

Dean Madden

National Centre for Biotechnology Education,
University of Reading, U.K.

Bättre mjölk för katten

Immobiliserat laktas används för att framställa låglaktosmjölk

Syfte

Denna enkla undersökning sätter eleverna in i hur man kan använda immobiliserat enzym för att framställa produkter som under vissa förhållanden kan passa matsmältningen bättre än de ursprungliga produkterna. Experimentet visar också hur ett immobiliserat enzym framställs. Det kan utgöra startpunkt för flera mer avancerade aktiviteter, som reglering av laktasproduktion i *Escherichia coli* (the lac operon), evolution, laktostolerans hos människor samt användningen av enzymer i livsmedelsproduktion.

Introduktion

Laktas (beta-galactosidase) katalyserar hydrolysen av laktos till glukos och galaktos. Båda dessa sockerarter har en sötare smak än laktos och är lättare för matsmältningen att bryta ner. Katter - som ju brukar tycka om mjölk - kan få diarré av mjölk, eftersom många har svårigheter att spjälka laktos. Mjölk kan behandlas med enzymet laktas för att framställa laktosreducerad mjölk, som är lämpligare för de katter och människor som är laktosintoleranta.

Man kan tycka att det är onödigt att producera speciell mjölk för katter, men 75% av världens befolkning är också laktosintolerant som vuxna - det är alltså laktostolerans som är ovanligt.

Kommersiellt behandlas mjölken genom injektion av enzymet direkt in i mjölkkartongen eller genom användning av ett immobiliserat enzym - ett enzym som är fastgjort vid ett inaktivt material, så att enzymet kan användas kontinuerligt.

I denna laboration immobiliserar eleverna laktas i kalcium-alginatkulor. Dessa förs över i en liten kolonn, vilken man sedan låter mjölken passera.



KORRESPONDENS TILL

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

Utrustning och material

Detta behövs per person eller per grupp

Utrustning

- Nylonväv (ca 1 cm²) från t ex nylonstrumpa eller Vileda-diskduk
- Plastspruta (utan nål) 10 ml
- Slang (4 mm diameter ca 10 cm lång, skall passa sprutan) med slangklämma
- Stativ med muff och klämmare (för att hålla enzymkolonnen)
- Små bägare (100 ml), 2 st
- Bägare (200 ml) 1 st
- Tesil
- Glasstav

Material

- Laktas enzym, *Novozymes Lactozym*[®], 2 ml eller 1 kapsel *Lactrase* som löses i 10 ml avjoniserat vatten (kapslar kan köpas på apotek)
- 2% natriumalginatlösning, 8 ml
- 1.5% kalciumkloridlösning, 100 ml
- Mjök, 50 ml (inte mjök som är tillverkad för lång hållbarhet)
- *Clinistix* teststicka (köps på apotek)

Observera

Alla lösningar skall göras i destillerat eller avjoniserat vatten. Natriumalginat är svårlösligt - det behövs både värme och omrörning för att lösa.

Utförande

1. Blanda enzymet (2 ml) med natriumalginatlösningen (8 ml) i en liten bägare. Sug upp det i en 10 ml spruta. Häll 100 ml kalciumkloridlösning i 200 ml bägaren.
2. Droppa alginat-enzymblandningen, en droppe i taget, från sprutan ner i kalciumkloridlösningen. Låt inte spetsen av sprutan komma i kontakt med kalciumkloridlösningen, eftersom detta gör att alginatlösningen hårdnar och blockerar sprutans spets. Låt kulorna, som innehåller det immobiliserade enzymet, ligga några minuter i kalciumkloridlösningen, så att de hårdnar.
3. Sätt på slangen med slangklämman på sprutans spets. Lägg ner en liten bit av nylonväven i sprutans nedre del, för att förhindra att kulorna blockerar sprutans spets.

Fig. 1

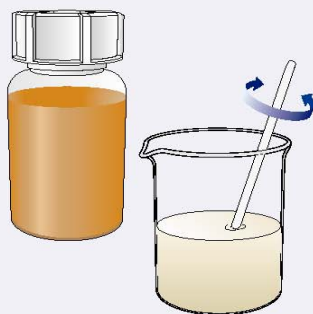


Fig. 2

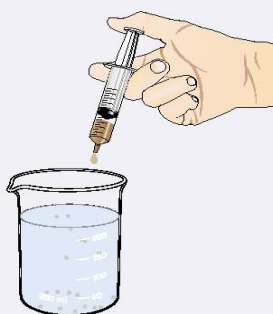
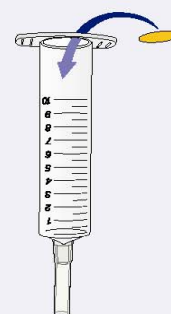


Fig. 3



4. Skilj kulorna med immobiliserat enzym från lösningen genom att hålla den genom en tesil.
5. För över alginatkulorna till sprutan.
6. Stäng slangens från sprutan med hjälp av slangklämman.

Fig. 4

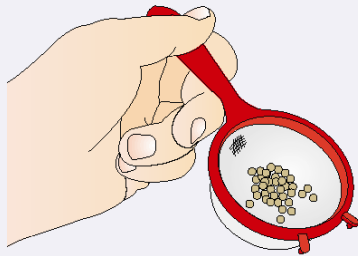


Fig. 5

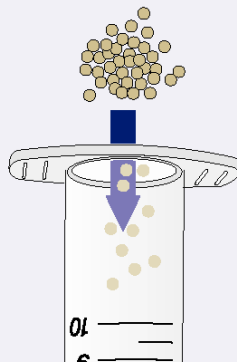


Fig. 6



7. Kontrollera mjölken innan försöket utförs med hjälp av *Clinistix*-remsan, så att den inte innehåller någon glukos.
8. Häll en liten volym mjölk över enzymkulorna, tag av slangklämman och låt mjölken rinna ut ur kolonnen ner i en liten bägare.
9. Kontrollera mjölken som lämnar kolonnen med hjälp av en *Clinistix*-remsa. Om det behövs kan du låta mjölken passera ytterligare en gång genom kolonnen, så att du får en önskad glukoskoncentration.

Fig. 7

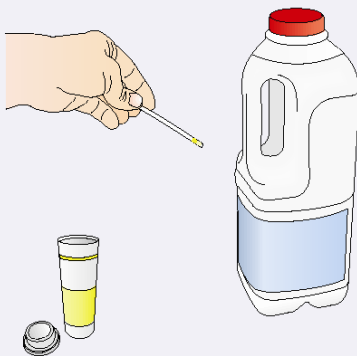


Fig. 8

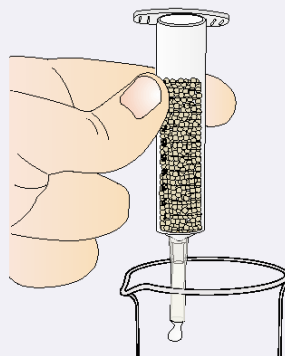
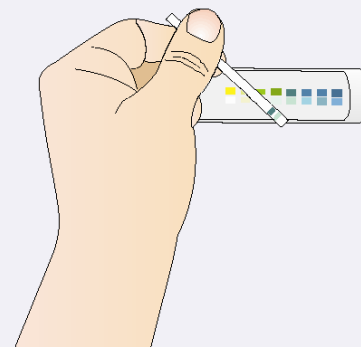


Fig. 9





Säkerhet

Drick inte mjölken

En grundregel är att aldrig äta eller dricka på ett laboratorium. Enzymet som används i denna laboration är ofarligt att användas, om det hanteras enligt instruktioner. *Novozymes Lactozym*[®] är en produkt, som framställts för matberedning. Mjölken som framställts med denna produkt skall dock inte konsumeras. Enzymet har inte hanterats aseptiskt, så det (och dess produkt) kan vara förorenat.

Man bör undersöka de lokala säkerhetsföreskrifterna och använda dessa för allt praktiskt arbete.

Allmänna säkerhetsbestämmelser

Eftersom enzymer är vattenlösliga, skall man alltid använda vatten för att ta bort spillt enzym.

Låt inte flytande enzympreparationer torka in

Enzymet i fast form kan orsaka allergiska reaktioner hos känsliga personer. Allt spill — på utrustning, på golv eller bänk— skall omedelbart sköljas bort med vatten.

Undvik aerosolbildning

Om aerosoler som innehåller enzym bildas, finns det risk för inhalation. Hos känsliga personer kan det framkalla astma eller hösnuva. Av denna anledning skall enzympreparationer aldrig sprayas.

Undvik direkt hud eller ögonkontakt

Om du av en olyckshändelse får flytande enzym på huden eller i ögonen, så skall du skölja med mycket kranvatten. Samma förfarande gäller om du spiller på kläderna — skölj med mycket vatten och tvätta sedan som vanligt. Detta är vanligen tillräckligt, men om du får symtom från andningsapparaten, huden eller ögonen skall du omedelbart kontakta en läkare.

Tidsåtgång

Denna aktivitet tar ungefär 40 minuter. Natriumalginatet tar tid att lösa upp, så den lösningen är bäst om man framställer innan lektionen. Man kan också framställa det immobiliserade enzymet i förväg om så önskas: kurlorna skall förvaras i kylskåp, men håller inte mer än ett par dagar.

Felsökning

Viss mjölk som framställts för lång hållbarhet innehåller ibland lite glukos, troligen för att värmebehandlingen hydrolyserar något av laktosen. Undvik därför denna mjölk.



Laktos-reducerad mjölk för katter



Den italienska låglaktosmjölken framställs med hjälp av β -galaktosidas. Vid framställningen används mellanmjölk.

Ytterligare undersökningar

1. Kolonnen med immobiliserat enzym kan också användas för behandling av vassle. Detta ger en söt vasslesirap som används inom konfektindustrin
2. Laktasaktiviteten hindras av sockerarten galaktos (detta är en av nedbrytningsprodukterna från laktos). Detta gör att flödes hastigheten genom kolonnen är av betydelse för den enzymkatalyserade reaktionen: om den är alltför snabb hinner inte reaktionen att ske och om den är alltför långsam ackumuleras galaktos och hindrar reaktionen. Eleverna kan undersöka effekten av flödes hastigheten på omvandlingen av laktos till glukos och galaktos.

Andra informationskällor

Publikationer

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

An academic laboratory manual describing methods of immobilising enzymes and cells.

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.

Webb-sidor

Novozymes A/S, Denmark
<http://www.novozymes.com>

Wikipedia: Lactose intolerance
http://en.wikipedia.org/wiki/Lactose_intolerance

Inköpsställen

NCBE säljer Novozymes enzymprodukter till skolor. Man kan också köpa laktaskapslar på apotek och lösa dessa i vatten (varunamn Lactrase eller Lactazym) eller flytande laktas (varunamn Kerulact). Vi har provat Lactrase och löst en kapsel i 10 ml avjoniserat vatten.

Att spara material

Enzympreparationer kan förvaras outspädda vid 3–4 °C.



Tack

Volvox-projektet finanseras av EU:s Sjätte Ramprogram.