silícico y el benceno puede ser de 0,5, lo que significa que la concentración de la sustancia en el benceno es doble que en el ácido silícico. Este concepto del coeficiente de distribución es el fundamento básico de la cromatografía. Con fines cromatográficos, el coeficiente de distribución se

define, convenientemente, como la concentración en la fase móvil dividida por la concentración en la fase estacionaria. (6)(40)

Todos los sistemas cromatográficos constan fundamentalmente de dos fases. Una de ellas es la fase estacionaria, que puede ser sólida, líquida o una mezcla de sólido y líquido inmobilizada. La segunda, la fase móvil, puede ser líquida o gaseosa y discurre por o a través de la fase estacionaria. La selección de fases estacionarias o móviles se hace de manera que los compuestos a separar tengan distintos coeficientes de distribución. Esto puede conseguirse estableciendo:

(5)(6)(40)

1. un equilibrio de adsorción entre un sólido estacionario y una fase líquida móvil (*cromatografía de adsorción*).
2. un equilibrio de reparto entre un líquido estacionario (o un semilíquido) y una fase líquida móvil (*distribución en contracorriente y cromatografía de papel*).
3. un equilibrio de reparto entre un líquido estacionario y una fase gaseosa móvil (*cromatografía gas-líquido*).
4. un equilibrio de intercambio iónico entre una resina de intercambio iónico como fase estacionaria y una fase de electrolito móvil (*cromatografía de intercambio iónico*).
5. un equilibrio entre una fase líquida en el interior y en el exterior de una estructura porosa o "tamiz molecular" (*cromatografía de permeabilidad o de filtración por gel*).
6. un equilibrio entre una macromolécula y una pequeña molécula por la que tiene una elevada especificidad biológica y por tanto afinidad (*cromatografía de afinidad*).

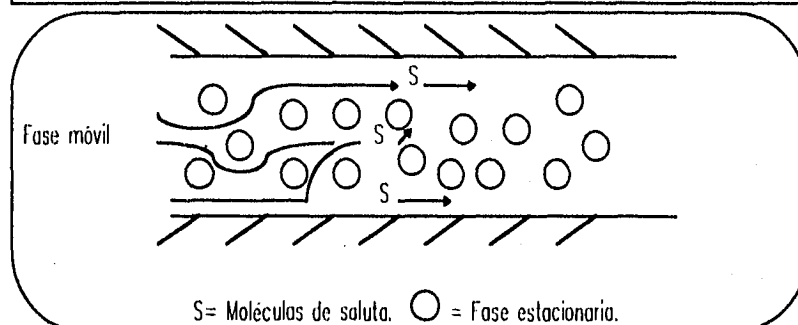


Figura 11-9 Representación de el principio de la cromatografía.

FUENTE: BOYER, 1986

#### 11.4.2. CROMATOGRAFIA DE FILTRACION POR GEL

Unas separaciones más selectivas atendiendo al tamaño pueden conseguirse mediante esta técnica. En este procedimiento, que es una forma de cromatografía, la disolución que contiene la mezcla de proteínas se hace fluir, en sentido descendente, por una columna que contiene perlas porosas muy pequeñas de un polímero insoluble con un grado de hidratación muy elevado, tal como el dextrano o la agarosa (que son carbohidratos) o bien la poliacrilamida. El Sephadex, la Sepharosa y el Bio-gel, utilizados habitualmente, son distintas preparaciones comerciales de estos gránulos o esferas de un diámetro medio de  $100\mu\text{m}$  (0,1mm) (tabla 11-2). Las moléculas de proteína menores pueden penetrar en los poros de las perlas y experimentan, por tanto, un retraso en su flujo descendente en la columna (fig. 11-10) pero las moléculas de proteína grandes no pueden penetrar en las perlas y descienden por la columna con más rapidez. Las proteínas de tamaño intermedio fluyen en la columna a velocidades intermedias, dependiendo del grado en que puedan penetrar en las perlas. Esta columna de filtración en gel recibe también el nombre de *columna de filtración molecular*. (5)(6)(76)(42)

Adviértase que el orden de aparición de las moléculas en una columna de bolitas porosas es inverso al orden de la electroforesis sobre gel, en la cual una trama continua de polímero impide el movimiento de las moléculas mayores (fig. 11-3). La cromatografía de filtración por gel permite obtener mucha mayor cantidad de proteína que la electroforesis, pero lo hace a cambio de un menor poder resolutivo. (6)(42)

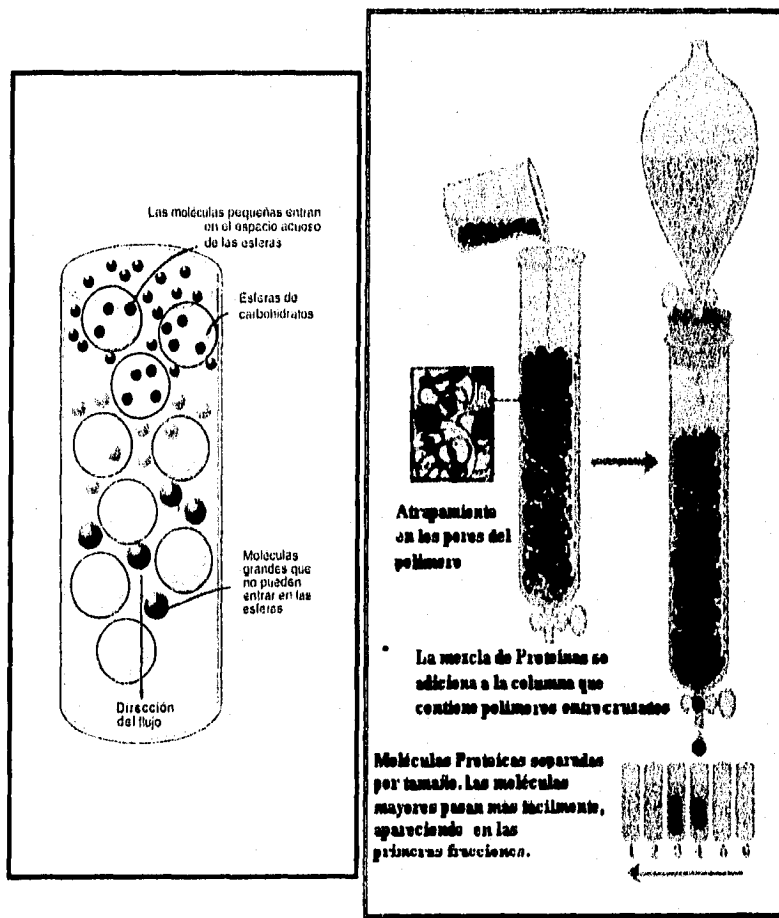


Figura 11-10 Separación de 3 proteínas de diferentes tamaños mediante la cromatografía de filtración en gel. Las proteínas grandes se eluyen antes que las pequeñas porque no pueden penetrar en el volumen interno de las bolitas.

FUENTE: LEHNINGER, 1993 Y SIVRY, 1994

Tabla 11-2 Propiedades De Los Medios De Filtración Por Gel.

Nombre	Rangos de fraccionamiento para proteínas (PM en daltons)	Agua residual (ml/g gel seco)	Volúmen del lecho (ml/g gel seco)
Dextran (Sephadex)			
G-10	0-700	1.0+/-0.1	2-3
G-15	0-1500	1.5+/-0.2	2.5-3.5
G-25	1000-5000	2.5+/-0.2	4-6
G-50	1500-30,000	5.0+/-0.3	9-11
G-75	3000-80,000	7.5+/-0.5	12-15
G-100	4000-150,000	10+/-1.0	15-20
G-150	5000-300,000	15+/-1.5	20-30
G-200	5000-600,000	20+/-2.0	30-40
Poliacrilamida (Bio-Gels)			
P-2	100-1800	1.5	3.0
P-4	800-4000	2.4	4.8
P-6	1000-6000	3.7	7.4
P-10	1500-20,000	4.5	9.0
P-30	2500-40,000	5.7	11.4
P-60	3000-60,000	7.2	14.4
P-100	5000-100,000	7.5	15.0
P-150	15,000-150,000	9.2	18.4
P-200	30,000-200,000	14.7	29.4
P-300	60,000-400,000	18.0	36.0
(Sephacryl)			
S-200	5000-250,000	-	-
S-300	10,000-1,500,000	-	-

Agarosa (Sepharosa)			
2B	70,000-40,000,000	-	-
4B	60,000-20,000,000	-	-
6B	10,000-4,000,000	-	-
Vinil (Fractagel TSK)			
HW-40	100-10,000	-	-
HW-55	1000-700,000	-	-
HW-65	50,000-5,000,000	-	-
HW-75	500,000-50,000,000	-	-
(Bio-Gel)			
A-0.5m	10,000-500,000	-	-
A-1.5m	10,000-1,500,000	-	-
A-5m	10,000-5,000,000	-	-
A-15m	40,000-15,000,000	-	-
A-50m	100,000-50,000,000	-	-
A-150m	1,000,000-150,000,000	-	-

**Combinación Poliacrilamida-Agarosa.**

Tipo de gel	Acrilamida % (p/v)	Agarosa % (p/v)	Rango de Fraccionamiento
Ultragel AcA 202	20	2	1,000-20,000
Ultragel AcA 54	5	4	5,000-70,000
Ultragel AcA 44	4	4	10,000-130,000
Ultragel AcA 34	3	4	20,000-350,000
Ultragel AcA 22	2	2	100,000-1,200,000

FUENTE: BOYER, 1986

### 11.4.3. CROMATOGRAFIA DE INTERCAMBIO IONICO

Las proteínas pueden también separarse en función de su carga eléctrica mediante la *cromatografía de intercambio iónico*. Si una proteína tiene a pH 7 una carga positiva, normalmente se unirá a una columna rellena de bolitas conteniendo grupos carboxilato, mientras que una proteína cargada negativamente no lo hará (fig. 11-11). Una proteína con carga positiva unida a la columna, puede ser eluida (liberada) aumentando la concentración de cloruro de sodio u otra sal en el tampón eluyente. Los cationes de sodio compiten con los grupos positivos de la proteína en su capacidad de unirse a la columna. Las proteínas de baja densidad de cargas positivas se eluirán primero, seguidas por las de mayor densidad de carga. Otros factores, aparte de la densidad de carga, son la afinidad por la matriz soporte, que también influye en el comportamiento de las proteínas en este tipo de columnas. Para separar las proteínas con carga negativa (aniónicas) se utilizan columnas con relleno cargado positivamente, como, por ejemplo, dietilaminoetilcelulosa (DEAE-celulosa). Inversamente, las proteínas positivas (catiónicas) pueden separarse por columnas negativas, como las de carboximetilcelulosa (CM-celulosa). (5)(6)(26)(40)(42)

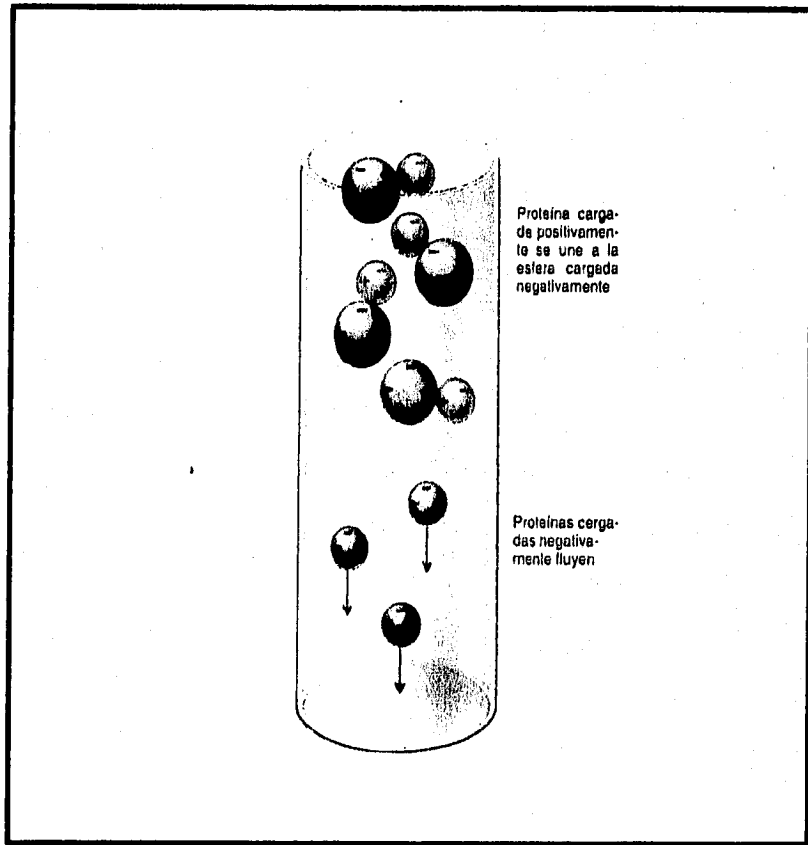


Figura 11-11 La cromatografía de intercambio iónico separa las proteínas principalmente por sus cargas netas.  
FUENTE: STRYER, 1994



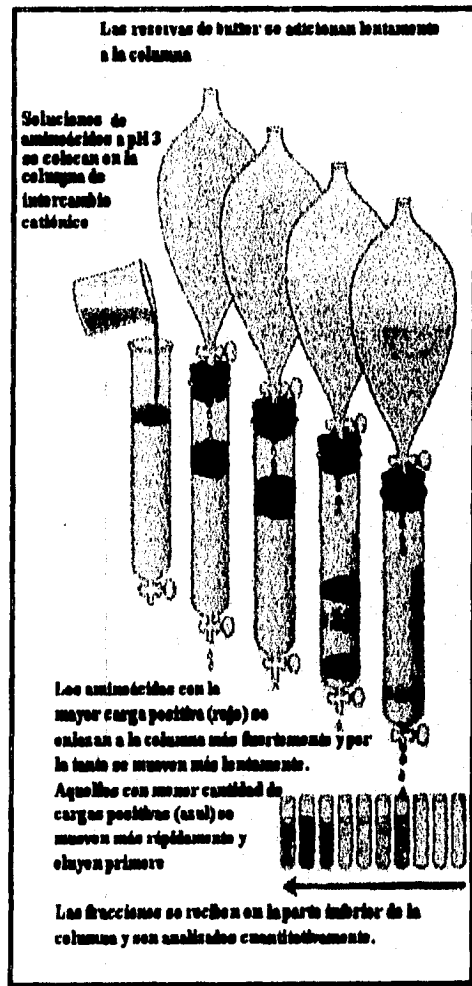
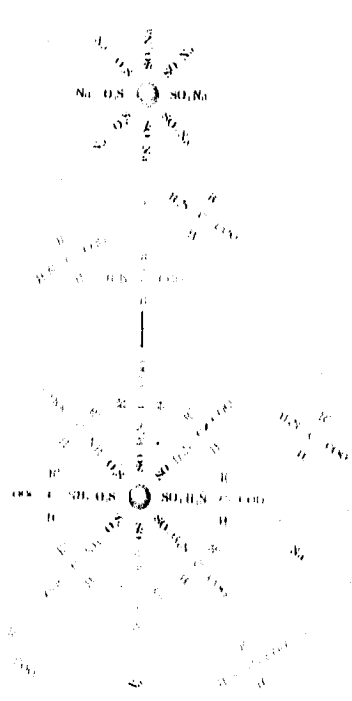


Figura 11-12 Cromatografía de intercambio iónico. Se presenta un ejemplo de una resina intercambiadora de cationes.

FUENTE: LEHNINGER, 1993

Tabla 10-3 Resinas De Intercambio Iónico.

Nombre			
Intercambiadoras de aniones	Grupo funcional	Matriz	Clase
AG1	Tetrametilamonio	poliestireno	fuerte
AG3	Amino terciaria	poliestireno	débil
DEAE-celulosa	Diethylaminoetil	celulosa	débil
PTI-celulosa	Polietilénimina	celulosa	débil
DEAE-Sephadex	Diethylaminoetil	dextran	débil
QAE-Sephadex	Diethyl-(2-hidroxiopropil)-aminoetil	dextran	fuerte
Intercambiadora de cationes			
AG 50	Acido sulfónico	poliestireno	fuerte
Bio-Rex 70	Acido carboxílico	acrílico	débil
CM-Celulosa	Carboximetil	celulosa	débil
P-Celulosa	Fosfato	celulosa	medio
CM-Sephadex	Carboximetil	dextran	débil
SP-Sephadex	Sulfopropil	dextran	fuerte

FUENTE: BOYER, 1986

#### 11.4.4. CROMATOGRAFIA DE AFINIDAD

La purificación de una macromolécula por cromatografía de afinidad se aprovecha de la propiedad más singular de las macromoléculas, es decir, de su *especificidad biológica*. En consecuencia, esta técnica es capaz teóricamente de efectuar una purificación virtualmente absoluta, en contraste con métodos tales como la cromatografía de permeabilidad y la electroforesis, los cuales, al estar basados en propiedades químico-físicas (que pueden ser muy similares entre macromoléculas relacionadas), no siempre proporcionan el grado de purificación deseado.

Hasta el presente, la técnica se ha utilizado principalmente para la purificación de proteínas, vitaminas, hormonas, complejos multienzimáticos, entre otros. (5)(6)(40)(42)

En el caso de una enzima, su estructura tridimensional es tal, que su lugar activo y su (s) lugar (s) regulador (es) son accesibles sólo para un pequeño número de compuestos (ligandos), que pueden ser tanto sustratos como efectores de tipo reversible o irreversible. Es este reconocimiento específico de estos lugares, lo que constituye la base de la cromatografía de afinidad para las enzimas. Con tal que la afinidad del lugar por el ligando sea grande, que la unión sea reversible y que en las condiciones experimentales escogidas no tenga lugar reacción alguna, una vez que el ligando se ha fijado al lugar, la purificación es posible. (40)(42)

Fundamentalmente, la técnica consiste en dejar que el ligando (que normalmente es un inhibidor competitivo) se fije covalentemente a una matriz insoluble adecuada, de tal modo que su capacidad de combinación con el enzima no resulte perjudicada. Seguidamente, se aplica el enzima impuro a una columna de ligando-matriz inmersa en un medio tamponado adecuado, con lo que el enzima resulta retenido selectivamente. Las impurezas que no se han unido se eluyen primeramente, y

después se desplaza al enzima por elución mediante una disolución de sustrato en un medio de distinta pH y/o fuerza iónica. (6)(42)

En el caso de la concanavalina A, una proteína vegetal, puede purificarse pasando el extracta cruda a través de una columna que contenga residuos de glucosa enlazados covalentemente. La concanavalina A se adhiere a esa columna a causa de su afinidad por la glucosa, mientras que la mayoría de las otras proteínas no son adsorbidas. La concanavalina A adherida puede ser liberada de esa columna mediante adición de una disolución concentrada de glucosa. La glucosa disuelta desplaza a los residuos de glucosa unidos a la columna de las puntas de enlace con la concanavalina A (fig. 11-13). En general, la cromatografía de afinidad puede ser eficaz para aislar una proteína capaz de reconocer un grupo X mediante los siguientes pasos: 1) unión covalente de X a un derivado suyo a la columna, 2) adición de una mezcla de proteínas a esa columna, lavando a continuación para separar las proteínas no enlazadas, y 3) elución de la proteína deseada por adición de una concentración elevada de una forma soluble de X (fig. 11-14). (42)

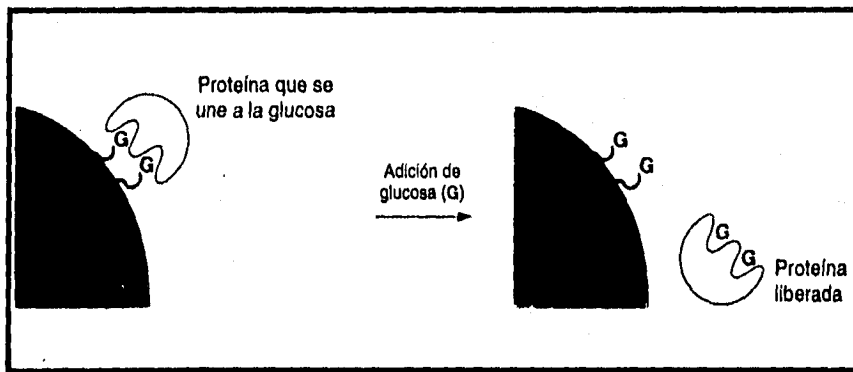


Figura 11-13 Cromatografía de afinidad de concanavalina A (representada en forma de copa de hongo) en un soporte sólido que contiene residuos de glucosa (G) enlazados covalentemente.

FUENTE: STRYER, 1994

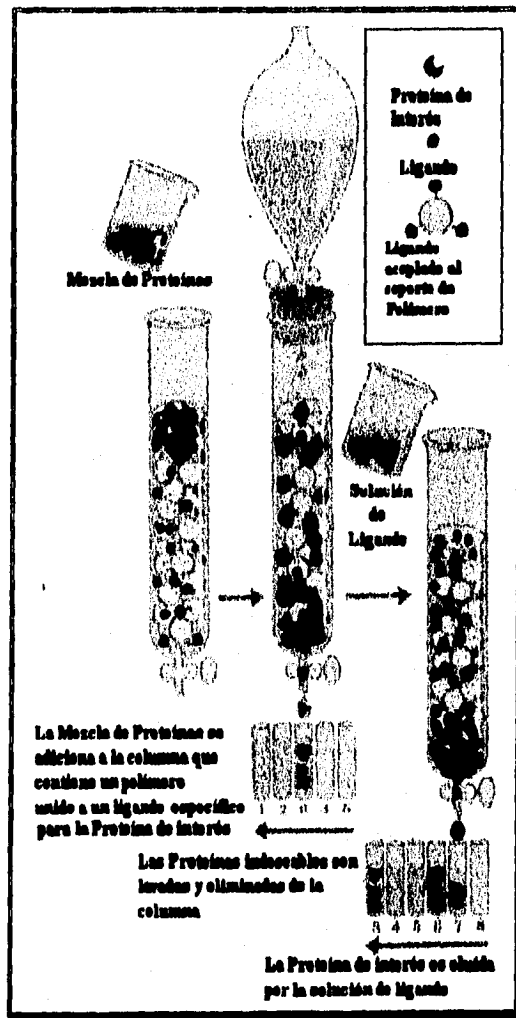


Figura 11-14 Cromatografía de afinidad.  
FUENTE: LEHNINGER, 1995

### 11.4.5. CROMATOGRAFIA EN PAPEL

Esta técnica se basa en el principio de que un compuesto se reparte o distribuye entre dos fases líquidas. En un ambiente que contiene vapor de agua, el papel de cromatografía absorbe una cantidad de agua que mantiene entre las fibras de celulosa del papel. Esta agua se considera como uno de los disolventes y constituye la fase estacionaria. Si se permite que un disolvente no acuoso (la fase móvil) se traslade por el papel impulsado por la acción capilar, tan pronto como el disolvente alcance a cualesquiera moléculas de soluto en el papel, éstas se distribuirán entre las dos fases en una proporción característica de sus coeficientes de reparto. Cuanto más soluble sea un soluto en la fase móvil, tanto más se trasladará el compuesto por el papel en la dirección del flujo del disolvente y viceversa. (5)(6)

La distancia recorrida por un soluto en la dirección del flujo del disolvente durante una separación cromatográfica se caracteriza mediante el término valor de  $R_f$ , que se define como sigue:

$$\frac{\text{distancia recorrida por el soluto}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$$

Este valor es constante para un compuesto determinado bajo condiciones estándar, y refleja estrechamente el coeficiente de distribución del compuesto. En el caso de los carbohidratos, con frecuencia se utiliza por conveniencia el término valor de  $R_g$ , que se define así:

$$\frac{\text{distancia recorrida por el carbohidrato}}{\text{distancia recorrida por la glucosa}}$$

es decir, todos los valores se determinan con respecto a la glucosa. (5)(6)(40)

### 11.4.5. CROMATOGRAFIA EN PAPEL

Esta técnica se basa en el principio de que un compuesto se reparte o distribuye entre dos fases líquidas. En un ambiente que contiene vapor de agua, el papel de cromatografía absorbe una cantidad de agua que mantiene entre las fibras de celulosa del papel. Esta agua se considera como uno de los disolventes y constituye la fase estacionaria. Si se permite que un disolvente no acuoso (la fase móvil) se traslade por el papel impulsado por la acción capilar, tan pronto como el disolvente alcance a cualesquiera moléculas de soluto en el papel, éstas se distribuirán entre las dos fases en una proporción característica de sus coeficientes de reparto. Cuanto más soluble sea un soluto en la fase móvil, tanto más se trasladará el compuesto por el papel en la dirección del flujo del disolvente y viceversa. (5)(6)

La distancia recorrida por un soluto en la dirección del flujo del disolvente durante una separación cromatográfica se caracteriza mediante el término valor de  $R_f$ , que se define como sigue:

$$\frac{\text{distancia recorrida por el soluto}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$$

Este valor es constante para un compuesto determinado bajo condiciones estándar, y refleja estrechamente el coeficiente de distribución del compuesto. En el caso de los carbohidratos, con frecuencia se utiliza por conveniencia el término valor de  $R_g$ , que se define así:

$$\frac{\text{distancia recorrida por el carbohidrato}}{\text{distancia recorrida por la glucosa}}$$

es decir, todos los valores se determinan con respecto a la glucosa. (5)(6)(40)

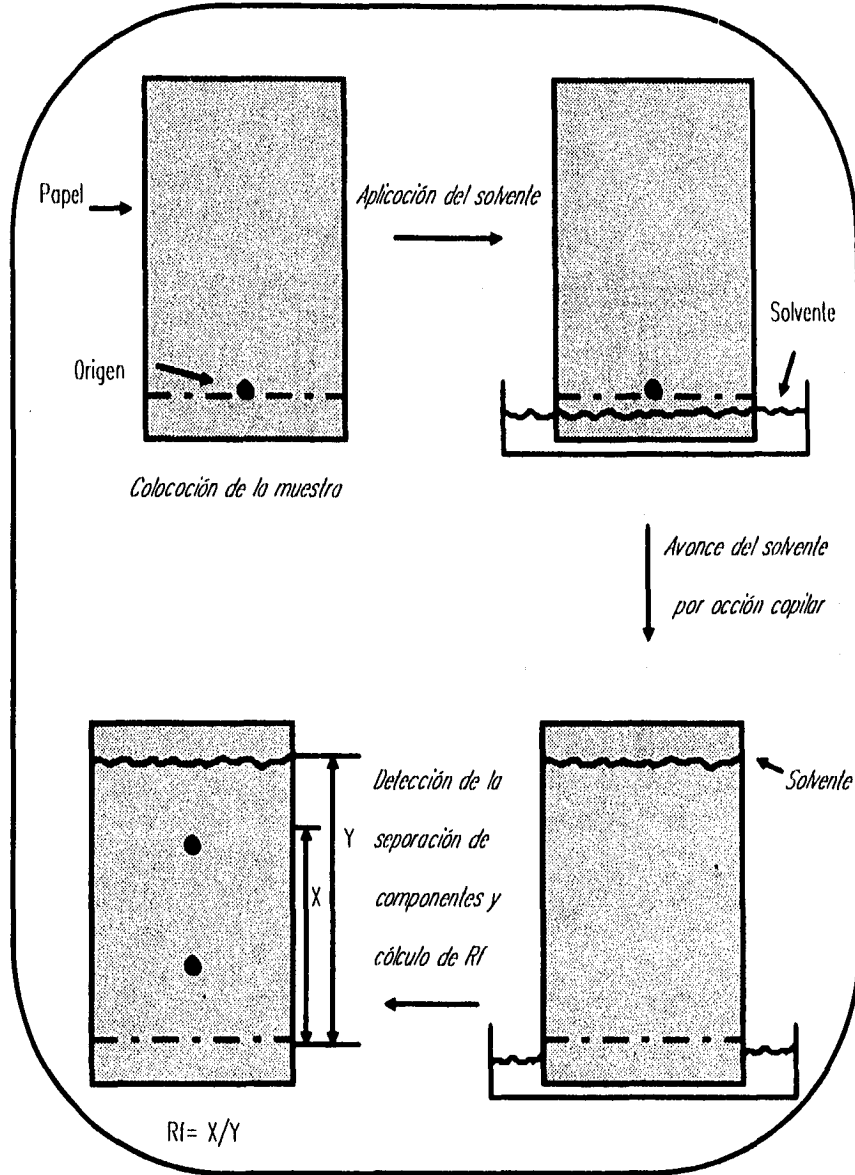


Figura 11-15 Cromatografía en papel.

FUENTE: BOYER, 1986



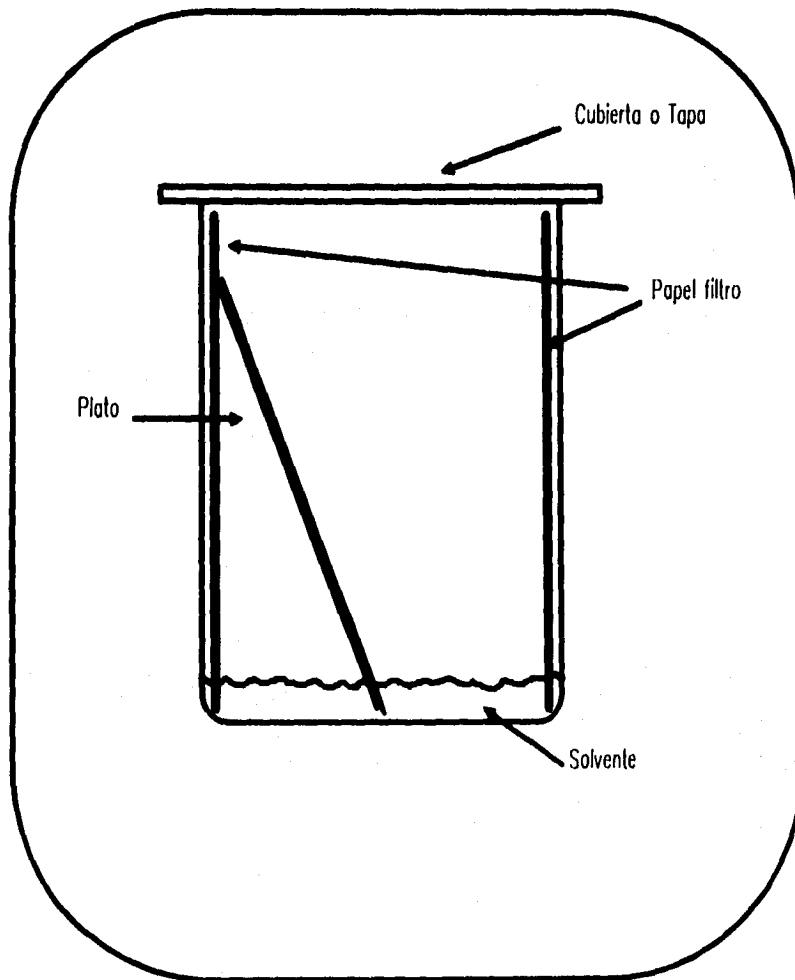
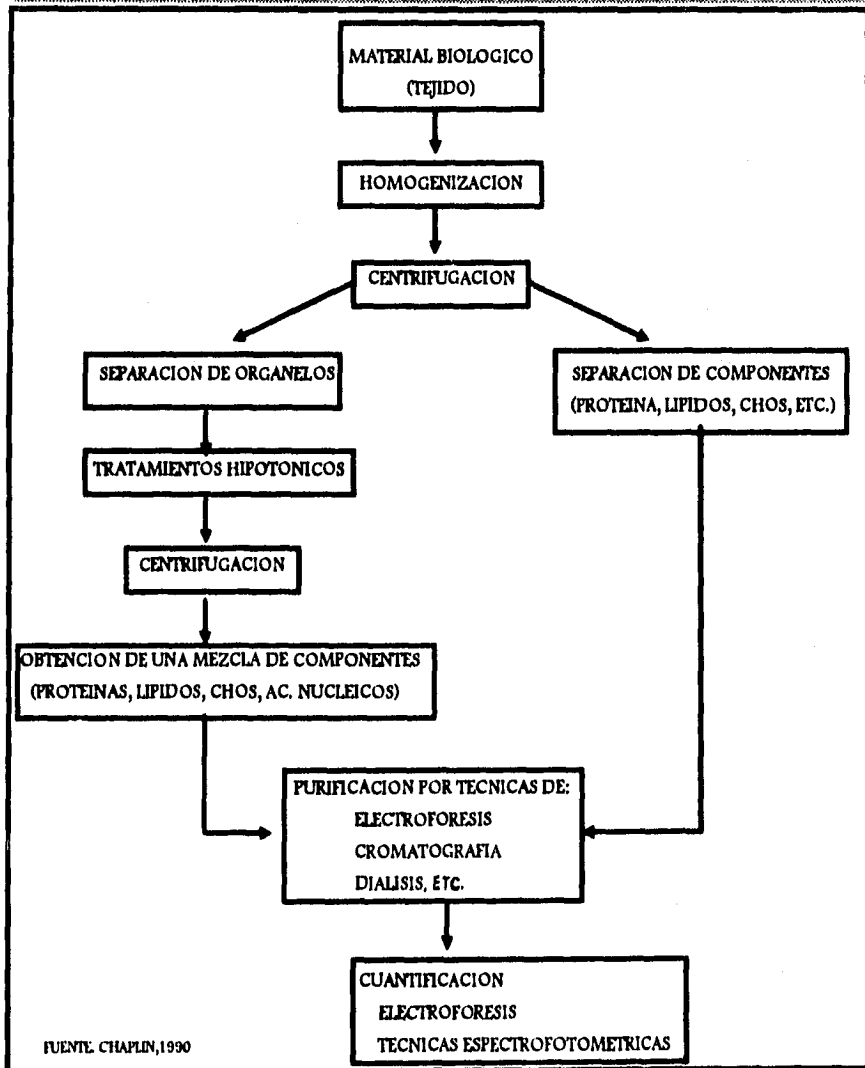


Figura 11-16 Cámara típica de cromatografía en papel.  
FUENTE: BOYER, 1986

### 11.5. METODOLOGIA GENERAL REALIZADA A UN MATERIAL BIOLÓGICO PARA LA EXTRACCIÓN Y ESTUDIO DE BIOMOLECULAS



*Miriam Alvarez Velasco*

## **COMENTARIO**

La realización de este manual , me ayudo a comprender conocimientos, así como a conocer otros más, que estoy segura me serán de gran utilidad en el área de los alimentos, que como sabemos son materiales biológicos, constituidos por biomoléculas. Este manual fue enriquecido por conceptos e ilustraciones tomadas de bibliografía actualizada del área bioquímica; la mayoría de los esquemas presentados fueron traducidos con la finalidad de proporcionar al lector todos los elementos necesarios para facilitar la comprensión de esta ciencia.

Espero que este manual facilite la comprensión de los estudiantes que cursan la materia de Bioquímica General, aún si tienen orientaciones académicas diversas.

## **CONCLUSIONES**

Para la realización del presente trabajo se cumplió de forma favorable el objetivo general, ya que se consultó, se seleccionó y se sintetizó, bibliografía actualizada del área bioquímica, con la finalidad de dar a los lectores información confiable e ilustrativa de cada uno de los temas que conforman el curso teórico de la asignatura de Bioquímica General impartida en la Carrera de Ingeniería en Alimentos, pudiendo ser también empleado en cualquier curso de Bioquímica General.

La finalidad fundamental del manual de Bioquímica General pretende ser un apoyo para la impartición de la asignatura, agilizando el curso teórico, además de buscar la comprensión de los diferentes temas, relacionándolos con esquemas que de manera importante ayudan a la retención de los mismos.



1. ALBERTS, B., BRAY, D., ET AL., 1990. *BIOLOGIA MOLECULAR DE LA CELULA* ESPAÑA. 1232p.p. EDICIONES OMEGA, S.A.
2. ARMSTRONG, F. B., 1989. *BIOCHEMISTRY* U.S.A. (3a. ed.) 675p.p., OXFORD UNIVERSITY PRESS, INC.
3. BADUI, S., 1993. *QUIMICA DE LOS ALIMENTOS* MEXICO. (3a. ed.) 648p.p., ALHAMBRA MEXICANA, S.A. DE C.V.
4. BOHINSKI, R. C., 1991. *BIOQUIMICA* U.S.A. (5a. ed.) 739p.p., ADDISON-WESLEY IDEROAMERICANA.
5. BOYER, R. F., 1986. *MODERN EXPERIMENTAL BIOCHEMISTRY* U.S.A. 584p.p., THE BENJAMIN/CUMMINGS PUBLISHING.
6. BRYAN, L. W. Y WILSON, K., 1981. *PRINCIPIOS Y TECNICAS DE BIOQUIMICA EXPERIMENTAL*. ESPAÑA. 270p.p. OMEGA S.A.
7. CHAPLIN, M.F. Y BUCKE, C., 1990. *ENZYME TECHNOLOGY*. CAMBRIDGE. 264p.p. CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS.
8. CLORE, G.M., Y MARIUS, A.M., 1991. STRUCTURES OF LARGER PROTEINS IN SOLUTION. THREE-AND FOUR-DIMENSIONAL HETERONUCLEAR NMR ESPECTROSCOPY. *SCIENCE* 252.1390-1399
9. CONN, E. Y STUMPF, P.K., 1980. *BIOQUIMICA FUNDAMENTAL* MEXICO. 631p.p. IJMUSA S.A.
10. CREIGHTON, T. E., 1989. *PROTEIN STRUCTURE A PRACTICAL APPROACH*. U.S.A. 355p.p. IRI. PRESS AT OXFORD UNIVERSITY PRESS.
11. DARNEL, J., BALTIMORE, D. Y LODISH H., 1988. *BIOLOGIA CELULAR Y MOLECULAR* ESPAÑA. 1156p.p. LABOR S.A.
12. DEVLIN, T.M., 1992. *BIOCHEMISTRY* U.S.A. (3a. ed.) 1185p.p. WILEY-LISS, INC.
13. DEVLIN, T.M., 1988. *BIOQUIMICA*. TOMO 1. ESPAÑA. (2a. ed.) 705p.p. REVERTÉ S.A.
14. DICKERSON, R.E., 1983. THE DNA HELIX AND HOW IT IS READ, *SCI. AM.* 249.(6)94-111.
15. DIXON, M., WEBB, E., ET AL., 1979. *ENZYMES* U.S.A. (3a. ed.) 1115p.p. LONGMAN GROUP LTD.
16. DOOLITTLE, R.F., 1986. SIMILAR AMINO ACID SEQUENCE REVISITED. *TRENDS BIOCHEM. SCI.* 14.244-245
17. DUVE, CH. 1988. *LA CELULA VIVA* ESPAÑA. 443p.p. PRENSA CIENTIFICA, S.A.
18. GACESA, P. Y HUBBLE, J., 1990. *TECNOLOGIA DE LAS ENZIMAS*. ESPAÑA. 206p.p. ACRIBIA, S.A.
19. HUNKAPILLER, M.W Y HOOD, L.E., 1983. PROTEIN SEQUENCE ANALYSIS. AUTOMATED MICROSEQUENCING. *SCIENCE*

**Miriam Alvarez Velasco**

219:650-659.

20. INOUE, M., 1987. *MOLECULAR BIOLOGY OF RNA*. U.S.A. 451p.p. ACADEMIC PRESS, INC.
21. JOHNSON, W.C., JR., 1990. PROTEIN SECONDARY STRUCTURE AND CIRCULAR DICHROISM. A PRACTICAL GUIDE. PROTEINS 7:205-214
22. JUNKEIRA, L.C. Y CARNEIRO, J., 1976. *BIOLOGIA CELULAR MEXICO*. 289p.p. LA PRENSA MEDICA MEXICANA.
23. KAMB, B., 1986. *ICE POLYMORPHISM AND THE STRUCTURE OF WATER. IN STRUCTURAL CHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY*. U.S.A. 1013p.p. FREEMAN.
24. KARP, G., 1987. *BIOLOGIA CELULAR MEXICO*. (2a. ed.) 950p.p. MCGRAW-HILL S.A. DE C.V.
25. KORNBERG, A. Y BAKER, T.A., 1992. *DNA REPLICATION* U.S.A. (2a. ed.) W.H. FREEMAN.
26. LEHNINGER, A.L., 1993. *PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY* U.S.A. (2a. ed.) 1013p.p. WORTH PUBLISHERS.
27. LEHNINGER, A.L., 1991. *PRINCIPIOS DE BIOQUIMICA ESPAÑA*. 1013p.p. EDICIONES OMEGA, S.A.
28. LEHNINGER, A.L., 1991. *BIOQUIMICA ESPAÑA*. 1117p.p. EDICIONES OMEGA, S.A.
29. LOPEZ, M.A. Y QUINTERO, R.R., 1987. *TECNOLOGIA ENZIMATICA. APLICACIONES EN ALIMENTOS Y MEDICINA*. MEXICO. 178p.p. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.
30. MATHEWS, CH. K. Y VAN HOLDE, K.E., 1990. *BIOCHEMISTRY* U.S.A. 1129p.p. THE BENJAMIN/CUMMINGS PUBLISHING.
31. MERTZ, E.T., 1971. *BIOQUIMICA*. MEXICO 351p.p. PUBLICACIONES CULTURAL, S.A.
32. MONTGOMERY, R., CONWAY, T.W., SPECTOR, A.A., 1992. *BIOQUIMICA ESPAÑA* 881p.p. TIMES MIRROR DE ESPAÑA S.A.
33. MOORE, S. Y STEIN, W.H., 1973. CHEMICAL STRUCTURES OF PANCREATIC RIBONUCLEASE AND DEOXYRIBONUCLEASE. SCIENCE 180:458-464
34. MURRAY, R. K., GRANNER, D.K., ET.AL., 1988. *BIOQUIMICA DE HARPER MEXICO*. 713p.p. EL MANUAL MODERNO S.A. DE C.V.
35. ROBINSON, D.S., 1991. *BIOQUIMICA Y VALOR NUTRITIVO DE LOS ALIMENTOS ESPAÑA*. 516p.p. ACRIBIA, S.A.
36. SANGER, F., 1988. SEQUENCES, SEQUENCES, SEQUENCES. ANN. REV. BIOCHEM. 57:1-28
37. SAENGER, W., 1984. PRINCIPLES OF NUCLEIC ACID STRUCTURE. SPRINGER-VERLAG. NEW YORK.
38. SMIT Y WOOD. 1991. *BIOLOGICAL MOLECULES HONG KONG*. 205p.p. CHAPMAN AND HALL.
39. SMIT Y WOOD. 1992. *CELL BIOLOGY HONG KONG*. 366p.p. CHAPMAN AND HALL.

**Miriam Alvarez Velasco**

40. SOFER, G.K. Y NYSTROM L.E., 1989. *PROCESS CHROMATOGRAPHY* U.S.A. 145p.p. ACADEMIC PRESS LIMITED.
41. STANSFIELD, W.D., 1992. *GENETICA MEXICO*. 574p.p. Mc GRAW-HILL.
42. STRYER, L., 1994. *BIOQUIMICA TOMO 1. ESPAÑA*. ( 4a. ed.) 439p.p. REVERTE, S.A.
43. STRYER, L., 1994. *BIOQUIMICA TOMO 2. ESPAÑA*. ( 4a. ed.) 1009p.p. REVERTE, S.A.
44. VILLANUEVA, J. R., 1970. *LA CELULA VIVA* ESPAÑA. (2a. e.d.) 419p:p: EDITORIAL BLUME.
45. WALKER, J. M. Y GINGOLD, E.B., 1988. *BIOLOGIA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGIA ESPAÑA*. 239p.p. ACRIBIA, S.A.
46. WATSON, J.D., HOPKINS, N.H., ET.AL., 1987. *MOLECULAR BIOLOGY OF THE GEN* VOLUMEN 1. U.S.A. (4a. ed.) 744p.p.  
THE BENJAMIN/ CUMMINGS. PUBLISHING COMPANY, INC.
47. WEBER, K. Y OSBORN, M. 1975. *THE PROTEINS* VOLUMEN 1. U.S.A. (3a. ed.) 179p:p:
48. WHITE, A. HANDLER, P., ET.AL., 1978. *PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY* U.S.A. (6a. ed.) 1491p.p. Mc GRAW-HILL.
49. WISEMAN, A. Y HORWOOD E., 1991. *MANUAL DE BIOTECNOLOGIA DE LOS ENZIMAS* ESPAÑA. 444p.p. ACRIBIA S.A.
50. WOLFE, S.L., 1983. *INTRODUCTION TO CELL BIOLOGY* U.S.A. 408p.p. WADSWORTH PUBLISHING COMPANY.
51. ZUBAY, G., 1988. *BIOCHEMISTRY* U.S.A. (2a. ed.) 1266p.p. MACMILLAN PUBLISHING. COMPANY, A DIVISION OF  
MACMILLAN, INC.