



Olimpiada de Biologia
de Catalunya

UAB Universitat Autònoma
de Barcelona

Facultat de
Biociències

XVI Olimpiada de Biologia de Catalunya

Prova pràctica

12 de febrer de 2026

NOM I COGNOMS: _____

DNI: _____

PROVA PRÀCTICA 1: CINÈTICA ENZIMÀTICA I TEMPERATURA

Autors: Drs. Julia Lorenzo i Sebastián Tanco. Grup d'Enginyeria de Proteïnes i Nanomedicina. Institut de Biotecnologia i Biomedicina "Vicent Villar Palasí" IBB (UAB) (www.uab.cat). Professors de la Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Barcelona. Spain

ACLARACIONS PRÈVIES

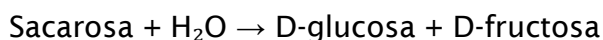
- Aquesta prova pràctica s'avalua mitjançant 10 preguntes
- Totes les preguntes tenen el mateix pes a la nota final
- Les preguntes tipus test tenen quatre opcions de resposta i sí penalitzen (1/3 de punt)



Introducció

La temperatura influeix directament en l'activitat dels enzims perquè n'altera la velocitat de les reaccions químiques que catalitzen. En condicions moderades, els enzims acostumen a actuar de manera adequada, però quan les temperatures se situen molt per sobre o molt per sota del que és habitual, la seva activitat pot veure's alterada de formes que n'afecten l'eficiència. En l'actual context de canvi climàtic, no només augmenten els episodis de calor extrema, sinó també els de fred intens, i aquestes variacions tèrmiques extremes poden desestabilitzar el metabolisme dels organismes i afectar greument els seus processos biològics essencials.

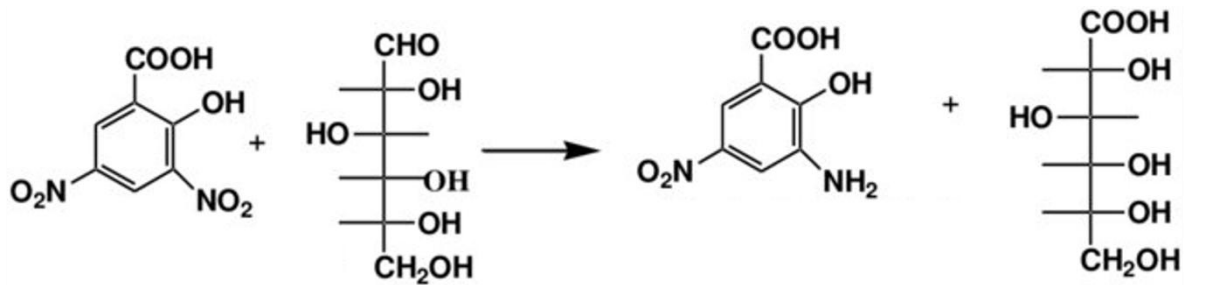
Per estudiar la influència de la temperatura a l'activitat d'un enzim estudiarem com influeix en l'enzim sacarasa que és la que actua sobre la sacarosa (α -D-Glucopiranosil - (1 \rightarrow 2) - β -D-Fructofuranósido) i genera una glucosa (α -D-Glucopiranososa) i una fructosa (β -D-Fructofuranosa). A la sacarasa també se l'anomena invertasa perquè si bé la sacarosa és dextrògira (+66,5°), després de la seva hidròlisi, la barreja de glucosa (+52,5°) i de fructosa (-92°) resultant, que s'anomena sucre invertit, és levogira. La reacció global és:



En aquest examen analitzarem com varia l'activitat de la invertasa en funció de la temperatura. Per mesurar-la, s'utilitza un mètode indirecte basat en la generació de productes colorejats. En aquesta pràctica, la quantificació de la hidròlisi de la sacarosa (sucre no reductor) es farà mitjançant el reactiu 3,5-dinitrosalicílic (DNS). Aquest reactiu, de color groc, és reduït per la glucosa o altres sucres reductors fins a formar àcid 3-amino-5-nitrosalicílic, de color roig intens. L'augment d'aquest producte colorejat es pot detectar espectrofotomètricament en la regió dels 540-570 nm, proporcionant una mesura quantitativa de la formació de glucosa i, per tant, de l'activitat enzimàtica.



Olimpiada de Biologia
de Catalunya



3,5-dinitrosalicílic (DNS)
Groc

D-glucosa

àcid 3-amino-5-nitrosalicílic
Roig intens

àcid glucònic

Figura 1: reacció del DNS amb la glucosa

Un paràmetre fonamental en aquest context és la **temperatura òptima**, és a dir, aquella en què l'enzim presenta la màxima velocitat de reacció. A partir de les dades obtingudes, podràs analitzar com varia l'activitat de la invertasa quan la temperatura s'allunya d'aquest valor òptim i, així, relacionar aquest comportament amb la manera com els organismes i els ecosistemes responen davant les actuals alteracions climàtiques.

Experiments a realitzar

Material necessari

Solució de sacarosa

Aigua destil·lada

Enzim invertasa

Tub d'assaig per a cada temperatura

Banyos termostàtics a diverses temperatures (0 °C, 25 °C, 37 °C, 50 °C, 93 °C)

Reactiu 3,5-DNS

Espectrofotòmetre a 540 nm

Seguretat i eliminació de residus

- Utilitzeu **guants, ulleres i bata** sempre. El DNS és tòxic i corrosiu; evita el contacte i els vapors.
- Els residus amb DNS i mostres tractades amb reactius oxidants s'han de recollir en el contenidor per a residus orgànics o de reactius peril·losos



segons normativa del centre.

- Netejeu immediata d'esquitxos i rentat de mans després de l'assaig.

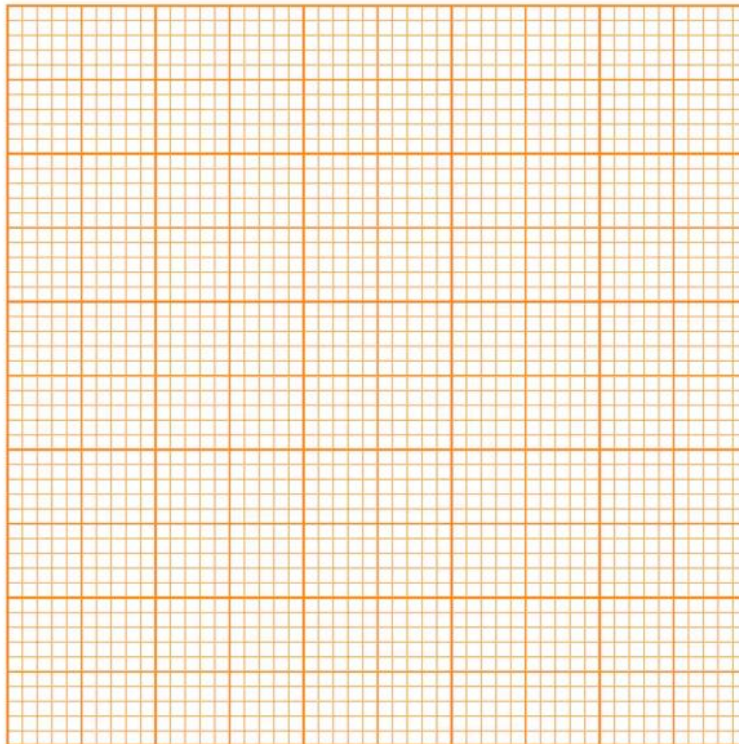
Protocol a realitzar per cada tub:

1. **Preescalfament:** incubeu 0,5 mL de solució de sacarosa (preescalfada a cada una de les diferents temperatures) en un tub d'assaig. Per a cada temperatura prepararàs dos tubs per tindre replicats de cada valor. Col·locar els tubs al bany a la temperatura triada fins que arribin a l'equilibri.
2. Afegiu ràpidament 0,1 mL de solució d'invertasa a cada tub. Barregeu suaument i incubeu **5 minuts**.
3. Afegiu 1 mL de reactiu 3,5-DNS per parar la reacció.
4. Escalfeu a 93 °C durant **10 minuts**.
5. Trèieu el tubs i deixeu-los refredar. Diluïu 1/10 amb aigua destil·lada a un volum final de 1,0 mL.
6. Mesureu l'absorbància a **540 nm**. Resteu l'absorbància del blanc (sacarosa + DNS tractat igual) per obtenir la mesura correcta.
7. **Repetiu** per a totes les temperatures i repliques.

Completeu la següent taula i representeu el promig de l'absorbància en vers de la temperatura en el paper mil·limetrat que trobareu a continuació :

Taula 1

Tub	Temperatura (°C)	Absorbància (540 nm) Rèplica 1	Absorbància (540 nm) Rèplica 2
1	0		
2	25		
3	37		
4	50		
5	93		



PREGUNTA 1

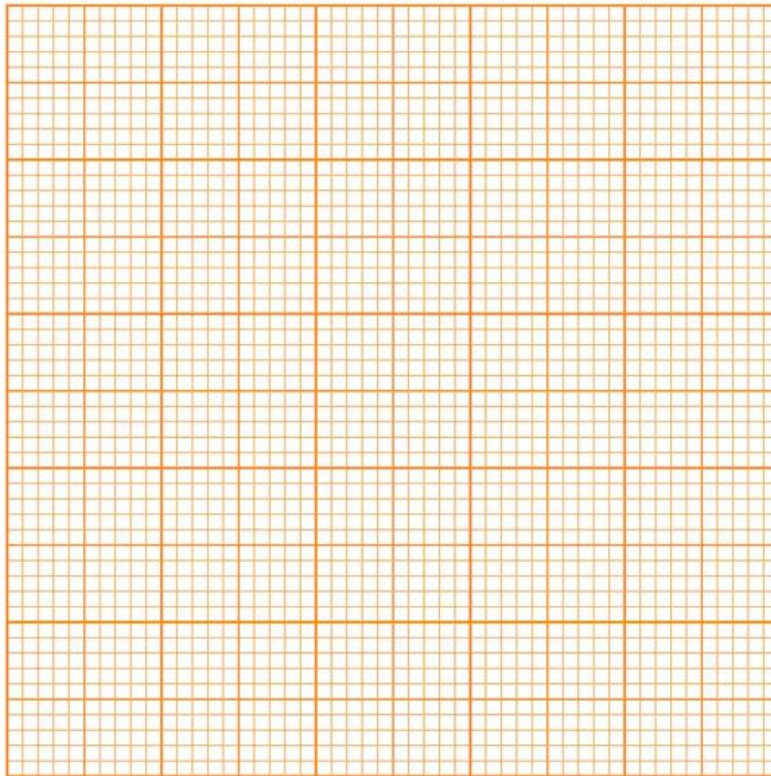
Per què cal escalfar les mostres amb DNS a 93 °C durant 10 minuts?

- a) Per evaporar l'aigua i concentrar la mostra
- b) Per aturar la reacció i formar el color característic**
- c) Per destruir la fructosa
- d) Per esterilitzar l'enzim

Considera i representa en el paper mil·limetrat, la següent corba patró per a l'anàlisi de glucosa pel mètode de DNS.

Taula 2

[Glucosa] (mM)	Absorbància (540 nm)
0	0,00
2	0,05
4	0,11
6	0,18
8	0,25



PREGUNTA 2

Quina és la relació correcta entre activitat enzimàtica i absorbància a 540 nm?
(el símbol “ \propto ” vol dir directament proporcional)?

- a) Activitat \propto 1/Absorbància
- b) No hi ha relació
- c) Activitat = Absorbància²
- d) Activitat \propto Absorbància**

PREGUNTA 3

Observa la Taula 1 de resultats anterior. A partir de les absorbàncies, quina és aproximadament la **temperatura òptima** de la invertasa?

- a) 25 °C
- b) 37 °C
- c) 50 °C**
- d) 93 °C



Olimpiada de Biologia
de Catalunya

PREGUNTA 4

A partir dels resultats obtinguts per tu (Taula 1), compara l'activitat a 25 °C i a 50 °C, i digues quin és aproximadament el factor multiplicador d'activitat entre aquestes dues temperatures:

- a) 1
- b) 2,5**
- c) 6
- d) 10

PREGUNTA 5

Què passa amb l'activitat enzimàtica quan la temperatura supera massa la temperatura òptima?

- a) L'activitat augmenta indefinidament
- b) No canvia
- c) L'enzim es desnatura i l'activitat disminueix**
- d) L'enzim es congela i s'activa

PREGUNTA 6

Què provoca el fred extrem sobre l'activitat de la invertasa?

- a) En general, redueix la velocitat de reacció**
- b) La desnatura instantàniament
- c) L'atura completament de forma irreversible
- d) Fa que la reacció sigui espontània

PREGUNTA 7

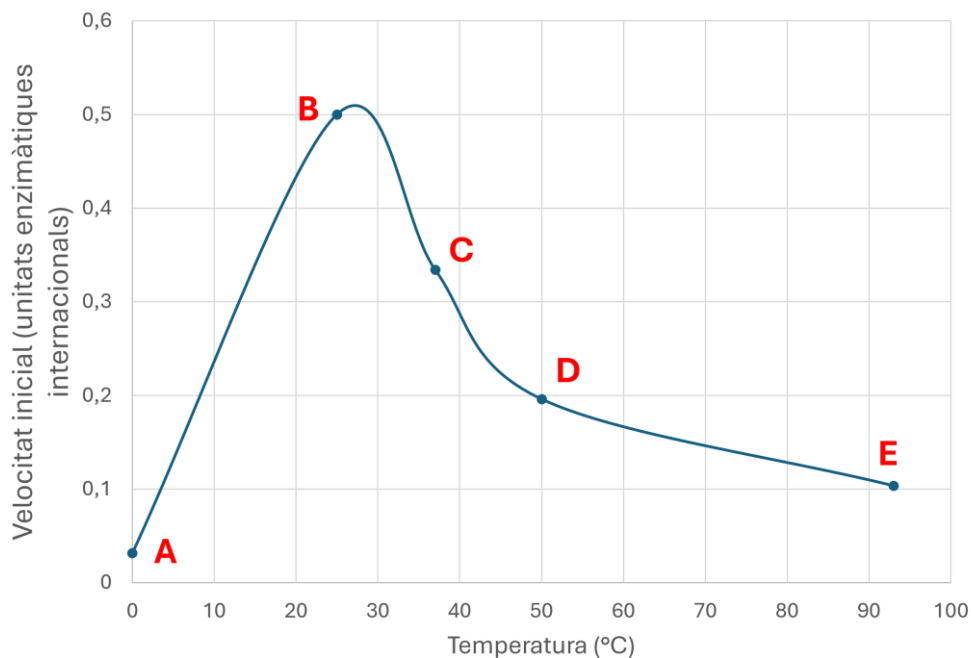
Per què les variacions extremes de temperatura poden dificultar processos metabòlics essencials?

- a) Perquè estableixen massa els enzims
- b) Perquè poden accelerar o disminuir la velocitat de les reaccions catalitzades pels enzims més enllà de valors funcionals**
- c) Perquè eliminen la necessitat d'enzims
- d) Perquè converteixen els enzims en molècules totalment resistents a qualsevol canvi ambiental



PREGUNTA 8

En un experiment previ es van preparar diverses solucions per analitzar l'activitat enzimàtica, però a causa d'un error en la gestió de les mostres, les etiquetes es van esborrar. Tot i que posteriorment es van tornar a etiquetar, es creu que algunes mostres podrien haver estat barrejades. La gràfica adjunta mostra els resultats obtinguts en aquell experiment previ. A partir de la informació que proporciona aquesta gràfica, indica quines mostres consideres que s'han barrejat



Es van barrejar:

- a) Mostres B, C, D i E
- b) Mostres B i D**
- c) Mostres B i C
- d) Cap mostra

Pregunta 9

Una Unitat Internacional (UI) d'un enzim es defineix com la quantitat d'enzim que catalitza la formació d'1 μmol de producte per minut.



Olimpiada de Biologia
de Catalunya

En un experiment amb invertasa, la invertasa forma 5 μmol de glucosa en 10 minuts.

Quina és l'activitat enzimàtica de la mostra, expressada en UI?

- a) 0,5 UI
- b) 1 UI
- c) 2 UI
- d) 20 UI

PREGUNTA 10.

Per què la temperatura és un factor limitant clau en els processos metabòlics?

- a) Perquè controla exclusivament la quantitat de substrat
- b) Perquè condiciona l'estructura tridimensional i l'activitat dels enzims
- c) Perquè determina la concentració total d'enzims presents a la mostra
- d) Perquè no influeix en reaccions catalitzades