

## ÚS DE TIRES REACTIVES PER A LA IDENTIFICACIÓ DE SUBSTÀNCIES. ENZIMS IMMOBILITZATS

### Objectius

---

- Comprovar experimentalment la utilitat pràctica de la lactasa immobilitzada.
- Reflexionar sobre la utilitat dels enzims immobilitzats tant a la indústria farmacèutica com alimentària.
- Comprovar experimentalment una reacció enzimàtica fent servir tires d'anàlisi de glucosa.

### Introducció

---

La hidròlisi de la lactosa produeix els monosacàrids glucosa i galactosa. L'enzim lactasa pot ser utilitzat per a la hidròlisi de la lactosa, i aquest procés s'utilitza actualment en la producció de gelats i dolços, llets condensades i aromatitzades. La llet tractada amb lactasa és adequada per les persones que són intolerants a la lactosa. El xarop fet a partir de productes de la hidròlisi dels sèrums rics en lactosa provinents de la indústria del formatge pot transformar-se en un producte útil: un caramel higroscòpic (que reté l'aigua) que té un baix punt de fusió. El caramel pot ser introduït dins de bols de xocolata a una temperatura relativament baixa, i ja que és higroscòpic pot ser usat per recobrir galetes sense que s'empapin.

La lactosa no és actualment un sucre molt utilitzat a la indústria degut a:

- No és utilitzat en productes alimentaris perquè hi ha moltes persones que són intolerants a la lactosa. De la població tailandesa, xinesa i afro-caribenya, el 97%, 90% i 73% respectivament, s'ha demostrat que són intolerants a la lactosa, sovint provocant greus problemes digestius.
- La lactosa té una solubilitat baixa, tendeix a produir cristalls i concentracions al voltant de 11%. Si la lactosa es fa servir en productes alimentaris, els cristalls poden produir una desagradable textura sorrenca.
- La lactosa té només un 20% del dolçor de la sacarosa. Si es fa servir en els aliments, en faria falta molta quantitat per obtenir la dolçor necessària, incrementant el contingut calòric de l'aliment.
- La lactosa és el disacàrid que es troba a la llet. Quan es fa formatge, les grans quantitats de sèrum produït contenen lactosa i proteïnes. Si aquest sèrum s'aboca a les aigües residuals aquest alt contingut de nutrients determina el creixement de microorganismes i es pot sancionar a la indústria per aquesta pollució.

## Plantejament del problema i formulació de les possibles hipòtesis prèvies

1. Com creieu que el substrat interacciona amb els enzims immobilitzats?
2. Plantegeu quines creieu que poden ser les possibles hipòtesis sobre com actua la lactasa immobilitzada sobre la lactosa.

## Material i Equipament

Equipament	Reactius i altres materials
<p>Estufa 37°C</p> <p>Suport metàl·lic (el que es fa servir per fer valoracions) i pinces.</p>	<p><i>Lactasa</i> (Lactozym®)</p> <p>Alginat de sodi al 2%</p> <p>Clorur càlcic al 1'5%</p> <p>Solució de lactosa 5g/100ml</p> <p>Tires reactives per detectar glucosa</p> <p>Un tros de xarxa de niló</p> <p>Xeringues de plàstic de 10 cm</p> <p>Tubs de plàstic (aquari)</p> <p>Clau per tancar el tub</p> <p>Vasos de precipitats ( 50 -100 ml)</p> <p>Colador de te</p> <p>Aigua destil·lada</p>

## Procediment

### Muntatge de l'experiència:

#### Preparació de les solucions:

Totes les solucions s'han de fer amb aigua destil·lada.

- Alginat de sodi al 2%: 2 g d'alginat sòdic en 100 ml d'aigua destil·lada. Aquesta sal és poc soluble, cal preparar la solució amb aigua calenta i amb agitació.
- Clorur càlcic al 1'5%: 1'5 g de  $\text{CaCl}_2$  en 100 ml d'aigua destil·lada.

#### Execució de l'experiència: vegeu fig. 1

1. Prepareu una solució de lactosa a una concentració semblant a la que es troba a la llet: 5g/100ml.

2. Immobilització de la lactasa:

- Barregeu 2  $\text{cm}^3$  de lactasa amb 8  $\text{cm}^3$  de la solució d'alginat sòdic. Remeneu suaument amb una vareta de vidre.
- Colloqueu la xeringa de plàstic en el suport, sobre el vas de precipitats que conté la solució de clorur càlcic a l'1,5%.
- Deixeu caure, gota a gota amb la pipeta de plàstic, la solució amb el complex alginat-enzim en el vas de precipitats amb la solució de clorur càlcic a l'1,5%.
- Deixeu les esferes en la solució de clorur càlcic durant 10' perquè s'endureixin. Passat aquest temps coleu-les i renteu-les en aigua destil·lada.

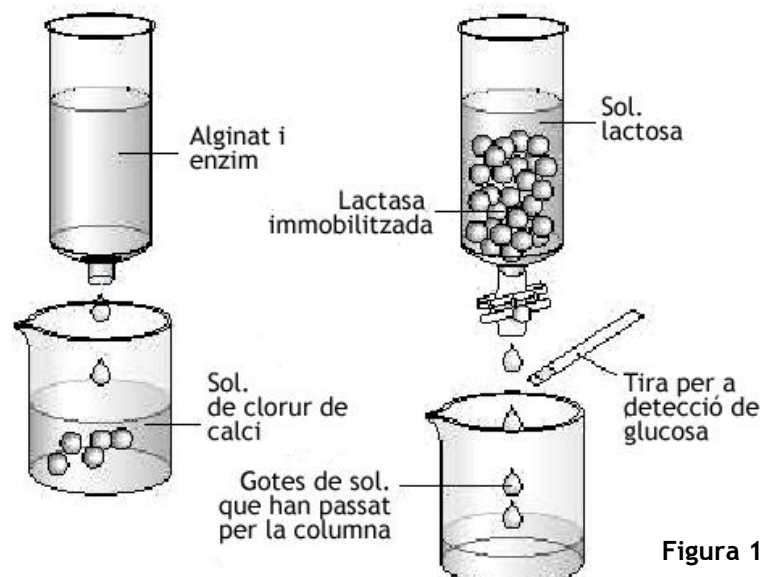
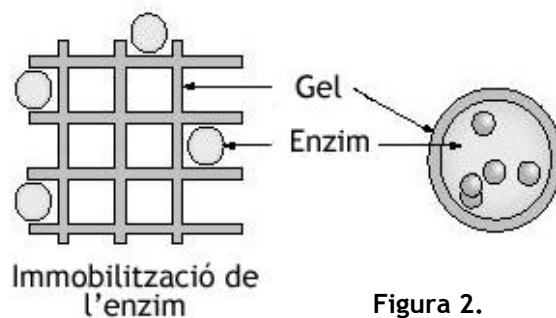


Figura 1.

### Construcció de la columna amb l'enzim immobilitzat

1. Subjecteu una xeringa de plàstic (10 cm<sup>3</sup>) al suport i sobre un vas de precipitats. Poseu un tros de gasa de niló al fons de la xeringa per tal d'evitar que s'escapin les esferes. (figura 2) Figura 1.
2. Subjecteu a l'extrem de la xeringa, on es posa l'agulla, un tros de tub de plàstic i poseu-hi una clau de pas.
3. Poseu les esferes a l'interior de la xeringa amb l'ajut d'una cullera o una espàtula.
4. Poseu el sèrum a la columna i deixeu que vagi caient al vas de precipitats.
5. Comproveu amb l'ajut de les tires reactives la presència de la glucosa tant en el sèrum que feu passar per la columna com en la solució que surt després de passar-hi.



### Anàlisi de les dades: observacions qualitatives

Anoteu els resultats obtinguts en posar en contacte la solució de lactosa amb la tira reactiva i la mateixa solució un cop ha passat per la columna.

### Conclusions

Justifiqueu els colors que apareixen en les tires reactives en ambdós casos.

## Questionari

1. Expliqueu com la lactasa immobilitzada és útil en la indústria alimentària. Cal que tingueu en compte que la lactasa és un producte car.
2. Quin seria l'efecte sobre la taxa d'aparició de la glucosa si les boletes de gel fossin més petites? Justifiqueu la vostra resposta.
3. Immobilitzant un enzim es produeix un microclima al voltant de l'enzim. Els enzims immobilitzats moltes vegades toleren altes temperatures abans de ser desnaturalitzats, i poden funcionar en una àmplia banda de pH. Expliqueu com aquesta situació pot resultar útil per a la utilització dels enzims immobilitzats en indústria i farmàcia (exemple les tires per identificar glucosa).
4. Escriviu un petit paràgraf explicant per què les tires reactives de glucosa indiquen la presència de glucosa però no de galactosa.

## Com funcionen les tires analítiques de glucosa

La detecció de glucosa amb les tires analítiques proporciona un sistema ràpid i fàcil perquè els diabètics controlin els seus nivells de glucosa a la sang i a l'orina. L'avantatge d'aquest mètode sobre altres mètodes químics és que és específic per a la glucosa; la glucosa es pot distingir de la presència d'altres sucres.


La tira reactiva s'empapa dins la solució que s'ha d'analitzar. Tenen lloc dos reaccions:

$$\text{Glucosa} + \text{oxigen} + \text{aigua} \longrightarrow \text{peròxid d'hidrògen} + \text{àcid glucònic}$$

Catalitzada per la glucosa oxidasa

$$\text{Peròxid d'hidrògen} + \text{tint cromatògen no acolorit} \longrightarrow \text{tint cromatògen oxidat acolorit} + \text{aigua}$$

Catalitzada per la peroxidasa



Els enzims glucosa oxidasa i peroxidasa estan immobilitzats dins el filtre de fibres de cel·lulosa