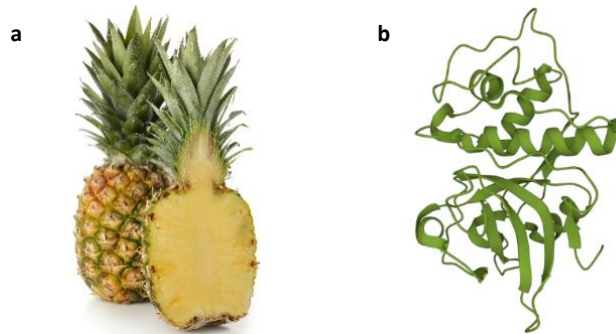




Bromelin fra ananas

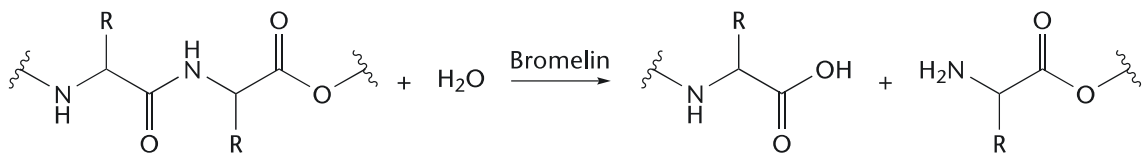
Baseret på side 87-88

Ananas indeholder to enzymer det begge kaldes bromelin – det ene findes i frugtkødet, mens det andet findes i den hårde stilk, se figur 1.

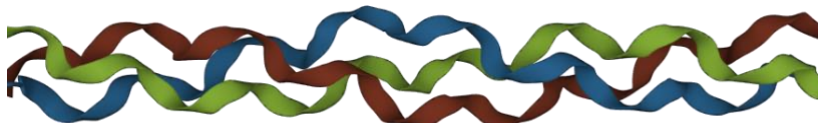


Figur 1. a. Ananas og b. 3D-struktur af bromelin fra stilken. AtlasStudio/Shutterstock.com, PDB ID: 6Y6L

Fælles for begge enzymer er at de fungerer som proteaser eller nærmere bestemt hydrolaser som katalyserer hydrolyse af peptidbindinger:

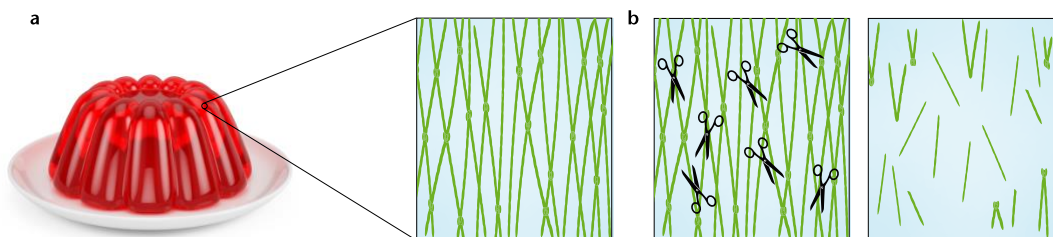


I eksperimentet anvendes proteinet gelatine - også kaldet husblas - som substrat. Gelatine dannes ud fra proteinet collagen (se figur 2) når de tre polypeptidkæder i collagen adskilles fra hinanden og foldes på ny i en globulær struktur.



Figur 2. 3D-struktur af et udsnit af collagen. PDB ID: 1CGD

Gelatine kan anvendes som geleringsmiddel i vingummi, desserter og kager. Geleringsevnen skyldes at det fungerer som et hydrokolloid. Dvs. at det danner hydrogenbindinger til vand når det opvarmes, og at vand herved bliver i strukturen når temperaturen igen falder, se figur 3a.



Figur 3. a. Gelatines geleringsevne skyldes dannelse af hydrokolloider. b. Bromelin hydrolyserer peptidbindinger i gelatine hvorved hydrokolloidet ikke kan dannes. Illustration Lotte Thorup. Foto gele: Sashkin/Shutterstock



Hvis der sammen med gelatine også findes bromelin, kan bromelin hydrolysere peptidbindingerne hvorved gelen ikke stivner, se figur 3b. Bromelins indflydelse på gelatines evne til at stivne kan derfor bruges som mål for enzymaktiviteten under forskellige forhold.

Hypotese

Formuler en begrundet hypotese for hvilken konsistens der forventes i hvert af de 8 glas, når de observeres i næste lektion.

Materialer

- Frisk ananas, frosset ananas og dåseananas
- Gelatine (husblas)
- Natriumhydroxid (1 M) – NaOH(aq)
- Saltsyre (1 M) – HCl(aq)
- 2 stk. bægerglas (250 mL)
- Måleglas (50 mL)
- Varmeplade
- Skarp kniv og skærebræt
- Plastikpipette
- 8 stk. shotglas
- Glasspatel
- pH-indikatorpapir

Risici og sikkerhed

- Natriumhydroxid kan give svære ætsninger og øjenskader

Fremgangsmåde

1. Afmål ca. 150 mL vand i et bægerglas og tilsæt 3 plader gelatine.
2. Anbring blandingen på en varmeplade og opvarm til gelatinen er helt opløst. Omrør jævnligt. Tag opløsningen af varmepladen og lad den afkøle mens punkt 3-5 udføres.
3. Lav et vandbad i et andet bægerglas. Anbring det på varmepladen og opvarm vandet til kogepunktet.
4. Nummerér otte shotglas fra 1-8. Glassene fyldes som vist i tabel 1.
5. Afvej samme mængde ananas til hvert glas og findel det herefter med en skarp kniv. Dog opvarmes ananas til glas 5 og 6 først i vandbadet inden det findeles.
6. Hæld gelatine i hvert glas så ananasstykkerne bliver helt dækket.
7. I glas 7 og 8 omrøres efter tilsætning af hhv. syre og base, og pH måles med indikatorpapir. Notér pH-værdien i tabel 1.
8. Lad glassene stå på køl til næste lektion hvor konsistensen observeres.



Resultater

Glas	Indhold	Observationer
1	Gelatineopløsning (reference)	
2	Frisk ananas og gelatine	
3	Dåseananas og gelatine	
4	Frossen ananas og gelatine	
5	Frisk ananas kogt 10 sek. og gelatine	
6	Frisk ananas kogt 120 sek. og gelatine	
7	Frisk ananas tilsat 0,5 mL HCl(aq) og gelatine	pH =
8	Frisk ananas tilsat 0,5 mL NaOH(aq) og gelatine	pH =

Tabel 1.

Efterbehandling

1. Sammenlign observationerne i glas 1 og 2.
Hvilken betydning har det at der er tilsat frisk ananas til gelatinen?
2. Sammenlign observationerne i glas 1 med glas 3 og 4.
Hvad sker der med enzymernes aktivitet når de opvarmes eller nedkøles?
3. Sammenlign observationerne i glas 1 med glas 5 og 6.
Er der forskel på enzymets aktivitet når det opvarmes i forskellig tid? Hvorfor mon?
4. Sammenlign observationer i glas 1 med glas 7 og 8.
Hvorfor påvirker en ændring af pH-værdien enzymets aktivitet?
5. Stemmer resultaterne overens med dine hypoteser.
Hvorfor/hvorfor ikke? Inddrag en diskussion af mulige fejlkilder.
6. Diskutér hvordan forsøget kan udvides for at bestemme temperatur- og pH-optimum mere præcist.

Konklusion

Lav en konklusion hvor der tages stilling til om eksperimentets formål er opfyldt.