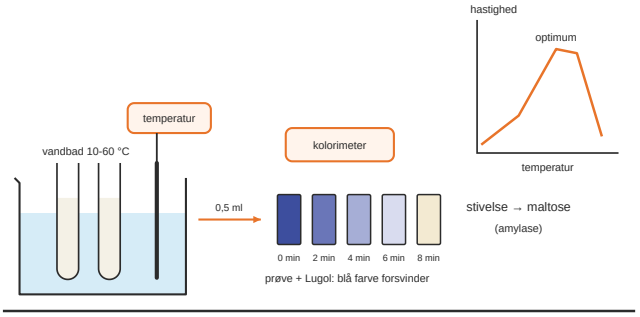
Amylase og stivelse: find enzymets temperaturoptimum

Navn: Klasse: Dato:

Hvordan afhænger amylases nedbrydning af stivelse af temperaturen, og ved hvilken temperatur arbejder enzymet hurtigst?



Amylase og stivelse: find enzymets temperaturoptimum

Vores hypotese

Det skal I bruge

- Sæt til fordøjelse af stivelse
- Stivelse og amylase, forsøgssæt
- Stivelsesopløsning 1 %
- Kolorimeter og turbiditetssensor, trådløs (PASCO PS-3215)
- Kuvetter til PASPORT-kolorimeter og turbiditetssensor
- Temperatursensor, trådløs (PASCO PS-3201)
- Reagensglas 20×150 mm
- Reagensglasstativ, 20 huller
- Bægerglas 400 ml
- Engangspipette plast 1 ml
- Måleglas 10 ml med hældetud
- Elkedel 1,7 liter
- Stopur, digitalt
- Beskyttelsesbriller, komfort
- Nitrilhandsker, Medium
- Is og varmt vand til vandbadene
- Demineraliseret vand
- Glukosestrimler (fx fra apoteket), hvis glukose også skal påvises
- Tablet eller computer med SPARKvue eller Capstone og evt. regneark

Sikkerhed

Amylase i pulverform kan give allergi eller astma, hvis støvet indåndes. Læreren opløser pulveret i vand uden at lave støv, og elever med astma eller allergi skal ikke håndtere pulveret. Lugol (iod i kaliumiodid) irriterer øjne og hud og farver hud og tøj brunt: brug beskyttelsesbriller og handsker. Vand fra elkedlen kan skolde: bland vandbadene, så de højst er 60 °C. Spis og smag ikke på noget i forsøget. Læreren skal følge skolens retningslinjer og sikkerhedsdatablade.

Sådan gør I

1. Læreren laver en amylaseopløsning og en stivelsesopløsning efter sættets vejledning og fortynder Lugol, så en blanding af stivelse og Lugol giver en tydelig, men ikke helt mørk blå farve i kuvetten.

2. Forbind kolorimeteret i SPARKvue, og vælg den røde eller orange farve (ca. 610-650 nm), hvor den blå farve absorberer mest. Kalibrér med en kuvette med vand og fortyndet Lugol.
3. Lav en standardkurve: Bland kendte mængder stivelse (fx 0 %, 0,25 %, 0,5 %, 0,75 % og 1 %) med fortyndet Lugol i kuvetter, og mål absorbansen. Tjek, at absorbansen er proportional med koncentrationen.
4. Stil et vandbad til den første temperatur, fx 20 °C, og sæt temperatursensoren i. Kom 5 ml stivelsesopløsning i ét reagensglas og 1 ml amylaseopløsning i et andet, og stil dem i vandbadet, til de har badets temperatur.
5. Hæld amylasen i stivelsen, start stopuret, og bland. Udtag 0,5 ml hvert andet minut til en kuvette med fortyndet Lugol, og mål absorbansen med det samme. Fortsæt i ca. 10 minutter, eller til farven er væk.
6. Gentag ved fx 10 °C, 30 °C, 37 °C, 45 °C og 60 °C. Fordel gerne temperaturerne mellem grupperne, og saml resultaterne for klassen.
7. Omregn absorbanserne til stivelseskoncentration med standardkurven. Find starthastigheden som hældningen af koncentrationen mod tiden i de første minutter, og tegn hastigheden som funktion af temperaturen.
8. Valgfrit: Påvis glukose og maltose med glukosestrimler i en prøve fra starten og slutningen, eller undersøg betydningen af pH.

Vores målinger

Temperatur (°C)	Tid (min)	Absorbans	Stivelse (%)	Starthastighed (%/min)

Graf eller tegning

Spørgsmål

1. Ved hvilken temperatur gik nedbrydningen hurtigst?

2. Hvorfor går reaktionen langsomt ved lave temperaturer?

3. Hvad sker der med enzymet ved høje temperaturer?

4. Hvorfor bruger man en standardkurve, før absorbansen omregnes til koncentration?

5. Hvorfor holder amylasen i spyttet op med at virke i maven?

Vores konklusion