

Explora las enzimas y la ciencia de la intolerancia a la lactosa con comprimidos de lactasa

Actividad de ampliación

¿Por qué los comprimidos de lactasa no deben tomarse con bebidas o alimentos calientes?

Introducción: Las instrucciones en el envase de los comprimidos de lactasa suelen advertir contra la exposición de los fármacos al calor. En esta actividad, escrutamos experimentalmente este descargo de responsabilidad. Experimentos anteriores han demostrado que la enzima lactasa es específica del sustrato y que su actividad depende en gran medida del pH ambiental. Este experimento explora la influencia del calor en la actividad enzimática. Las soluciones de lactosa y maltosa, así como la leche entera y de avena, se tratan con una solución de lactasa precalentada por ebullición, seguida de la detección de azúcar mediante el reactivo de Fehling para controlar la actividad de la lactasa.

Esta actividad dura unos 20 minutos.

Notas de seguridad

- Las pastillas de lactasa, la leche entera y la leche de avena utilizadas en experimentos ya no son aptas para el consumo.
- Peligro de quemaduras al utilizar un baño de agua (65°C).
- Debe utilizarse protección ocular cuando se utilice el reactivo de Fehling fuertemente alcalino.
- En general, debe evitarse el contacto de los productos químicos con la piel y los ojos. En caso de contacto, las zonas afectadas deben enjuagarse cuidadosamente con agua.

Materiales

Equipamiento por grupo:

- 5 tubos de ensayo
- 1 soporte para tubos de ensayo
- 2 vasos de precipitados grandes (por ejemplo, de 600 ml) que sirvan como baños de agua
- 2 termómetro (hasta 100° C)
- 1 placa calefactora en caso necesario
- 5 pipetas de goteo
- Lápiz resistente al agua
- 1 cronómetro
- 1 mortero
- Alícuotas de productos químicos líquidos

- Hoja de trabajo del alumno (véase más abajo)
- Mechero Bunsen
- Soporte para tubos de ensayo

Productos químicos:

- Solución de lactosa (4% p/p)
- Solución de maltosa (4% p/p)
- Leche de avena
- Leche entera
- Reactivo de Fearon (véase la actividad de ampliación)
- Comprimidos exprés de lactasa (12 000 FCC ALU (Código Químico para Alimentos^[1]), eficaces desde el primer minuto)

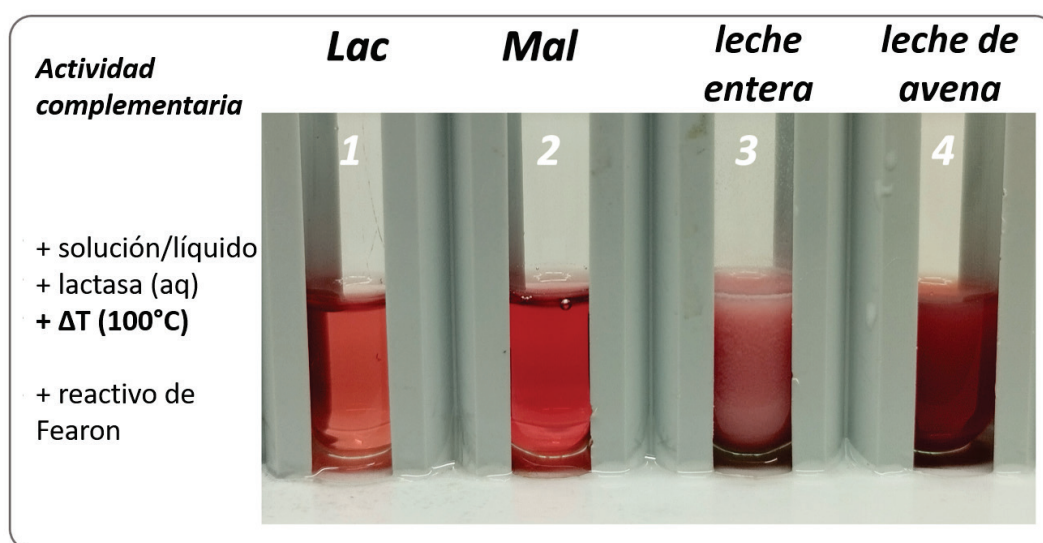
Nota: Es importante utilizar agua del grifo y no agua destilada para preparar las soluciones enzimáticas, ya que contiene determinadas especies iónicas, por ejemplo, calcio, que puede actuar como cofactor enzimático.

Procedimiento

- 1) Los tubos de ensayo deben etiquetarse con los números del 1 al 4, o con abreviaturas de tres letras para los azúcares (Lac, Mal) y "entera" o "avena" para los productos lácteos, utilizando un lápiz resistente al agua. Añade 1 ml de las siguientes soluciones al tubo de ensayo utilizando pipetas cuentagotas: 1) solución de lactosa, 2) solución de maltosa, 3) leche entera y 4) leche de avena.
- 2) Utilizando un mortero, pulveriza una pastilla de lactasa exprés y transfierela a un tubo de ensayo.
- 3) Añade 10 mL de agua del grifo con una pipeta cuentagotas y mezcla para disolver la pastilla de lactasa pulverizada.
- 4) La solución de lactasa se calienta brevemente hasta el punto de ebullición utilizando un mechero Bunsen.
- 5) Añade 1 mL de esta solución de lactasa a cada uno de los tubos de ensayo utilizando una pipeta cuentagotas y agita suavemente para mezclar.
- 6) Colocar los tubos de ensayo en un baño de agua precalentado (38°C) durante 5 minutos, simulando la temperatura del cuerpo humano.
- 7) Añade 1 mL de reactivo de Fearon a cada tubo de ensayo con una pipeta cuentagotas y agita a fondo para mezclar.
- 8) Coloca los tubos de ensayo en un baño de agua precalentado a 65°C.
- 9) Incuba las soluciones durante aproximadamente 5 minutos.

10) Observa y documenta los resultados, por ejemplo, en la hoja de trabajo (véase más abajo).

Observación: Al contrario que en la Actividad 2, con el precalentamiento de la solución de lactasa se observa la formación de un colorante rojo en los cuatro ensayos (ver figura). Este resultado es idéntico a los de la prueba de Fearon con lactosa, maltosa, leche entera y leche de avena sin digestión previa de lactasa.



El ácido, como el que se encuentra en el estómago, inactiva la lactasa

Imagen cortesía del autor

Evaluación: La actividad enzimática depende en gran medida de la integridad o estructura de la proteína. El precalentado de la solución enzimática simula la exposición al calor de las pastillas de lactasa. La persistencia de la formación de colorante rojo utilizando el reactivo de Fearon y la ausencia de formación de colorante amarillo – que indica la formación de glucosa como resultado de la descomposición de la lactosa (como se observó durante un experimento anterior sin pretratamiento ácido, figura S1) – demuestran la pérdida de actividad de la lactasa tras el tratamiento térmico. Esto puede explicarse por los cambios en la estructura tridimensional de la enzima a través de la desnaturalización por calor a temperatura de ebullición, muy por encima de la temperatura del cuerpo humano.

Debate

Con las actividades que aquí se presentan se abordan tres aspectos fundamentales de la actividad enzimática: 1) la especificidad del sustrato, 2) la dependencia del pH y 3) la dependencia de la



temperatura. Los experimentos se centran en un contexto de actualidad, médico y motivador (intolerancia a la lactosa) y utilizan productos alimenticios cotidianos (leche, leche de avena). A diferencia de los experimentos con urea/ureasa, más utilizados y que suelen implicar productos químicos malolientes y pegajosos en un contexto algo abstracto, que no es fácilmente accesible para los alumnos de cursos inferiores, esta serie de experimentos enfocados en el azúcar/lactasa proporciona un acceso alternativo, más cercano y olfativamente agradable al área temática de la enzimología.

Worksheet 4 for extension activity

- 1) Perform the experiment 'Why lactase tablets should not be taken with hot drinks or food'.
- 2) Record your observations by completing Table 1, column 2.
- 3) Complete Table 1, column 3. (Tip: remember what colours the Fehling test gives with monosaccharides and disaccharides.)
- 4) Summarize your results in a short text. What effect does temperature have on the enzyme lactase?

Table 1: Results

Sugar/milk	Colour detected by using Fehling's reagent and lactase	Are monosaccharides or 1,4-linked-disaccharides contained in the sample?
Lactose		
Maltose		
Whole milk		
Oat milk		

Worksheet 4: Model answers

- 1) Perform the experiment 'Why lactase tablets should not be taken with hot drinks or food'.
- 2) Record your observations by completing Table 1, column 2.
- 3) Complete Table 1, column 3. (Tip: remember what colours the Fehling test gives with monosaccharides and disaccharides.)
- 4) Summarize your results in a short text. What effect does temperature have on the enzyme lactase?

Table 2: Results

Sugar/milk	Colour detected by using Fehling's reagent and lactase	Are monosaccharides or 1,4-linked-disaccharides contained in the sample?
Lactose	red	1,4-linked disaccharide
Maltose	red	1,4-linked disaccharide
Whole milk	red	1,4-linked disaccharide
Oat milk	red	1,4-linked disaccharide

Summary: The red dye shows us that, despite the addition of the enzyme lactase, 1,4-linked disaccharides can still be detected in all solutions.

The enzyme is therefore dependent on temperature, and temperatures that are too high lead to the enzyme becoming ineffective.