

# Spaltung von Milchfett

Fett liegt in der Milch in Form feinsten Kugeln (Tröpfchen) vor, die durch Proteine als Schutzkolloid stabilisiert werden. Im Milchfett ist Glycerin mit kurzkettigen Fettsäuren verestert. Diese Fette unterliegen im Dünndarm nur in geringem Umfang einer Spaltung durch Pankreaslipase. Der überwiegende Teil wird direkt von den Enterozyten aufgenommen (passive Durchdringung der apikalen Membran aufgrund der Lipophilie) und intrazellulär gespalten. Die entstandenen kurzkettigen Fettsäuren werden zur weiteren Metabolisierung in die Leber transportiert. Milchfett bietet durch die feine Verteilung der Fetttröpfchen eine ideale Voraussetzung für die schnelle Hydrolyse durch Lipase im Reagenzglas.

## Aufgabenstellung:

Die Entstehung freier Fettsäuren aus Milchfett durch Einwirkung von Pankreaslipase wird mit dem Indikator Phenolphthalein (Umschlagpunkten 0, 8.2 und 12 (rot – farblos – violett – farblos) demonstriert und die Wirkung durch eine pH-Änderung gemessen.

## Material:

Pipetten, Reagenzgläser, Wasserbad (37 °C), pH-Meter, Packungen Milch, 1 N NaOH, Lipase aus Pancreas, 1 % Phenolphthaleinlösung, 0,9 % NaCl – Lösung

## Durchführung:

**CAVE:** NaOH ist eine starke Base. Tragen Sie Schutzbrillen.

**CAVE:** Beim Aufkochen des Enzyms aufpassen: die Flüssigkeit kocht abrupt und „schießt“ aus dem Gefäß heraus. Öffnung des Röhrchens vom Körper weghalten.

Wiegen Sie 50 mg Lipase ab und lösen Sie es in 10 ml 0,9 %iger NaCl – Lösung (schwer löslich, 10 min schütteln, dann absetzen lassen). Kochen Sie davon 2 ml in einem Reagenzglas auf: halten Sie das Röhrchen mittels Klammer über einen Bunsenbrenner und bringen die Lösung zum Kochen. Lösung kurz abkühlen lassen.

Pipettieren Sie in zwei Reagenzröhrchen folgenden Inhalt:

Je Röhrchen:

5 ml Milch (3,5 % Fett)

(ca.) 2 Tropfen 1 %ige Phenolphthaleinlösung

Ca. 50 µl 1 N NaOH

Die Zugabe der NaOH führt durch Alkalisierung zu einer deutlichen Rosafärbung. Messen Sie mit einer pH-Elektrode den pH-Wert und notieren Sie diesen. Geben Sie in Röhrchen 1 anschließend – je nach Gruppennummer (siehe dazu Protokollblatt) – zwischen 200 und 500 µl gekochte, in Röhrchen 2 die gleiche Menge ungekochte Lipaselösung.

Notieren Sie die zugegebene Menge und messen Sie den pH-Wert. Inkubieren Sie beide Röhrchen bei 37 °C im Wasserbad und beobachten Sie den Farbumschlag (innerhalb von 10-60 min). Notieren Sie die Zeit und messen Sie mit zunehmenden Intervallen (zu Beginn nach jeweils ca. 30 sek, später nach mehreren Minuten) den pH-Wert.

## Auswertung:

Protokollieren und diskutieren Sie Ihre Ergebnisse/Beobachtungen und die Ihrer Kollegen! Tragen Sie den pH-Wert gegenüber der Zeit in einer Grafik auf. Vergleichen Sie fettarme und normale Milch.