

Medición de la actividad lactasa mediante colorimetría de hardware abierto.

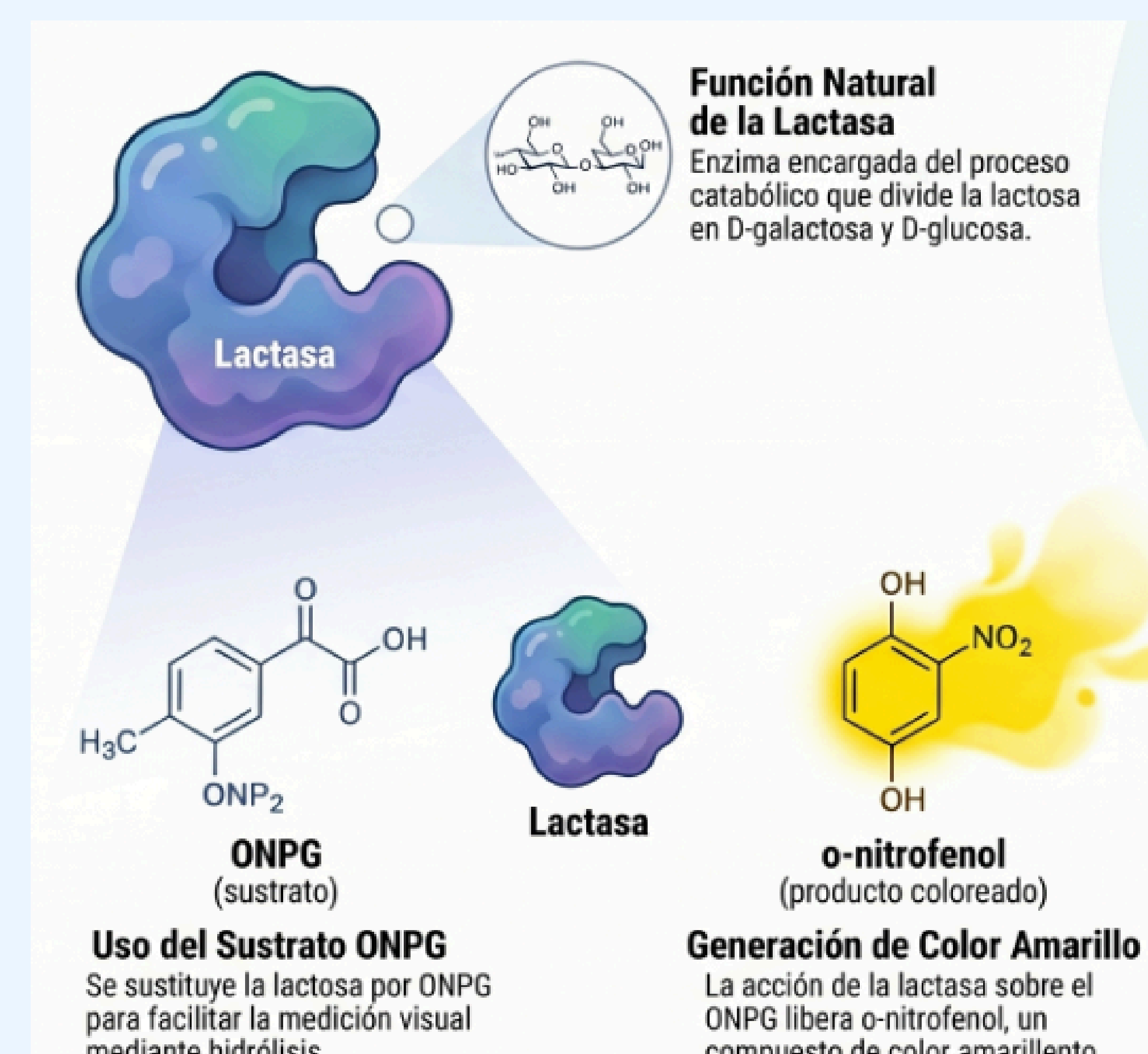
José María Espinosa Bernal¹

IIES Juan Carlos I, Reina Sofía I, Murcia, España

FUNDAMENTO

La actividad enzimática de la lactasa es esencial para el proceso catabólico de la lactosa disacárido. La enzima descompone la lactosa en D-galactosa y D-glucosa. Ciertos grupos de poblaciones carecen de esta enzima, así que la misma se vende como suplemento dietético. En este protocolo aprovechamos esta circunstancia para diseñar una práctica de bajo costo con enzimas. Además, utilizamos una fotómetro open hardware, el Open Colorimeter, de la casa comercial IO Rodeo.

Analizamos la actividad de la lactasa en dichos suplementos dietéticos mediante un ensayo colorimétrico, en el que la lactosa se sustituye por el o-nitrofenol- β -glucopiranosido, un compuesto cuya hidrólisis genera o-nitrofenol, de color amarillo [1]



METODOLOGÍA

Primero realizamos una recta de calibrado con o-nitrofenol. Después realizamos el proceso de extracción de la enzima y utilizamos para un ensayo enzimático con o-nitrofenol- β -glucopiranosido. A partir de la recta de calibrado obtuvimos los valores de o-nitrofenol generado en el ensayo.

Preparación del Patrón de Referencia
 Preparar 250 ml de una disolución 10 mM de o-nitrofenol como base.

Elaboración de la Curva en Microtubos
 Realizar diluciones seriadas combinando el volumen madre con agua según la tabla técnica.

Concentración	Volumen madre (μ l)	Agua (μ l)
1 mM	100	900
4 mM	400	600
7 mM	700	300

Extracción de la Enzima
 Se tritura una tableta, se suspende en tampón PBS y se centrifuga para obtener el extracto.

Ensayo de Actividad
 Mezclar extracto con ONPG, incubar 1 minuto y detener con carbonato de sodio.



RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos con el equipo IO Rodeo fueron plenamente satisfactorios, y comparables a los obtenidos con un espectrofotómetro convencional. La conclusión es que este equipo puede ser utilizado



para cuantificar fotometricamente un analito, por lo que, de manera similar se pueden cuantificar otros, como nitratos, fosfatos, proteínas, etc de forma sencilla y accesible. Además es portátil, por lo que se puede emplear para medida in situ de contaminación ambiental. Por ello consideramos que es un excelente recurso para laboratorio de secundaria, ya sea de Física y Química como de Biología y Geología.

1. Leksmono, C. S., Manzoni, C., Tomkins, J. E., Lucchesi, W., Cottrell, G., Lewis, P. A. Measuring Lactase Enzymatic Activity in the Teaching Lab. *J. Vis. Exp.* (138), e54377, doi:10.3791/54377 (2018).

