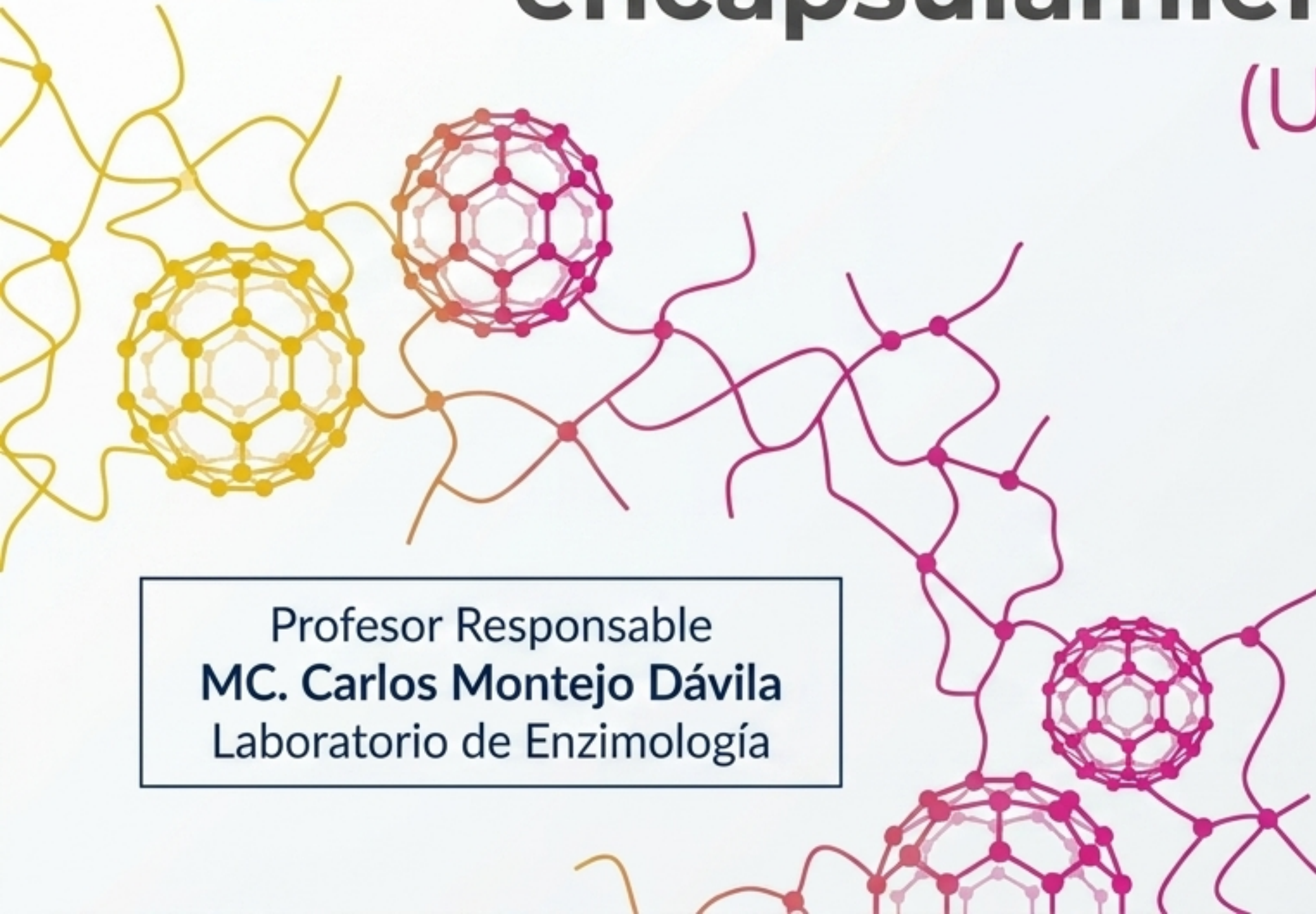


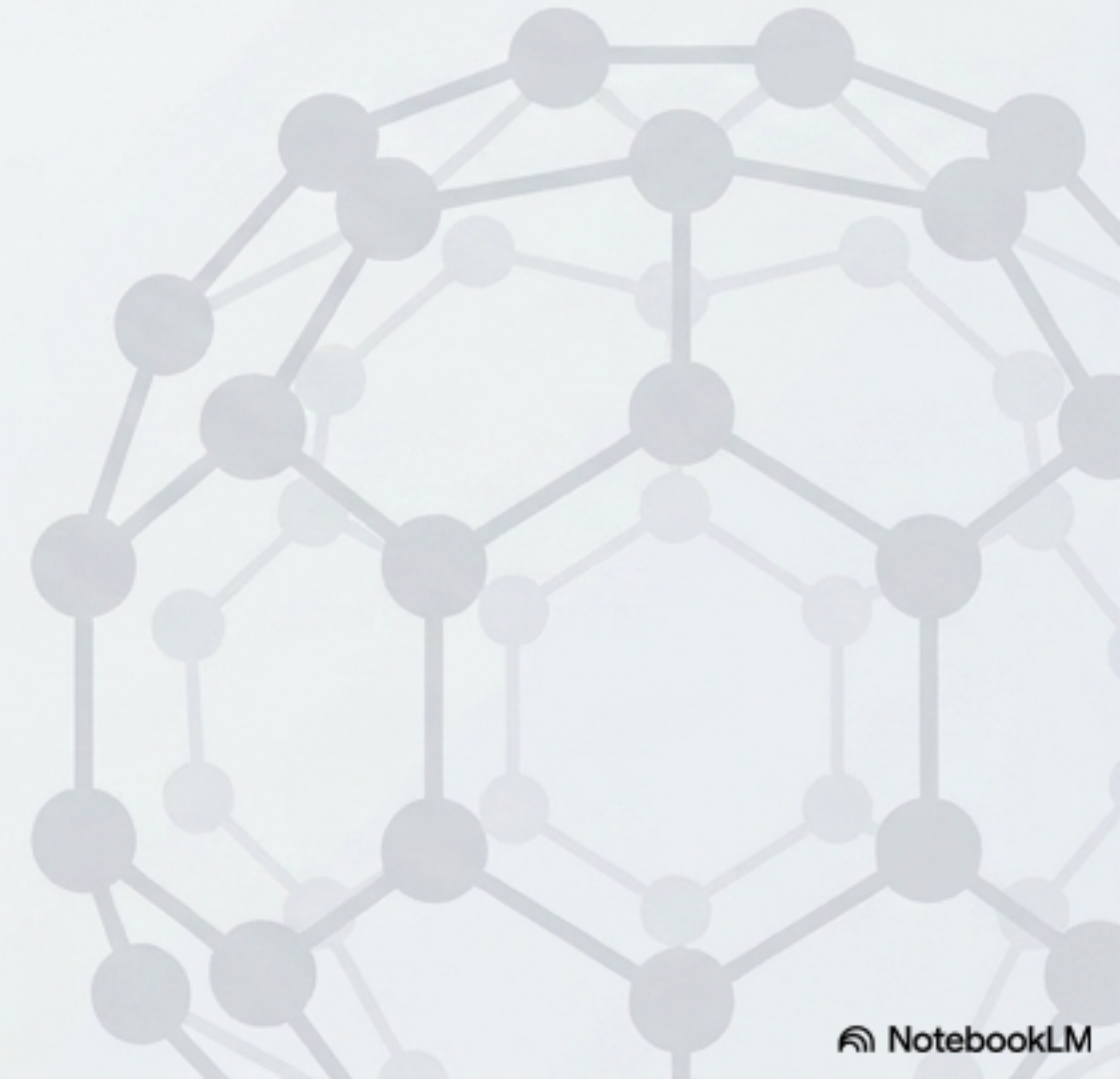


Actividad enzimática adaptada al encapsulamiento de la enzima

(Ureasa encapsulada)



Profesor Responsable
MC. Carlos Montejo Dávila
Laboratorio de Enzimología



Objetivo Central de la Práctica



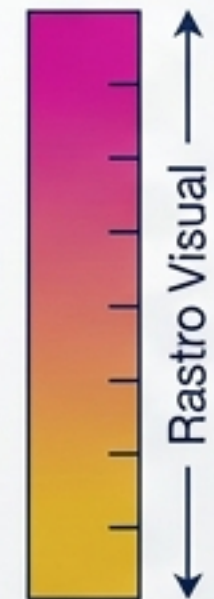
Enzima Libre vs. Encapsulada

Evaluar la actividad de una enzima tras ser confinada en una matriz polimérica.



Matriz de Alginato

Analizar su capacidad catalítica operando desde el interior de barreras físicas.



Indicador Colorimétrico

Comparar su comportamiento cinético y de difusión a través de un rastro visual.

Fundamento Enzimático: El Rastro del Amoníaco



Aumento drástico
del pH del medio.

Rojo Fenol

pH Neutro/Ácido
(Estado inicial)

pH Alcalino
(Producción de NH₃)

A mayor actividad enzimática (incluso encapsulada), mayor producción de NH₃, resultando en una transición de color más rápida y vibrante.

Matriz Biológica: La Fuente Catalítica



Semilla triturada como
fuente natural de Ureasa



Alta actividad natural.

Las semillas de cucurbitáceas ofrecen una concentración enzimática robusta ideal para ensayos cualitativos.



Accesibilidad y costo.

Materia prima de fácil acceso, eliminando la necesidad de reactivos comerciales purificados costosos.



Base comparativa ideal.

Permite una extracción acuosa rápida para contrastar la enzima libre (extracto crudo) directamente contra su versión encapsulada.

Roadmap de la Práctica (Fase de Preparación)

1. Extracción de la Enzima



1.

Homogeneización
(0.5g semilla
molida + 13 mL
 H_2O)

2.

Centrifugación
a 3500 rpm
por 5 min

3.

**Recuperación del
sobrenadante**
(Extracto crudo
de Ureasa)

2. Encapsulamiento (La Matriz)



1.

Mezcla equitativa
(10 mL Alginato
de sodio + 10 mL
Ureasa)

2.

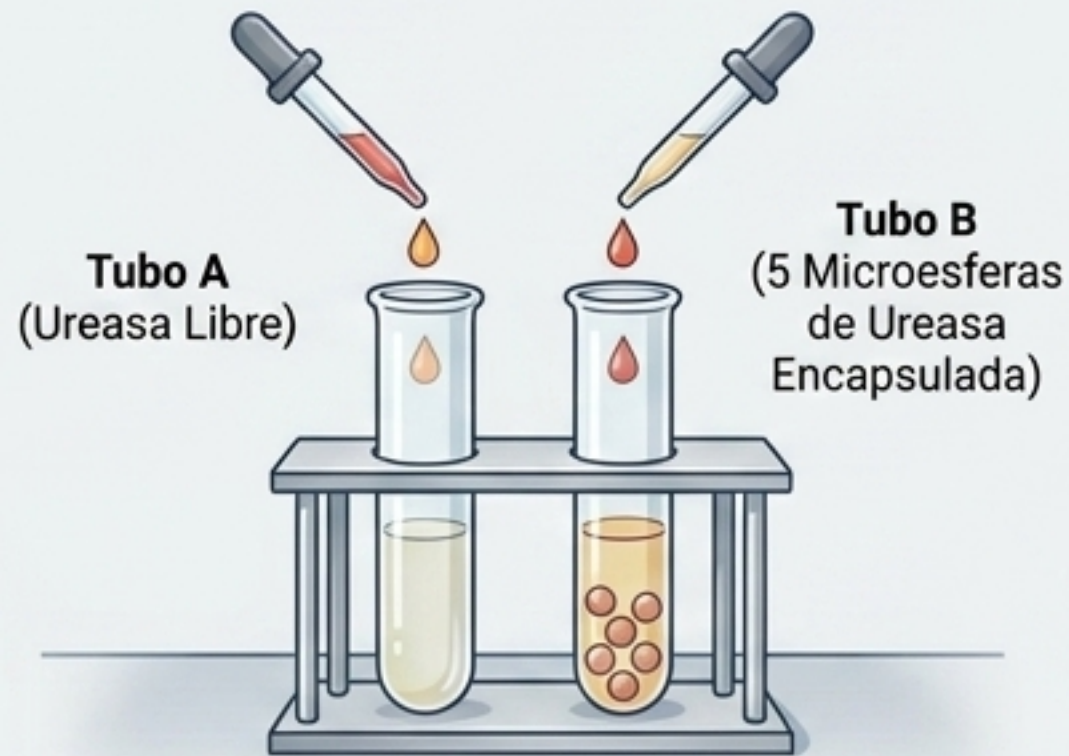
**Goteo
controlado** en
solución de
 $CaCl_2$ al 1.5%

3.

**Formación
instantánea y
lavado** de
microesferas
poliméricas

Roadmap de la Práctica (Fase de Ensayo)

3. Ensayo Enzimático



Adición simultánea de sustrato (Urea 0.2 M) y el indicador de pH (Rojo fenol).

4. Observación y Registro



Monitoreo continuo del cambio de colorimetría.

Contrastar la cinética de reacción (velocidad) y la evidencia visual de catálisis desde el interior de la matriz.

Resultados Esperados: Matriz de Contraste

Enzima Libre (Control)



Cinética:

Reacción relámpago / Inmediata.

Mecanismo:

Colisión directa sin barreras físicas entre el sustrato (Urea) y el sitio activo de la enzima.

Enzima Encapsulada (Experimental)



Cinética:

Reacción controlada / Retardada.

Mecanismo:

Evidencia visual de difusión. La Urea debe permear los poros del alginato, reaccionar, y el NH_3 debe difundirse hacia afuera para alterar el indicador.

El retraso en el cambio de color de las cápsulas no es una pérdida de actividad, es la confirmación visible de la matriz actuando como controlador de difusión.

Referencias Bibliográficas

Fundamentos de Bioquímica

Nelson, D. L., y Cox, M. M. (2017). *Lehninger principios de bioquímica*. Editorial Omega.

Berg, J. M., Tymoczko, J. L., y Gatto, G. J. (2019). *Bioquímica*. W. H. Freeman.

Cinética Enzimática

Segel, I. H. (1993). *Enzyme kinetics*. Wiley.

Biotecnología y Polímeros

Artículos científicos recientes sobre encapsulamiento enzimático, matrices de alginato y cinéticas de difusión.