

# BIOKIMIKA PRAKTIKAK

## 3.PRAKTIKA

2- Patrioak polaritatearen arabera gorago edo beherago agertuko dira. Eluitzaile apolarra erabili dugunez, apolarrena goian eta polarrenak behean agertuko dira. Bost substantzien artean apolarrena kolesteril esterra eta triglizeridoak dira. Hauetatik apolarrena kolesteril esterra da, kate luzeena duelako. Beste hiru substantziak anfipatikoak dira, hau da, zati polar bat eta beste zati apolar bat dute. Horietatik polarrena fosfolipidoak dira, bere zati polarrak karga positiboa duelako. Ondoren gantz azidoa COOH talde ionizagarria duelako, eta azkenik kolesterola bere talde polarra OH duena. Baina teorikoki, COOH taldea OH baino polarragoa da, baina, gantz azidoen kate apolarra luzeagoa denez, bere eragina handiagoa da buru polarrarena baino, horregatik gantz azidoak gorago agertzen da.

3- Lipidoak ez dira uretan disolbatzen. Beraien egitura apolarra dela eta, disolbatzaile organikoetan disolbatzen dira.

4- Erabili dugun disolbatzailea ura + metanola + kloroformoa da, ura eta metanola polarrak dira eta kloroformoa apolarra. Orduan, zentrifugatu eta gero bi fasetan bereizten da, behean kloroformoa, dentsitate altuena duena eta goian ura. Metanola, proportzioaren arabera batzutan urarekin eta bestetan kloroformoarekin nahasten da, kasu honetan urarekin. Lipidoak apolarrak direnez, kloroformoarekin geratu dira, hau da, behean. Gaur egun gehienbat hexanoa erabiltzen da kloroformoaren ordean, hexanoaren dentsitatea txikiagoa denez, goian geratuko da eta lipidoak bertan disolbatuta. Ez zaio lipidoaren dentsitateari begiratu behar, disolbatzailearen dentsitateari baizik.

5- Erreferentzia bat eduki behar delako apolartasuna neurtzeko.

6- Perklorikoak, berez, lipidoen erauzketan kalte egiten du ( kalte edo mesederik ez), izan ere, kargak ematen ditu. Gantz azidoak, ordea, kargarekin utzi izan bagenitu, fosfolipidoen tokian geratuko lirake eta ezin izango genituzke bereizi. Hori dela eta, gantz azidoak protonatu ditugu, COO<sup>-</sup> (minus), COOH bihurtuz.

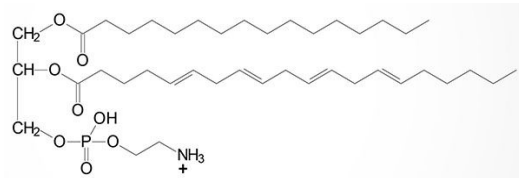
7- Polaritatearen arabera eta  $R_f=0$  izango da behean geratzen denean, kasu honetan oso polarra denean. Aldiz,  $R_f=1$  izango da eluitzailea igotzen den lekuraino igotzen bada, kasu honetan eluitzailea bezela oso apolarra bada.

8- Fase egonkorra ura da eta honek loturak sortzen ditu fosfolipidoaren kargadun buru polarrarekin. Honez gain, silikagelak indar fisikoak, molekularen zati apolarren eusten dio, horregatik geratzen da behe-behean.

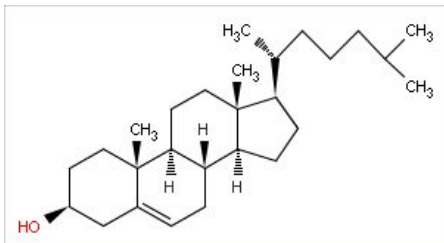
Fase higikorren polartasuna gehitu beharko genioke, metanola (20) eta petrolio-eter (80) sartuz. Izan ere, metanolaren OH taldeak fosfolipidoaren buru polarra higiaraziko du eta petrolio-eterak zati apolarrak. Orduan, bakoitzaren polartasun mailaren arabera, gehiago edo gutxiago higituko dira, eta modu honetan fosfolipido ezberdinak bereiztuko dira.

9- Bai, izan ere, iodoak C=C lotura bikoitza tindatzen du eta molekula guztietan dago lotura bikoitzen bat. Beraz, guztiak tindatuko dira.

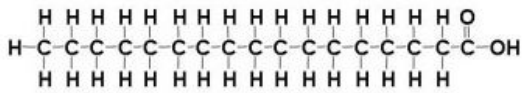
Lipidoak polarrenetik apolarrenera ordenaturik:



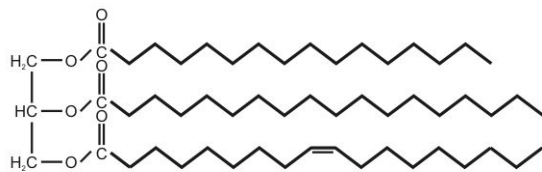
FOSFOLIPIDOA (lezitina)



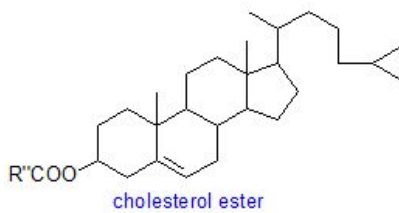
KOLESTEROLA



GANTZ AZIDOA (azido oleikoa C18:1)



TRIGLIZERIDOA (trioleina)



KOLOESTEROL ESTERRA

# 1.PRAKTIKA

1- Fosfatasa azidoak, fosfato esterren hidrolisia katalizatzen duenez hirugarren klasekoa da, hau da, hidrolasak.

2- Entzimak (fosfatasa alkalinoa) espezifikotasun partziala du, substratu talde bat katalizatzen duelako eta ez substratu espezifikoa bat. Konkretuki azido fosforikoaren monoesterren hidrolisia katalizatzen du.

3- Paranitrofenola, glizerol fosfatoa, fenil fosfatoa, p-nitrofenil (p-NF),

4- Dentsitatearen arabera da, txikiena dutena goia eta handiena duena behean.

5- Ez badugu hotz mantentzen, entzimak desnaturalizatuko dira eta beren jarduera galduko dutelako.

6- -H<sub>2</sub>O desionizatua komenigarria da estratua diluitzeko, entzimak bertan disolbatuko direlako.

-NaOH

-DEA indargetzailea pH=10, ez da komenigarria estratua diluitzeko, izan ere, honen funtzioa, pH-a basikoa bihurtzea da, paranitrofenola ingurune basikoan horia delako eta fosfatasa alkalinoaren pH optimoa ingurune basikoan delako.

- pH fisiologikoa duen indargetzailea

7- Ezin dugu jakin, ez dakigulako Beer-Lambert(?) legea betetzen duen ala ez. Diluitu egin behar da.

8?- Bai, entzimak ester fosforiko guztien hidrolisia katalizatzen duelako.

9- Saioa burutzeko, substratu kontzentrazio asetzailerik behar da. Horregatik, estratu gordina 15 aldiz diluitzen da ziurtatzeko substratu kontzentrazioa handiagoa izango dela entzimena baino.

10- Entzimarekiko espezifikoa den substratua gehituz eta horretaz gain, entzima horren jarduera optimoa baimentzen duten baldintzak ezarriz ziurtatzen dugu entzima horren jarduera soilik bultzatzea.

11- Ez dugu egoera optimoa erabili. Ph optimoa erabili dugu, indargetzailea gehituz, baina, tenperatura optimoa 37 gradu da eta guk giro tenperaturan (25 gradu) burutu dugu. Kasu honetan (37°, PH:6) tenperatura optimoa izango da, baina PHa ez, beraz ez da egoera optimoa eta abiadura izango du eragina.

12-

## 2.PRAKTIKA

- 1- Sustratu kontzentrazio konstante batekiko entzima kontzentrazio ezberdinen aktibitatea aztertu edo sustratu kontzentrazio ezberdinetarako entzima kontzentrazio konstantean entzimaren aktibitatea aztertu.
- 2- Zehaztasun faltagatik, M.M-en adierazpen grafikoko errore margina handia delako.
- 3-Esperimentu berdina antzeko emaitzak lortu harte behin baino gehiagotan lortu arte errepikatuz.
- 4-
- 5- Afinitatea ez litzatekelako aldatuko, hortaz, km berdina izango da, baina estraktuan entzima gutxiago daudenez, ES konplexu gutxiago lortuko dira eta beraz Vmax behera.
- 6- Km behera eta Vmax gora afinitatea handiagoa delako
- 7- Vmax ere bikoiztu edo laukoiztu egingo da ES konplexu maximoak lortu arte, non konstante mantenduko den, eta hori izango da entzima horren aktibitate maximoa sustratu horrekiko baldintza zehatz horietan.
- 8- Vmax-en lortzen delako entzimaren aktibitate maximoa.