



## Dean Madden

National Centre for Biotechnology Education, University of Reading  
Science and Technology Centre, Earley Gate, Reading RG6 6BZ UK | E: D.R.Madden@reading.ac.uk

# Lepsze mleko dla kotów

## Użycie zimmobilizowanej laktazy przy produkcji mleka o obniżonej zawartości laktozy

### Cel

Ten prosty protokół wprowadza uczniów w tajniki trawienia oraz immobilizacji enzymów. Może stanowić punkt wyjścia dla bardziej zaawansowanych doświadczeń, takich jak regulacja produkcji laktazy u bakterii *Escherichia coli* (operon laktozowy), ewolucja i znaczenie społeczne tolerancji laktozy u człowieka, a także zastosowania enzymów w produkcji żywności.

### Wstęp

Laktaza (betagalaktozydaza) katalizuje hydrolizę laktozy do glukozy i galaktozy. Oba te cukry są słodsze w smaku od laktozy i są łatwiej od niej trawione. Wbrew obiegowej opinii, koty nie są w stanie trawić większych ilości laktozy. Dlatego też za pomocą enzymu można produkować mleko o obniżonej zawartości laktozy dla kotów lub ludzi nie tolerujących laktozy.

Około 75% dorosłej ludności na świecie nie toleruje laktozy - zatem tolerowanie laktozy w wieku dorosłym jest cechą szczególną wśród ludzi.

W produkcji komercyjnej enzym jest dodawany do każdego pudełka mleka UHT lub enzym jest immobilizowany, czyli unieruchamiany w obojętym chemicznie nośniku tak, że może być stosowany wielokrotnie.

W przedstawionym doświadczeniu uczniowie immobilizują laktazę w alginianie wapnia w formie kuleczek, z których tworzą małą kolumnę ze złożem, a następnie przepuszczają przez nią mleko.



## Sprzęt i materiały

### Dla każdej osoby lub zespołu

#### Sprzęt

- Mały kawałek gazy lub nylonowej firanki (ok. 1 cm<sup>2</sup>)
- Plastikowa strzykawka o pojemności 10 ml (bez igły)
- Ok. 7 cm kawałek miękkiego wężyka o średnicy 4 mm
- 2 małe zlewki o pojemności ok. 100 ml lub kubeczki plastikowe
- Klamerka zaciskowa jako uzupełnienie kolumny
- Małe sitko
- Szklana bagietka

#### Materiały

- 2 ml enzymu laktaza (*Novozymes Lactozym*)
- 2% roztwór alginianu sodu, 8 ml
- Mleko nie UHT, 50 ml
- Paski diagnostyczne do wykrywania glukozy (np. *Roche Diabur-Test 5000* lub *Ames Diastix*)

#### Uwaga!

Wszystkie roztwory powinny być zrobione w wodzie destylowanej lub dejonizowanej. Alginian sodu trudno się rozpuszcza. Proces przebiega szybciej, gdy woda jest ciepła a roztwór mieszany.

## Przebieg doświadczenia

- 1 Zmieszaj enzym z alginianem sodu, a następnie pobierz mieszaninę do 10 ml strzykawki.
- 2 Dodawaj mieszaninę alginianu z enzymem po kropelce do roztworu chlorku wapnia. Uważaj, aby nie zanurzyć końcówki strzykawki w roztworze chlorku wapnia, ponieważ spowoduje to stwardnienie alginianu w końcówce strzykawki i jej zatkanie. Powstałe kulki złożone z enzymu unieruchomionego w matrycy alginianu wapnia powinny powstać kilka minut w roztworze chlorku wapnia do stwardnienia.
- 3 Umocuj krótki gumowy wężyk do ujścia strzykawki, która stanowić będzie kolumnę ze złożem. Umieść kawałek gazy na dnie kolumny, aby kulki nie blokowały wylotu strzykawki.

Fig. 1

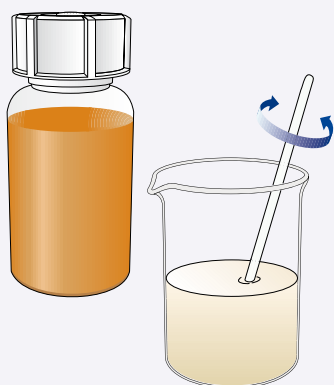


Fig. 2

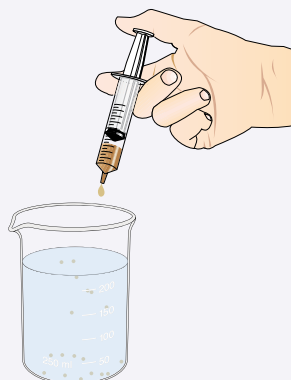
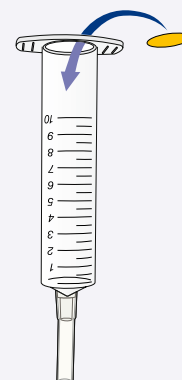


Fig. 3



- 4 Oddziel kulki alginianu zawierajacego zimmobilizowany enzym od roztworu, filtrujac przez sitko.
- 5 Ostroznie napełnij kolumnę kulkami.
- 6 Zamknij wylot kolumny uciskajac gumowy wężyk klipsem.

Fig. 4

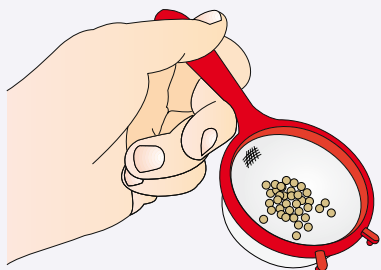


Fig. 5

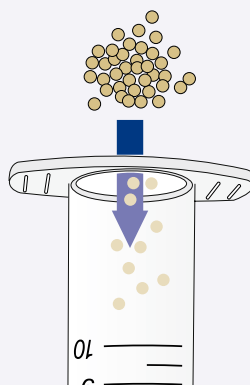
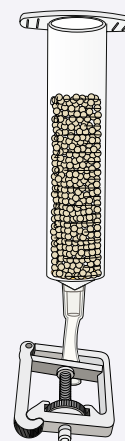


Fig. 6



- 7 Sprawdź zawartość glukozy w zwykłym mleku za pomocą paska diagnostycznego, mleko nie powinno zawierać glukozy.
- 8 Napełnij kolumnę niewielką objętością mleka, następnie otwórz wylot i pozwól mleku wycieknąć do małej zlewki.
- 9 Sprawdź zawartość glukozy w mleku, które przepłynęło przez kolumnę za pomocą paska diagnostycznego. Jeśli wynik nie jest jednoznaczny, możesz powtórnie przepuszczać to samo mleko przez kolumnę, aż do uzyskania wyraźnie wykrywalnego stężenia glukozy.

Fig. 7

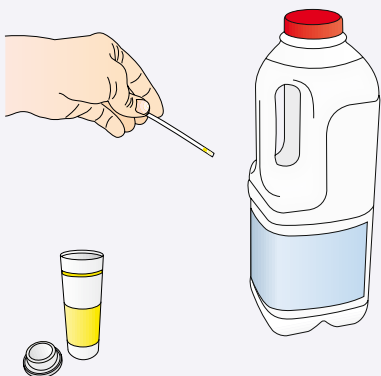


Fig. 8

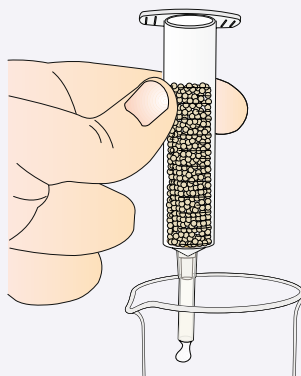
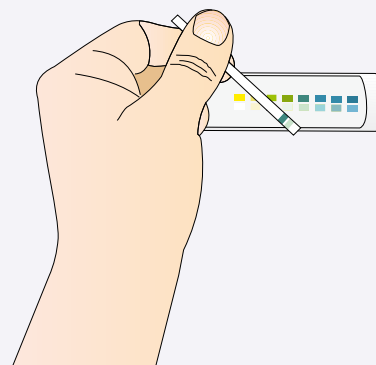


Fig. 9



## Pomysły na dodatkowe doświadczenia

- 1 Kolumna z immobilizowaną laktazą może także posłużyć do produkcji słodkiego syropu z serwatki powszechnie stosowanego w przemyśle cukierniczym.
- 2 Silnym inhibitorem enzymu laktaza jest galaktoza - jeden z produktów rozpadu laktozy. W związku z tym ilość katalizowanych przez enzym reakcji zależy od prędkości przepływu substratu przez kolumnę: zbyt szybki przepływ powoduje brak czasu na zajście reakcji; zbyt wolny natomiast spowoduje nagromadzenie się galaktozy i inhibicję enzymu, a zatem zahamowanie reakcji. Uczniowie mogą badać wpływ tempa przepływu substratu przez kolumnę na tempo rozkładu laktozy do glukozy i galaktozy.



Mleko dla kotów o zredukowanej zawartości laktozy

## Dodatkowe źródła informacji

### Literatura po angielsku

*Immobilised enzymes and cells: a practical approach* by Jonathan Woodward [Ed] (1985) Oxford University Press, Oxford. ISBN: 0 947946 21 7.

Richmond, M.L., J.I. Gray and C.M. Stine (1981) Beta-galactosidase: Review of recent research related to technological application, nutritional concerns and immobilization. *Journal of Dairy Science* **64** (9) 1759–1771.

Bayless, T.M., D.M. Paige and G.D. Ferry (1971) Lactose intolerance and milk drinking habits *Gastroenterology* **60** (4) 605–608.

### Internet

Novozymes A/S, Denmark

<http://www.novozymes.com>

Wikipedia: Lactose intolerance

[http://en.wikipedia.org/wiki/Lactose\\_intolerance](http://en.wikipedia.org/wiki/Lactose_intolerance)

## Podziękowania



Tłumaczenie protokołu na język polski przygotowała Joanna Lilpop. Adaptacja protokołu została wykonana w ramach projektu VOLVOX, finansowanego przez Komisję Europejską w 6. Programie Ramowym.



To nisko-laktozowe włoskie mleko jest produkowane przy użyciu immobilizowanej b-galaktozydazy