

## MEDIDA DE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA

**Simbolos:**

$\epsilon$  coeficiente de extinción ( $\text{cm}^2/\mu\text{mol}$ )

A absorbancia

$\Delta A$  cambio de absorbancia

V volumen de ensayo (ml) [volumen total]

v volumen de muestra empleada en el ensayo (ml)

t tiempo

$\Delta t$  intervalo de tiempo entre medidas (min)

C concentración ( $\mu\text{mol/ml}$ )

MW peso molecular de un  $\mu\text{mo}$  ( $\mu\text{g}$ )

## METABOLITOS

De la Ley de Lambert-Beer:  $A = \epsilon d C$  ( $\mu\text{mol/ml}$ )

Para una reacción química el sustrato se consume y

$\Delta C = C_1 - C_2 = \Delta E (E_1 - E_2) / \epsilon d$  ( $\mu\text{mol/ml}$ )

Si hay una conversión completa (se acaba el sustrato):  $C_2 = 0$

$$y \quad C = \frac{\Delta E}{\epsilon d} \quad (\mu\text{mol/ml})$$

Para determinar la concentración de la muestra, la proporción V ensayo/Vmuestra (V/v) debe considerarse:

$$C = \frac{\Delta E \cdot V}{\epsilon d \cdot v} \quad (\mu\text{mol/ml})$$

$$C = \frac{\Delta E \cdot V \cdot MW}{\epsilon d \cdot v} \quad (\mu\text{g/ml})$$

## ACTIVIDADES ENZIMATICAS

En general se utiliza medir la velocidad de conversión de sustrato o acumulación de producto, esto es, el cambio de concentración por unidad de tiempo (min)

La actividad enzimática/ml es :

$$\text{Volumen actividad} = \frac{\Delta C / \Delta t}{\epsilon d} = \frac{\Delta E / \epsilon d}{\Delta t} \quad (\mu\text{mol/ml} \times \text{min}) \text{ o}$$

$$\text{Volumen actividad} = \frac{1000}{\epsilon d} \times \frac{\Delta E}{\Delta t} \quad (\text{U/L}) \text{ en la mezcla de ensayo}$$

$$\text{Volumen actividad} = \frac{1000 \cdot V}{\epsilon \cdot d \cdot v} \times \frac{\Delta E}{\Delta t} \quad (\text{U/L})$$

Y la actividad especifica

$$\text{Actividad especifica} = \frac{V}{\epsilon \cdot d \cdot v \cdot C_{\text{proteina}}} \times \frac{\Delta E}{\Delta t} \quad (\text{U/mg})$$