

# Práctica 4: Determinación de la velocidad inicial de una reacción enzimática

---

MC Carlos Montejo Dávila

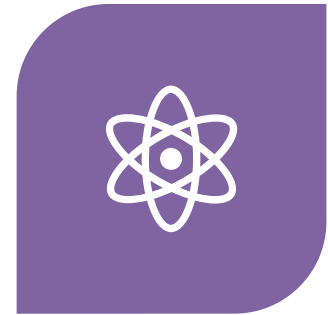
# Propósitos



- MONITOREAR EL CURSO TEMPORAL DE UNA REACCIÓN ENZIMÁTICA.



- DETERMINAR LA VELOCIDAD INICIAL DE REACCIONES.



- EXPRESAR ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN UNIDADES INTERNACIONALES Y ACTIVIDAD ESPECÍFICA.

# Introducción



- La actividad catalítica de enzimas revela su mecanismo y función fisiológica.



- Métodos espectroscópicos permiten medir el curso temporal.



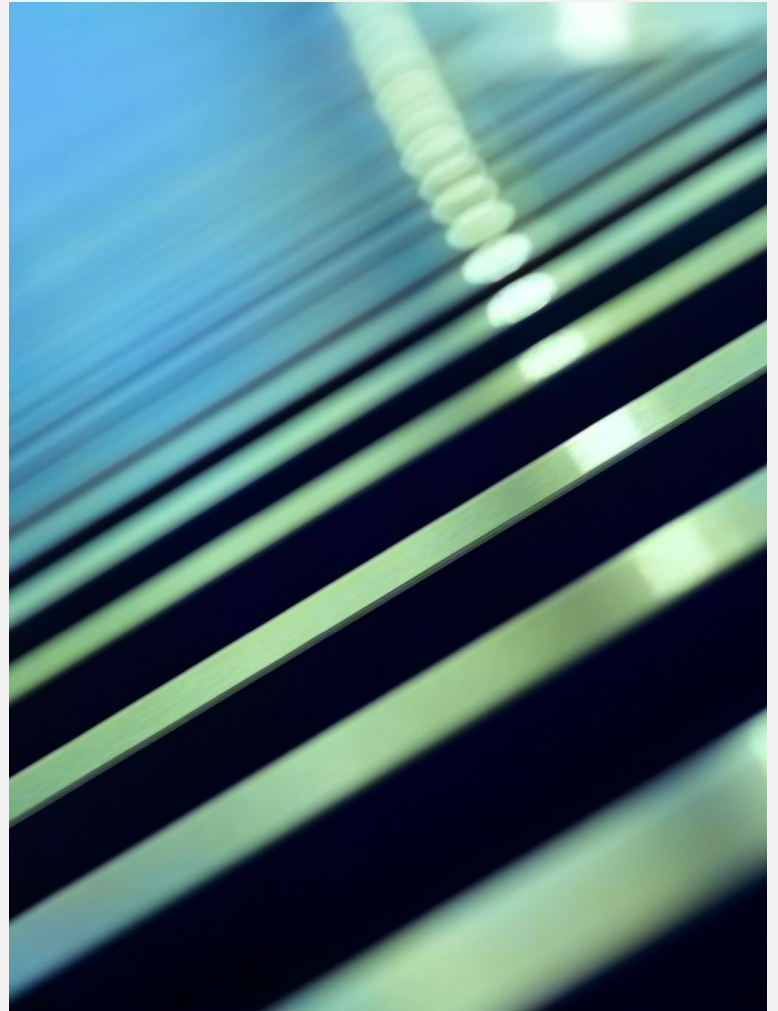
- Se determina la velocidad inicial y la actividad específica.



- La ureasa (semilla de sandía) es modelo experimental con rojo de fenol como indicador.

# Materiales y Reactivos

- Semilla de sandía molida (fuente de ureasa).
- Urea 0.2 M (sustrato).
- Indicador rojo de fenol.
- Reactivo de Bradford y estándar de ovoalbúmina.
- Espectrofotómetro y micropipetas.

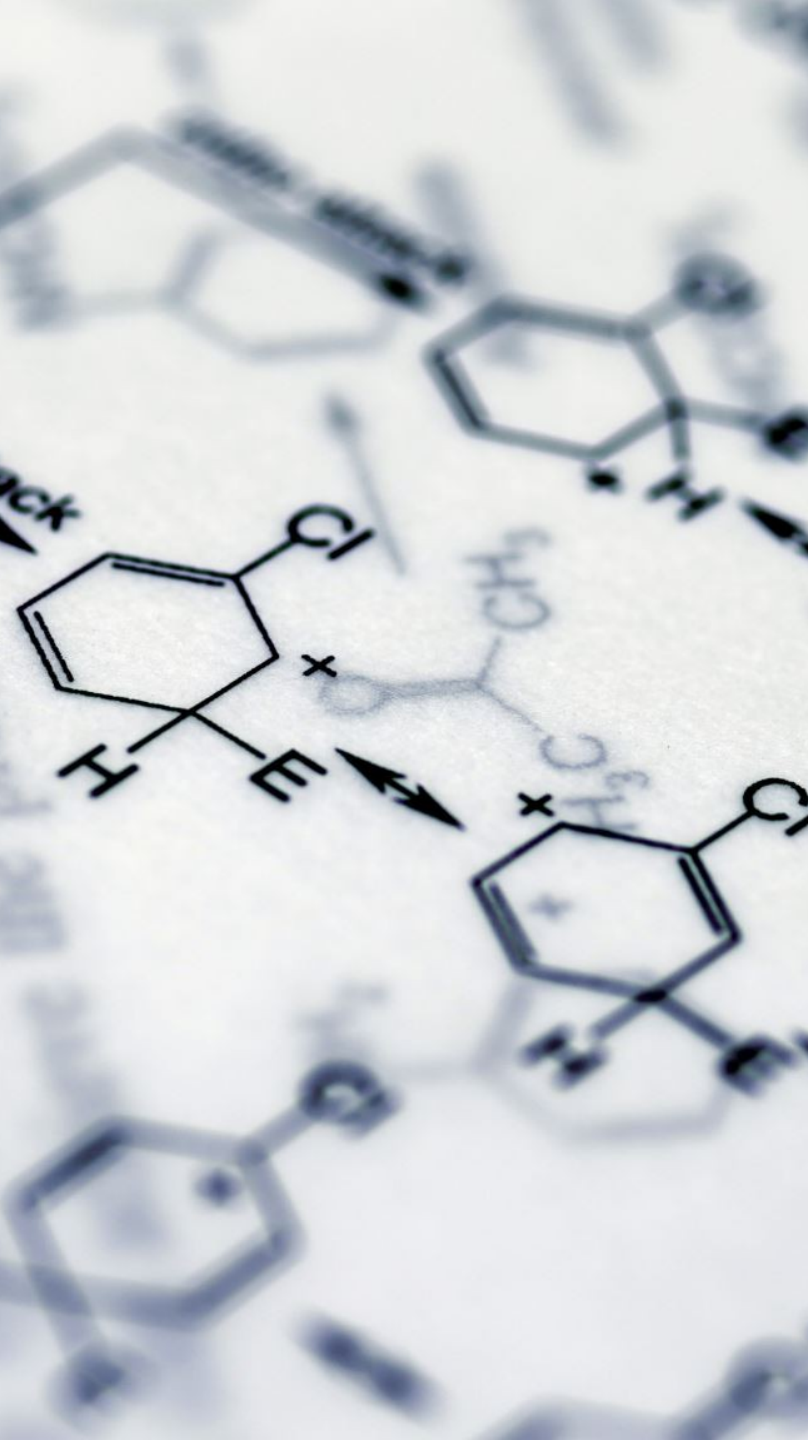




---

## Actividad 1: Extracción de la ureasa

- 1. Homogeneizar semilla de sandía en agua.
- 2. Centrifugar y recuperar sobrenadante (extracto enzimático).
- 3. Mantener en hielo.
- 4. Cuantificar proteínas con método de Bradford.

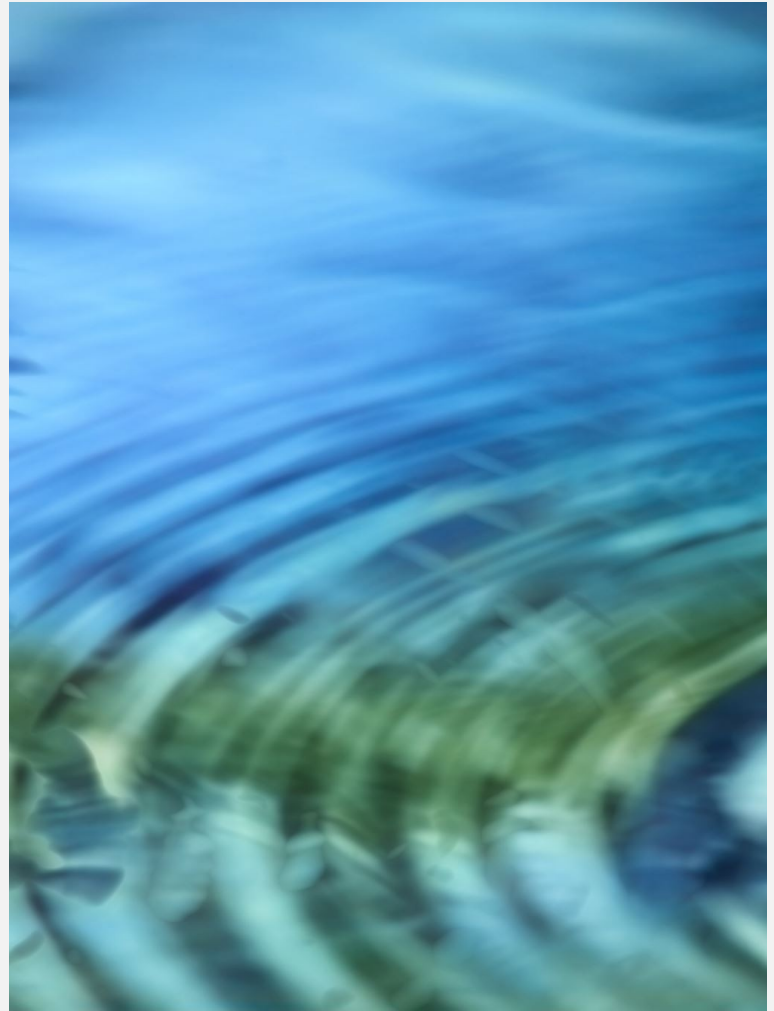


## Actividad 2: Monitoreo de reacción

- Preparar celdas con y sin enzima.
- Iniciar reacción con extracto enzimático.
- Medir absorbancia a 560 nm cada 30 seg por 5 min.
- Graficar Abs vs. tiempo y calcular velocidad inicial.

# Actividad 3: Efecto de la [Sustrato]

- Preparar reacciones con distintas concentraciones de urea.
- Iniciar con extracto enzimático.
- Medir absorbancia a 560 nm cada 30 seg por 2 min.
- Calcular velocidades iniciales.
- Graficar velocidad vs. [sustrato] y obtener parámetros cinéticos.



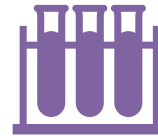
# Actividad 4: Discusión



- Proponer experimento para coeficiente de extinción molar.



- Comparar velocidad con y sin enzima.



- Analizar saturación de la enzima.



- Calcular parámetros cinéticos por ajuste lineal y no lineal.

# Conclusiones



- COMPRENDER CÓMO MEDIR LA VELOCIDAD INICIAL DE UNA REACCIÓN ENZIMÁTICA.



- RELACIONAR LA CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO CON LA VELOCIDAD.



- APLICAR MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS PARA EL ANÁLISIS ENZIMÁTICO.