



XIV EDICIÓN DA OLIMPIADA ESPAÑOLA DE BIOLOXÍA-FASE GALEGA

DNI.....

(Bioquímica)

La β -galactosidasa es una enzima que media en la transformación de la pared celular de los frutos, durante la maduración. *In vivo*, sus substratos son diferentes tipos de galactanos, pero para su medida *in vitro* se suelen usar substratos artificiales. Uno de ellos es el *p*-nitrofenil- β -galactopiranosido. Cuando la β -galactosidasa actúa sobre este sustrato libera *p*-nitrofenol que se cuantifica mediante una reacción de color que se mide a 415 nm.

Se pretende medir la actividad β -galactosidasa de un fruto en maduración, para lo cual previamente, se ha realizado una recta de calibrado que ha generado los siguientes puntos:

nmoles de <i>p</i> -nitrofenol	Absorbancia a 415 nm
50	0.1
100	0.2
150	0.3
200	0.4

A continuación, 10 gramos de fruto se extraen con un tampón de extracción pH 4.6 obteniendo un volumen final de 12 ml. Para la medida de la actividad, 1 ml de la muestra se incubó con *p*-nitrofenil- β -galactopiranosido durante 15 minutos a 37 °C. A continuación se midió la absorbancia a 415 nm, obteniéndose un valor de 0.25.

1. Elabora una recta de calibrado y calcula la cantidad de *p*-nitrofenol formada.
2. Calcula la cantidad de *p*-nitrofenol liberado por mililitro de muestra y por unidad de tiempo.
3. Calcula la actividad β -galactosidasa de la muestra, expresándola en **nkatal/gramo de peso**, sabiendo que el nkatal es la cantidad de enzima que produce un nmol de producto por segundo.

APARTADO	RESPUESTA
1	
2	
3	

