

Nedbrydning af stivelse ved hjælp af amylase

Formål

I dette forsøg undersøges nedbrydningen af stivelse ved hjælp af amylase. Stivelse er et kulhydrat opbygget af flere hundrede glukosemolekyler i lange kæder, og det udgør langt størstedelen af kulhydraterne i vores kost. Amylase er et enzym som kan spalte stivelse til maltose, som blot består af to glukosemolekyler, se også side 24-26 i Biologi til tiden. I fordøjelsessystemet starter spaltningen af stivelse allerede i munden hvor spytkirtlerne udskiller spytamylase. Øverst i tyndtarmen tilføres endvidere bugspyttamylase fra bugspytkirtlen. I dette forsøg påvises spaltningen af stivelse via et farveskift. Det sker ved at tilføre jod som binder til stivelsesmolekylerne og farver dem blå. Når stivelsen bliver nedbrudt til mindre enheder, slipper jodatomerne, og væskens blålige skær forsvinder. I stedet bliver væsken gullig pga. de frigjorte jod-ioner. Det er dette farveskift og hastigheden heraf som bruges som udtryk for amylaseaktiviteten og dermed spaltningen af stivelse. I forsøget benyttes både spytamylase og industriel amylase til at nedbryde stivelse. Desuden undersøges hvilken effekt temperatur og pH har på nedbrydningshastigheden.

Materialer

- Bægerglas med ca. 100 mL 0,5 % forklistret stivelsesopløsning. (En fælles opløsning laves ved at opblende 5 gram stivelse i kogende vand og fortynde til en liter).
- Reagensglas med 5 % jod-jod-kaliumopløsning (Lugols reagens).
- Lille bægerglas med industriel amylase (AMG-300).
- Lille bægerglas til opsamling af spytamylase.
- 5 reagensglas i stativ + et tomt stativ.
- 10 mL måleglas, spatel til omrøring, 2 engangspipetter, vandfast tusch, mærkater og ur.

Fremgangsmåde

1. Hver gruppe indsamler de nævnte materialer.
2. En person fra hver gruppe opsamler ca. 2-3 mL spyt i et lille bægerglas, evt. ved at tygge på en elastik. Spytet fortyndes med ca. 4 mL vand og omrøres grundigt.
3. Fem reagensglas nummereres fra 1-5, svarende til følgende forsøg:

Glas nr.	Enzym	pH	Temperatur °C	Tid for farveskift fra blå til gullig væske
1 (kontrol)	Ingen	7 (Neutral)	Ca. 20°	
2	Spyttamylase	7	Ca. 20°	
3	AMG-300	7	Ca. 20°	
4	AMG-300	7	Ca. 50°	
5	AMG-300	2 (saltsyre)	Ca. 20°	

4. Ved hjælp af 10 mL måleglas tilsættes til alle fem forsøgsglas 5 mL 0,5 % stivelseopløsning.
5. Tilsæt 2 dråber jod-jod-kalium med engangspipette til hvert glas og omrør med spatel. Notér farverekationen og hold øje med om farven skifter i glas nr. 1 (kontrol = blindprøve). Spatlen skylles omhyggeligt inden I fortsætter.
6. Tilsæt 0,5 mL spytamylase til glas 2 og omrør med spatel. Tag omhyggeligt tid på hvor lang tid der går før væsken bliver klar med svagt blåligt skær. Farverekationen iagttages bedst ved at holde glasset op mod et hvidt papir sammen med glas 1. Husk at skylle spatlen inden næste forsøg.

7. Til glas 3 tilsættes 3 dråber AMG-300 (industriell amylase) med plasticpipette, omrør med spatlen. Tag igen omhyggeligt tid på farveskiftet (ligesom i glas 2, punkt 6).
8. Temperaturforsøg (glas 4): Anbring glas 4 i varmebad ved 50 °C i et minut. Tilsæt derefter 3 dråber AMG 300 og omrør med rengjort spatel. Tag igen omhyggeligt tid på farveskiftet og notér tiden.
9. pH-forsøg (glas 5): Tilsæt 0,5 mL 0,1 M saltsyre med plasticpipette til glas 5, derefter 3 dråber AMG 300 og omrør med rengjort spatel. Hold igen øje med farveskiftet som i de andre forsøg.
10. Hvis der er tid udføres flere forsøg med enten ændret pH eller temperatur.
11. Alle rydder op. Glas med stivelsesopløsning renses omhyggeligt med reagensglasbørste, varmt vand og sæbe. Øvrige glas rengøres også med varmt vand og sæbe, og alle glas skylles til sidst med demineraliseret vand og stilles på viskestykke med bunden i vejret. Det rengjorte udstyr skal godkendes af læreren. Alternativt sættes det hele i opvaskemaskinen.

Resultater

Udfyld resultatskemaet med tiderne for farveskift.

Diskussion

Forklar hvad hvert af de fem forsøg viser om spaltning af stivelse ved hjælp af amylase, herunder:

1. Hvad viser kontrollforsøget?
2. Hvilken forskel er der på aktiviteten af spytamylase og industriell amylase? – Hvad er årsagen hertil, – hvordan kan forsøget designes så der ingen forskel bliver?
3. Hvilken effekt har temperatur på amylase, – hvilke resultater tror I man havde fået ved forsøg ved henholdsvis 5° og 90 °C?
4. Hvilken effekt har pH på aktiviteten af amylase. Sammenlign resultatet med pH-forholdene i mavesækken. Hvorfor er det vigtigt at få tilført amylase fra bugspytkirtlen og ikke blot fra spytkirtlerne i munden?

Konklusion

Skriv en kort konklusion på forsøget i forhold til formålet med det.

Biologi til tiden

© Paul Paludan-Müller og Nucleus Forlag

[Print side](#)

[Luk vindue](#)