

E1: Stärkeabbau durch das Enzym Amylase bei unterschiedlichen Temperaturen.

Datum: 20. Dezember 2001
Gruppe: Adrian Schori und Oliver Haubensak

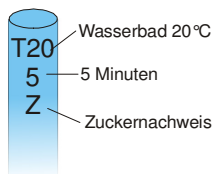
Ziel des Praktikums: Ziel ist es, den Einfluss der Zeit und der Temperatur bei dem Stärkeabbau durch Amylase nachzuweisen.

Material: 2 ml Amylase 130 u/ml
 80 ml Stärkelösung 2%
 Lugol
 16 ml Fehling Reagenz (Fehling I und II im Verhältnis 1:1)
 dest. Wasser
 Wasserbad 30 °C, 20 °C, 10 °C
 3 Thermometer
 Becherglas 400 ml mit Siedesteinchen
 Bunsenbrenner, Dreibein, Zündhölzer
 4 Erlenmeyer 20 ml
 4 Pipetten 1 ml, Eppendorf-Pipette 1ml
 2 Pipettierhilfen
 Messzylinder 25 ml
 32 RG und 4 RG-Gestelle
 1 Holzzange
 1 Stoppuhr

Vorgehen:

- Die drei Wasserbäder (10 °C [T10], 20 °C [T20] und 30 °C [T30]) werden eingerichtet. Das zehnrädige Bad wird mit Eiswürfeln gekühlt. Falls die Zimmertemperatur 20 °C beträgt, ist das [T20] nicht nötig.
- Die vier Erlenmeyerkolben werden mit je 20 ml Stärkelösung gefüllt. Einer wird im T10 abgekühlt und einer im T30 vorgewärmt. Die restlichen zwei werden ins T20 Wasserbad gestellt, falls die Raumtemperatur nicht genau 20 °C ist.
- in jedes der vier Gestelle werden acht RG's gestellt. Die RG's werden wie folgt beschriftet:
 - In jedem Gestell (T10, T20, oder T30) je zwei mit 0, 2, 5 und 10 min beschriftet. Eines der beiden wird dann für den Stärkenachweis und eines für den Zuckernachweis gebraucht.
 - In die RG's für den Stärkenachweis je drei Tropfen Lugol und für den Zuckernachweis je 1 ml Fehling (I+II) geben.
- Je 1 ml Stärkelösung aus den Erlenmeyer entnehmen. Der daraus resultierende Wert entspricht dem Nullwert.
- Start: In drei Erlenmeyer werden je 0.5 ml Amylase dazu gegeben. Bei einem Ansatz T20 wird keine Amylase dazugegeben (Kontrollansatz). Nach der Zugabe der Amylase sofort die Zeit nehmen.
- Nach 2, 5, 10 Minuten aus jedem Erlenmeyer je 1ml für den Stärke- und den Zuckernachweis entnehmen.

Beispiel für die RG-Beschriftung:



Methode: Stärkenachweis: Mit Hilfe der Lugol'schen Lösung (Iod-Kaliumiodidlösung) kann man Stärke nachweisen.
 Keine Stärke: Der Ansatz bleibt gelblich.
 Stärke: Der Ansatz färbt sich rostbraun.

Zuckernachweis: Mit Hilfe der Fehling'schen Lösung kann man Zucker nachweisen. Der Ansatz muss erwärmt werden. Erst dann zeigt sich das Ergebnis. Die Fehling-Reagenz besteht aus Kupfer(II)-sulfat, Kaliumnatriumtartrat, Natriumhydroxid und dest. Wasser.

Keinen Zucker: Der Ansatz bleibt blau.

Zucker: Der Ansatz färbt sich rötlich.

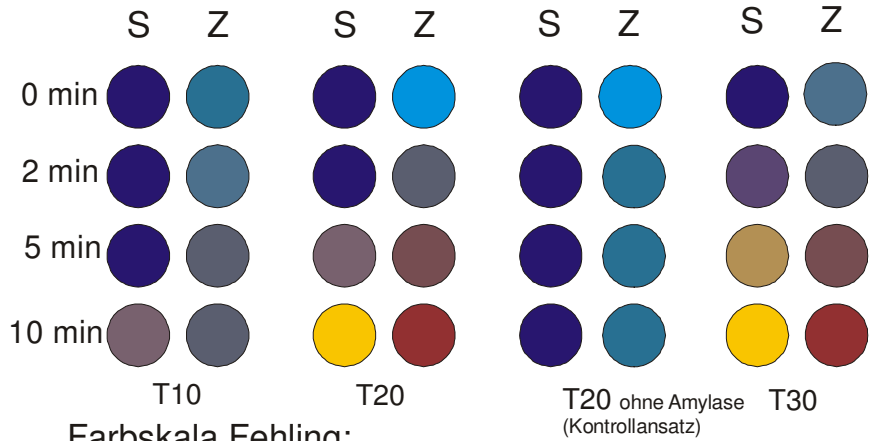
Die Amylase spaltet unter Mitwirkung von Wasser die Glykosidbindung der Glucose und so entsteht dann die Maltose.

Erwartung:

Ich erwarte eine abnehmende Stärkekonzentration und eine zunehmende Zuckerkonzentration in der Reaktionslösung. Bei niedriger Temperatur wird das Enzym langsamer funktionieren.

Resultate:

Farbe:



Farbskala Fehling:



Farbskala Lugol:



Werte:

Wertetabelle:

| T10 | Stärke | Zucker |
|-----|--------|--------|
| 0 | 4 | 1 |
| 2 | 4 | 1.5 |
| 5 | 4 | 2 |
| 10 | 2 | 2 |

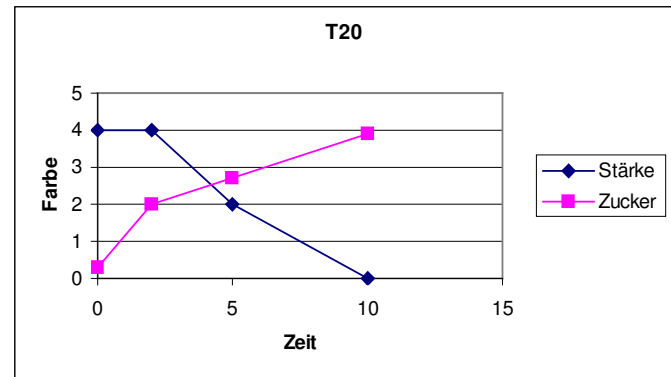
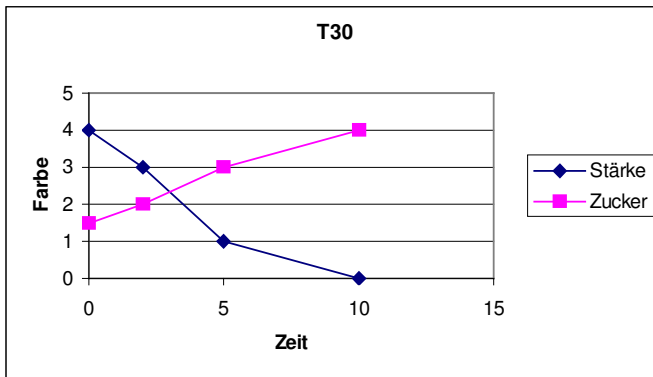
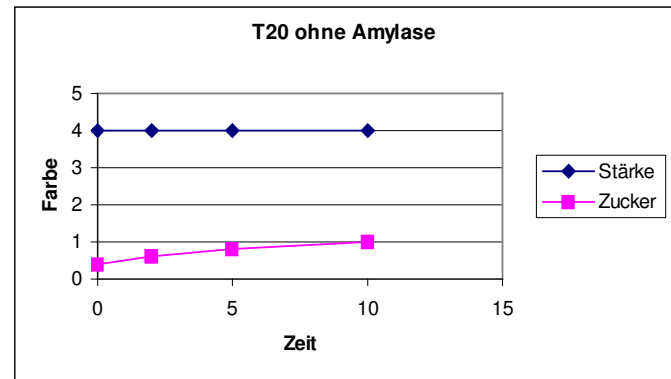
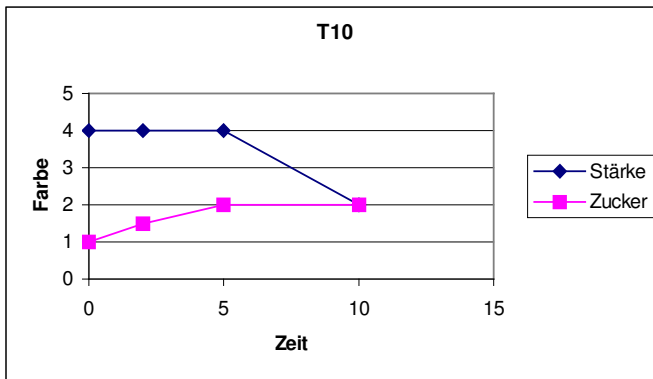
| T20 | Stärke | Zucker |
|-----|--------|--------|
| 0 | 4 | 0.3 |
| 2 | 4 | 2 |
| 5 | 2 | 2.7 |
| 10 | 0 | 3.9 |

| T20 ohne Amylase | Stärke | Zucker |
|------------------|--------|--------|
| 0 | 4 | 0.4 |
| 2 | 4 | 0.6 |
| 5 | 4 | 0.8 |
| 10 | 4 | 1 |

| T30 | Stärke | Zucker |
|-----|--------|--------|
| 0 | 4 | 1.5 |
| 2 | 3 | 2 |
| 5 | 1 | 3 |
| 10 | 0 | 4 |

- ++++ = 4
- +++ = 3
- ++ = 2
- + = 1
- 0 = 0

Kurven:



Diskussion:

Beobachtung: Beim Stärkenachweis beobachtet man eine abnehmende Blaufärbung im Lauf der Reaktion in dem Mass wie Stärke verbraucht wird. Beim Zuckernachweis nimmt die Rotfärbung im Verlauf der Reaktion zu in dem Mass wie Zucker gebildet wird.

Aber wie wir sehen, stimmen die Kurven nicht genau mit dieser Aussage überein. Dieser Unterschied ergibt sich, da man erstens nicht eine ganz reine Stärkelösung hat und zweitens ist es sehr schwierig Farben ohne Hilfsmittel mit Zahlen auszudrücken. Warum wandelt sich dann auch Stärke in Zucker um, wenn gar keine Amylase gewirkt hat (T20 ohne Amylase)? Die Nährlösung ist nicht ganz rein und darum kann sich doch ganz wenig Zucker bilden.

Folgerung: Durch den gleichzeitigen Nachweis der Zuckerbildung mit Hilfe der Fehling-Reaktion und des Stärkeverbrauchs mit Hilfe der Lugol-Lösung wird gezeigt, dass bei einer Enzymreaktion das Produkt gebildet wird, im gleichen Mass wie das Substrat abgebaut wird. Diese Reaktion ist enzymatisch und startet erst wenn die Amylase mit der Stärkelösung (Substrat) zusammengegeben wird.

Enzyme sind Temperaturabhängig, da die höheren Temperaturen eine stärkere Teilchenbewegung bewirken und so Enzym und Substrat mit einer grösseren Wahrscheinlichkeit aufeinander treffen. Darum ist die Amylase bei niedriger Temperatur nicht in der Lage das Substrat schnell umzusetzen. Bei einer zu hohen Temperatur kann sich aber die Tertiärstruktur des Enzyms verändern und das Enzym verliert seine Aktivität.