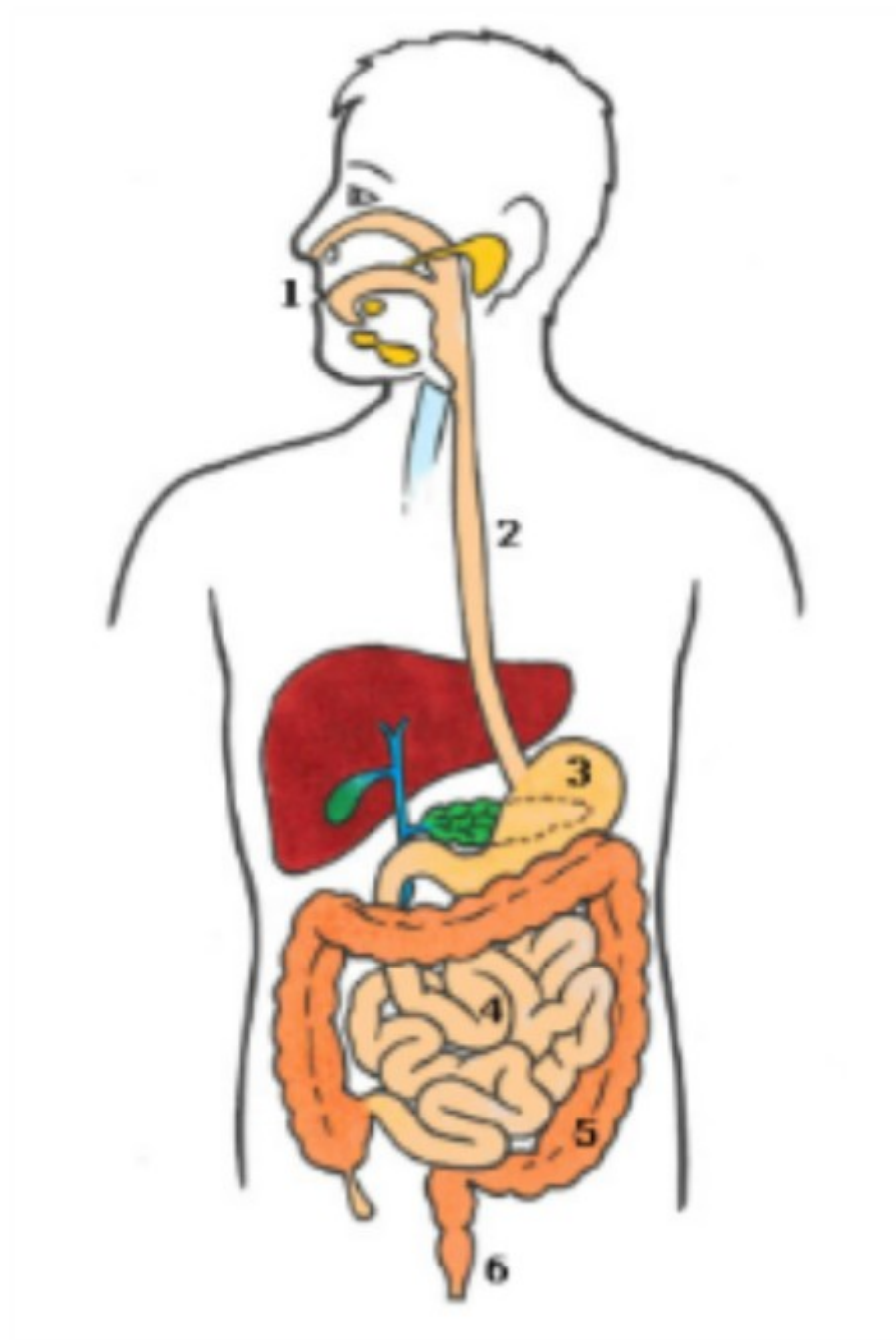


Nedbrydning af stivelse

Biologirapport

Spytamilase i fordøjelsen



Formål

Formålet med forsøget var primært at visualisere nedbrydningen af stivelse, der begynder allerede samtidig med den mekaniske fordøjelse, ved tilsættelse af spytamylase. Enzymet spalter stivelse til disakkaridet maltose.

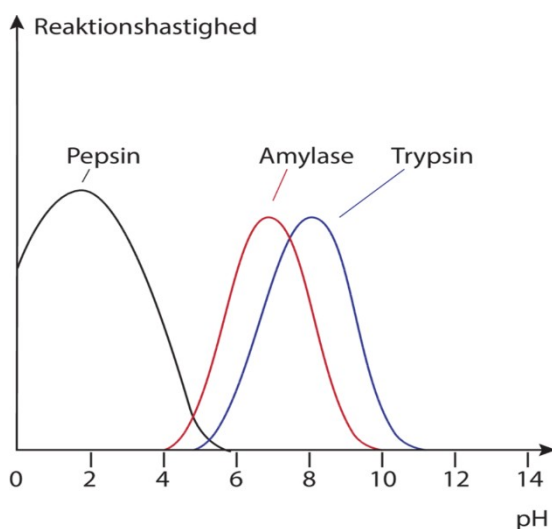
Derudover valgte vi at teste, hvorvidt enzymet ville denaturere og/eller miste dets funktion ved henholdsvis på førelse af varme og forsuring af omgivelserne.

Teori

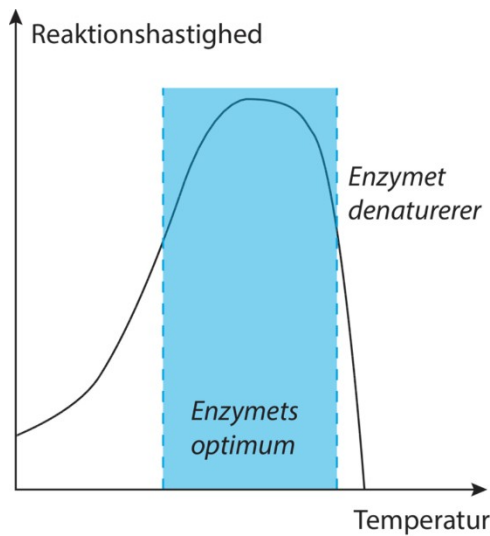
I fordøjelsessystemet starter spaltningen af stivelse allerede i munden, hvor den mekaniske fordøjelse foregår, og spytkirtlerne udskiller spytamylase. Her bliver polysakkaridet stivelse spaltet til monosakkarider. Øverst i tyndtarmen tilføres endvidere bugspyttamylase fra bugspytkirtlen, der spalter disakkariderne maltose til glukose.

Kulhydrater eller sakkarider er organiske stoffer der fungerer som energi til kroppen. Der er 17 kJ i et gram kulstof, og de består af carbon, hydrogen og oxygen. Maltose og stivelse, som er de kulhydrater vi beskæftiger os med i denne rapport, er et di- og et polysakkarid. Disakkarider er kulhydrater der består af to monosakkarider der er bundet sammen ved hjælp af en kondensation, altså en fraspaltning af vand. Maltose består af to glukosemolekyler der er bundet sammen. Polysakkarider er ligesådan lange kæder der er bygget op af monosakkarider, stivelse er et

I dette forsøg påvises spaltningen af stivelse via et farveskift. Det sker ved at tilføre iodid (lugol's reagent), der binder til stivelsesmolekylerne og farver substansen blå, da der dannes et farvet kompleks mellem iodid og stivelse. Når stivelsen bliver nedbrudt til mindre enheder, slipper iodatomerne, og væskens blålige skær forsvinder. I stedet bliver væsken gullig eller gennemsigtig pga. det frigjorte iod. Det er dette farveskift og hastigheden heraf som bruges som udtryk for amylaseaktiviteten og dermed spaltningen af stivelse.



Enzymer har et PH-optimum, dette vil sige at ved en bestemt PH-værdi er enzymets aktivitet størst. Dannelsen af enzym substratet afhænger af ladningerne på det aktive center og substratet, derfor vil det blive enten sværere eller helt umuligt ved alt for store afvigelser fra enzymets PH-optimum. Amylases PH-optimum ligger mellem 6 og 8.



Enzymer har også et temperaturoptimum, hvilket vil sige at deres aktivitet er størst når omgivelserne har en bestemt temperatur. Når temperaturen stiger, vil molekylerne bevæge sig hurtigere, og dermed vil enzymsubstratkomplekserne dannes hurtigere. Derimod vil enzyms tertiære struktur ødelægges, hvis temperaturen overstiger enzyms temperatur optimum.

På grafen til højre er et enzyms temperaturoptimum visualiseret.

Hypotese

Iod ionerne kan ikke binde sig til mono- og disakkarider, kun til polysakkarider. Da stivelse er et polysakkarid, vil den blå farve derfor aftage. Derudover forventer vi at farven vil forblive blå ved tilsættelse af syre og varme, da enzymet vil denaturere og ikke vil kunne nedbryde stivelsen.

Materialer

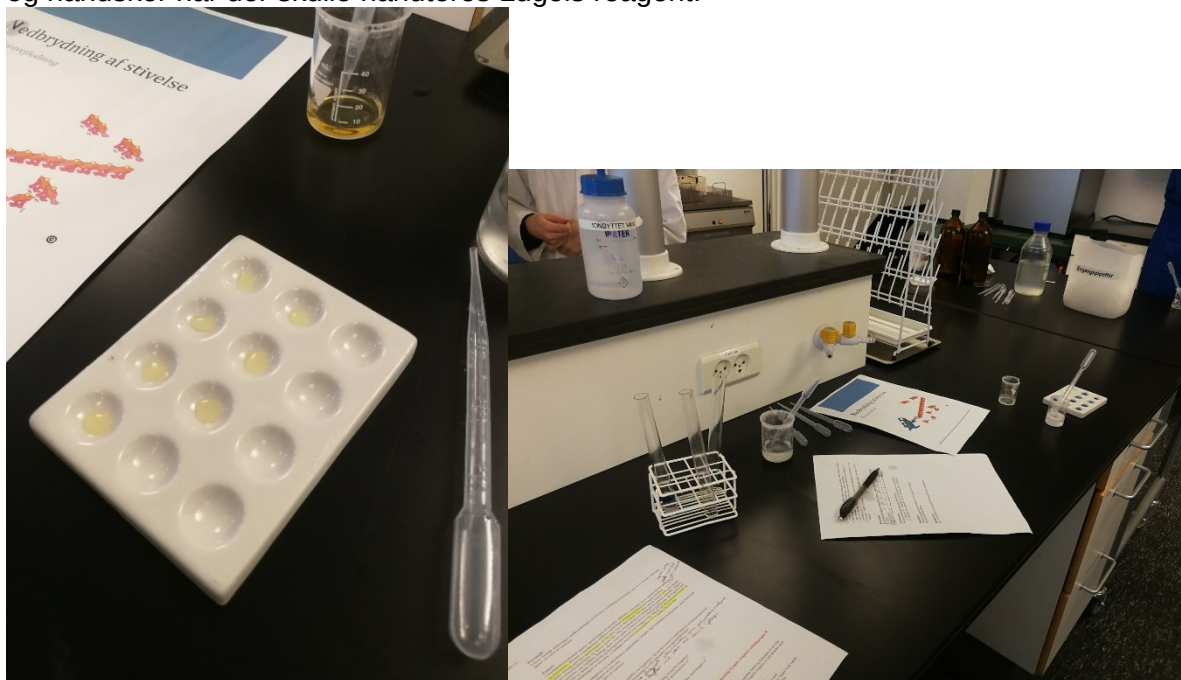
- 0,5 % stivelsesopløsning
- 5 % iod-kalium-iodid-opløsning (Lugols reagent)
- Lille bægerglas til opsamling af spyttamylase
- Reagensglas i stativ.
- 10 ml måleglas
- Porcelænsplade med fordybninger eller små bægre
- Stopur/mobil

Fremgangsmåde

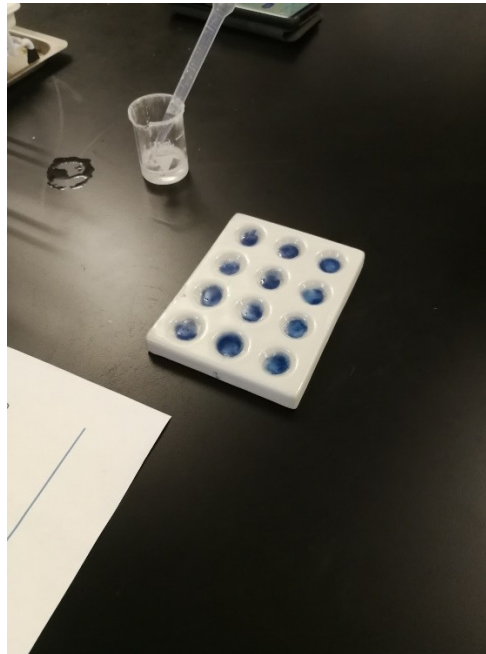
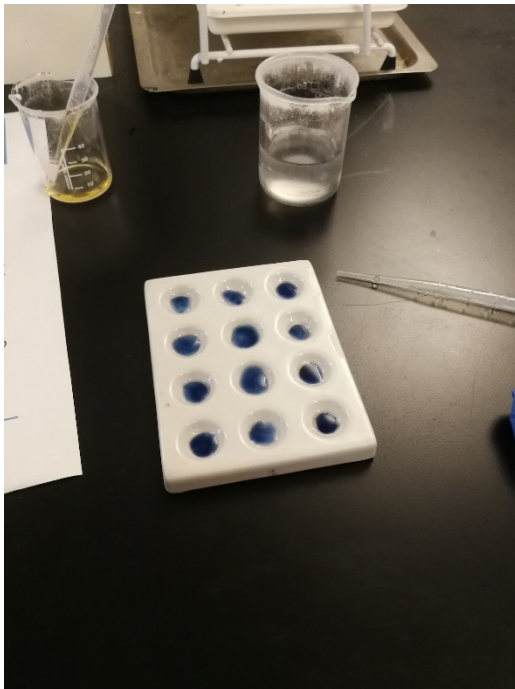
- 1) Der tilsættes 5 ml stivelsesopløsning til 2 reagensglas, mærket 1 og 2
- 2) Der dryppes et par dråber Lugols reagent i reagensglas 1
- 3) Der opsamles ca. 1 ml spyt i et bægerglas, og der fortyndes 1:4 (dvs. tilsæt 4 ml vand)
- 4) Et par dråber Lugols reagent tilsættes hver fordybning i porcelænspladen
- 5) Til tiden 0 tilsættes 1 ml spytopopløsning til reagensglas 2 og straks efter tilsættes et par dråber af stivelse-spyt-opløsningen til fordybning nr. 1 på porcelænspladen. hver 20'ende sekund efter tilsættes opløsningen til næste fordybning

Forsøgsopstilling:

Forsøgsopstillingen inkluderede et bægerglas til Lugols reagent, et bægerglas til stivelsesopløsning og et lille bægerglas til spyt opsamling. Derudover skulle vi bruge et reagensglas til kontrol af stivelsesopløsningen og et reagensglas til opblanding af spytopopløsning og stivelsesopløsning, samt et stativ til at opbevare reagensglassene i. Der skulle også bruges en porcelænsplade hvor stivelse-spyt-opløsningen skulle tilsættes Lugols reagent i tidsintervaller. Derudover skulle der selvfølgelig bruges engangspipetter til tilsætning af de forskellige opløsninger og handsker når der skulle håndteres Lugols reagent.



Resultater



Forsøg under normale forhold

I vores første forsøg benyttede vi os af Tobias' spyt, vi gentog forsøget to gange, men fik det samme resultat. Forsøget er altså forsøg 1 & 2 i skemaet under resultatbehandling. Stivelsen i blandingen blev ikke nedbrudt. Det kunne vi observere, da farven ikke aftog, når vi blandede væsken med Lugols reagent.

En fejlkilde kan være at Tobias' spyt ikke har indeholdt så mange enzymer, dette kan ske hvis der ikke bliver tænkt på mad, men derimod bliver spyttet modvilligt ned i bægerglasset.

En anden fejlkilde kan være at der kun var 12 fordybninger i porcelæn pladen, så vi kunne kun foretage målinger i 4 minutter (240 sekunder), og måske havde Tobias' spytamylase behov for en del længere tid, til at nedbryde stivelsen.

Der kan have været lidt mindre end en ml spyt, og derfor kan spyttet være blevet fortyndet en smule mere end 1:4.



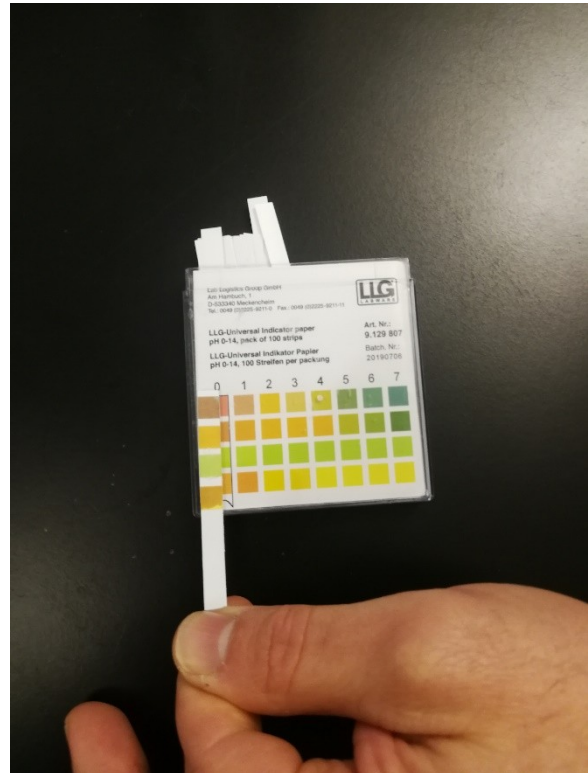
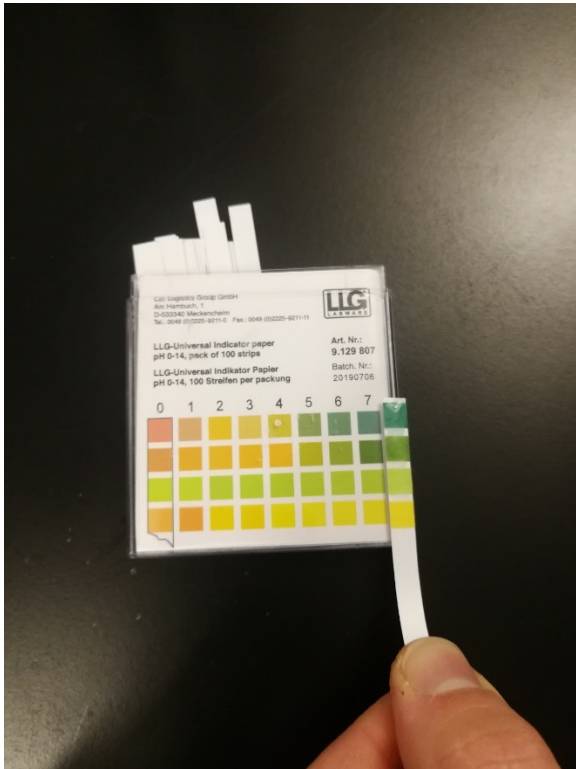
I dette forsøg, forsøg 3 skemaet under resultatbehandling, benyttede vi os af en blanding af Idas og Jasmins spyt. Det var allerede muligt at se en aftagning i den blå farve efter tyve sekunder.

Da det er et kvalitativt forsøg, kan det diskuteres præcis hvornår den blå farve forsvandt helt. Dog synes vi at observere at farven var aftaget helt efter et minut.

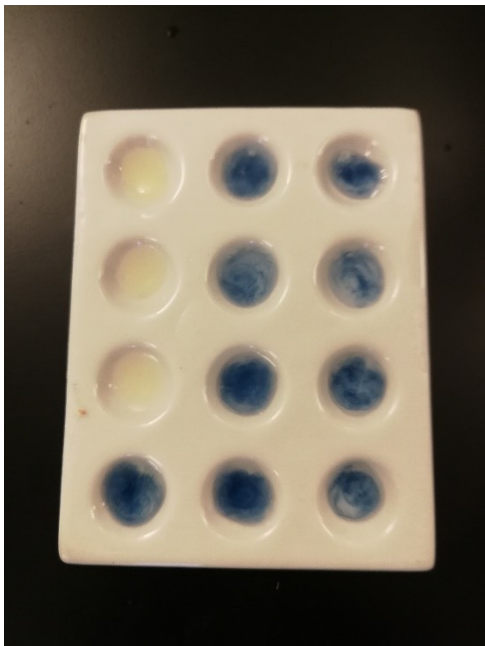
En fejlkilde her kan være porcelæn pladens renhed, at væsken måske ikke helt blev blandet med Lugols reagent på sekundet 0, men nærmere da der var gået et halvt til et helt sekund.

Biologirapport

Nedbrydning af stivelse



Forsøg med PH-optimum

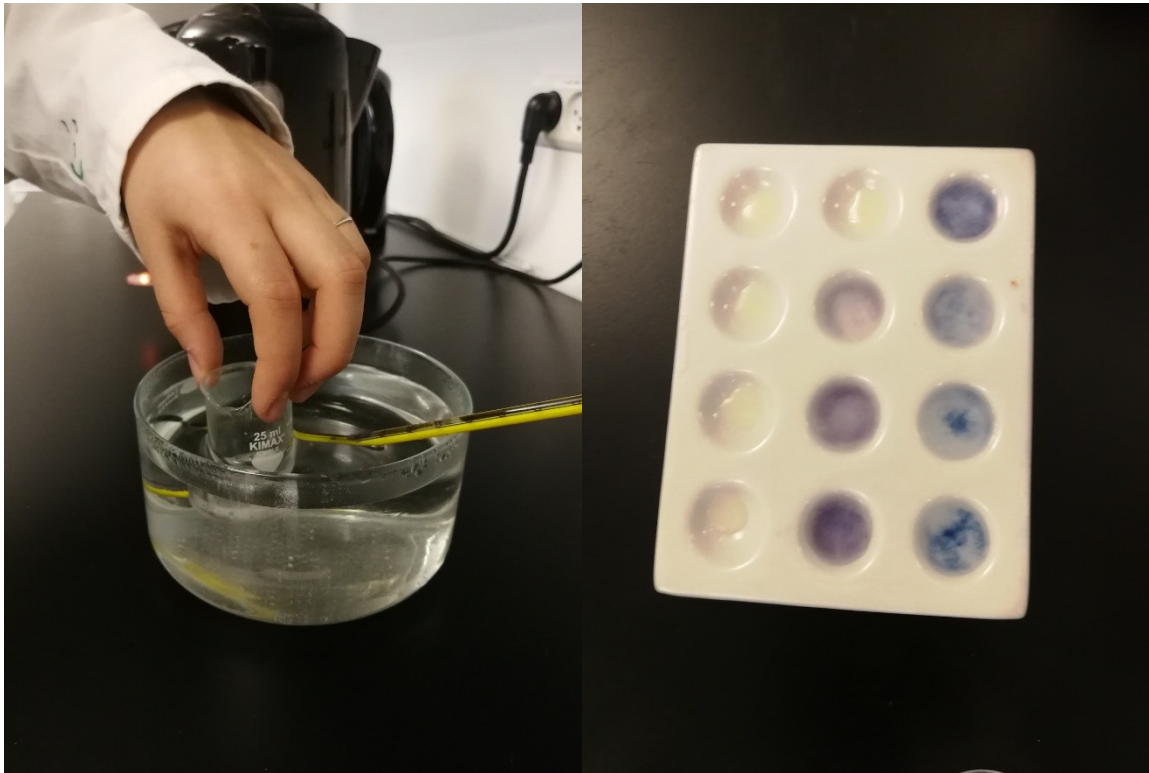


For at teste hvorvidt enzymet ville virke hvis det befandt sig i et miljø langt uden for dets PH-optimum, tog vi og blandede vores spyt med syre. PH-værdien i opløsningen endte med at være ca. 1.

Forsøget forløb som forventet. som man kan se på billederne til venstre blev Alle fordybningerne ved med at være blå. Ud fra det kan vi antage at enzymerne altså ikke kan fungere ved store udsving fra den optimale PH-værdi, på omkring 7.

Fejlkilder kan være at vi ikke foretog mere end 9 målinger, og eventuelt porcelæn pladens renhed. Der kan også ha været for meget vand i forhold til spyt, da opmålingen af den ene ml spyt foregik mere eller mindre på slump.

Forsøg med temperature-optimum



For at kunne visualisere spytamylases denaturering ved temperaturer højere end dets temperatur optimum, varmebehandlede vi Jasmins og Idas spyt. Bægerglasset med spyt blev holdt under vand på 70-80 grader i cirka det der svarer til et minut. Derefter blev spyttet fortyndet med det opvarmede vand.

Derefter gentog vi proceduren og blandede stivelse med spyt blandingen, de blev dryppet i porcelæn pladen med Lugols reagent i tidsintervaller. Varmebehandlingen resulterede dog i at spytamylase enzymerne ikke kunne nedbryde stivelsen. Det kan vi igen se da væsken, ligesom i forsøget med syrebehandling, ikke ophørte med at blive blå når vi blandede den med Lugols reagent.

Fejlkilder ved dette forsøg kan være at vi ikke varmebehandlede spyttet længe nok, eller at temperaturen er dalet jo længere tid, det har taget os at blande spyttet med vand og stivelse o.s.v. En anden fejkilde kan være at vi ikke lod enzymet arbejde på at nedbryde stivelsen i mere end 120 sekunder, så i realiteten ved vi ikke om enzymet rent faktisk denaturerede, eller det bare var længere om at nedbryde stivelsen.

Resultatbehandling

Farveregaktionerne på porcelænspladen indføres i nedenstående skema; (vejledende tider)

Tid (sek)	0	20	40	60	80	100	120
Resultat 1	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt
Resultat 2	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt
Resultat 3	Blåt	Mindre blåt	Ingen farve	Ingen farve	Ingen farve	Ingen farve	Ingen farve
Syrebehandling	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt
Varmebehandling	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt	Blåt	Blå

Diskussion

Forsøgsresultaterne kommenteres og diskuteres herunder

Hvad sker der i reagensglas 1, og hvilken funktion har dette glas?

I reagensglasset laver vi en kontrol af stivelsesopløsningen og Lugols reagent. Når vi tilsætter Lugols reagent til stivelsesopløsningen, bliver opløsningen blå. Iodiden i Lugols reagent binder sig til polysakkarider, men ikke di- eller monosakkarider. Vores stivelse er et polysakkarid (kulhydrat), som består af flere monosakkarider. Dermed undersøger vi, om Lugols reagent virker, og farver væsken blå.

Hvad sker der i reagensglas 2 til de forskellige tidsintervaller?

I det øjeblik vi tilsætter spyttet til vores stivelsesopløsning, begynder enzymerne at arbejde. Herefter tager vi prøver hvert 20. sekund. Når polysakkariderne er spaltet, vil væsken ikke længere have den blå farve. I den første prøve, har vi en del blå. Hvilket bevidner om at stivelsen ikke er nedbrudt endnu. Derefter tager vi en prøve ved 20 sekunder, hvor man kan se at farven er aftagende. Når farven er aftagende, viser det at polysakkariderne er i gang med at blive nedbrudt. Dermed virker vores enzymer. Ved vores tredje prøve (altså 40 sekunder), var væsken næsten helt gennemsigtig. Dette betyder at al stivelsen er blevet nedbrudt til disakkaridet maltose.

Konklusion

Vi nåede i høj grad vores mål om at visualisere nedbrydelsen af stivelse, med mange billeder og eksempler. Derudover påviste vi denatureringen af enzymet spytamylase, ved forsuring og opvarmning af omgivelserne.

Vores hypotese(r) var rigtige. Som vi forventede blev stivelsen nedbrudt gradvist, som tiden gik, dog havde vi to forsøg hvor der slet ikke skete noget, men vi tror det havde noget at gøre med Tobias' spyt, eller han bare ikke var sulten, da spytamylase ikke bliver udskilt (i hvert fald ikke i store mængder) hvis der ikke er noget til at aktivere det.

Alt i alt var vores kvalitative forsøg vellykket, da vi påviste spytamylases evne til at nedbryde stivelse, og dets denaturering eller nedsatte funktion udenfor dets temperatur- og PH-optimum.

[Virkelig flot rapport!](#)

[I viser stor forståelse for både det teoretiske og især den praktiske del af forsøget. Flot arbejde, bliv ved med det.](#)