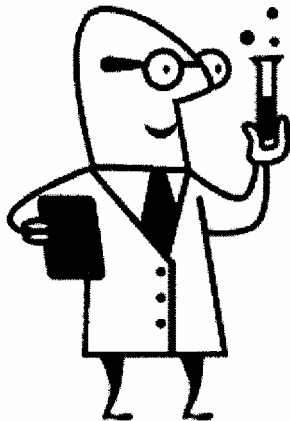


## Invloed van de temperatuur op de werking van pancreaslipase



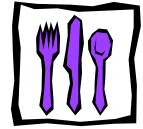
### Wat ga je onderzoeken?

Pancreatine is een enzymextract uit de pancreas. Naast amylase en protease bevat het extract ook pancreaslipase.

In het menselijk lichaam breekt pancreaslipase vet af in de twaalfvingerige darm. Hier is het milieu basisch. Dat komt door de galstoffen die via de galleider eveneens in de twaalfvingerige darm terechtkomen. Gal zorgt er bovendien voor dat het aanwezige vet in emulsie gaat. Zo wordt het makkelijker door het lipase afgebroken.

Dit enzym breekt vet af via een hydrolysereactie waarbij het vet gesplitst wordt in glycerol en vetzuren. Deze vetzuren doen de pH dalen. Door gebruik te maken van een pH-meter kunnen wij de hydrolysereactie uitgevoerd door het enzym volgen.

In dit experiment gebruiken wij volle melk, die met natriumhydroxide licht basisch gemaakt is. Ook in melk is vet in emulsie.



Wij zullen de reactie uitvoeren bij drie verschillende temperaturen (ijstemperatuur, kamertemperatuur en ca. 40 °C). Door in deze drie gevallen de pH-daling te volgen kunnen wij dan nagaan hoe de temperatuur de werking van het enzym beïnvloedt.



## Wat heb je nodig?

- TI-83 Plus en CBL 2
- pH-sensor
- thermometer
- Volle melk, met NaOH basisch gemaakt (ca. pH 9)
- pancreatineoplossing 5%
- pipetten van 5 en 20 ml
- maatbekers van 50 ml
- spuitfles met gedestilleerd water

### Productinformatie:

Pancreatine kan in de apotheek besteld worden als:

Pancreatis Pulvis van de firma Alpha Pharma (ca. 7 euro voor 25 g) of als

Pancreatine van de firma CERTA BP 93 (ca. 25 euro voor 100g).

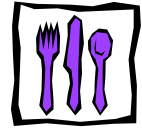
Beide extracten bevatten naast het lipase-enzym dat in deze proef gebruikt wordt ook protease en amylase, die nuttig kunnen zijn voor andere enzymatische proefopstellingen.



## Aan de slag!

### Vorbereiding van het rekentoestel

1. Verbind CBL 2 met de rekenmachine met het connectiekabeltje
2. Plug de pH-meter in de CH 1 poort van de CBL 2
3. Zet de TI-83 Plus aan.
4. Druk op APPS en kies op het volgend menu het cijfer van de toepassing DATAMATE



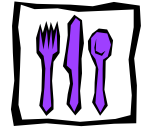
5. Na een opstartscherm begint de toepassing zelf te checken en zal op zijn eerste kanaal een pH-sensor ontdekken. Is dat niet het geval doe dan het volgende: Druk op  om het programma te initialiseren.
6. Kies in het hoofdmenu voor SETUP.
7. Lees je achter CH 1: PH ga dan verder met stap 11.
8. Druk op  om CH 1 te selecteren.
9. Kies PH uit het SELECT SENSOR menu.
10. Druk op 1 voor OK. Je merkt nu dat de PH reeds gemeten wordt.
11. Kies 1 setup.
12. Gebruik  en  om MODE te selecteren en druk. .
13. Kies voor TIME GRAPH uit het SELECT MODE menu.
14. Druk op .
15. Kies 2. Je krijgt nu de TIMEGRAPH SETTINGS. Kies nu 2 CHANGE TIME SETTINGS.
16. Antwoord op ENTER TIME BETWEEN SAMPLES IN SECONDS 6.
17. Antwoord op NUMBER OF SAMPLES 100.
18. Daarmee keer je weer naar het TIMEGRAPH SETTINGS scherm dat de ingevoerde gegevens bevestigt en bovendien de EXPERIMENT LENGHT berekent (600 s).
19. Kies nu twee maal achter elkaar 1 = OK, om terug te gaan naar het beginscherm.

Het toestel is nu klaar voor de meting.

## Meting

Wij verdelen het werk. Elk team onderzoekt slechts één staal van een bepaalde temperatuur. De gecollecteerde data worden achteraf uitgewisseld met de andere teams.

1. Doe in het bekersglas 20 ml van de basisch gemaakte volle melk.
2. Breng de pH-sensor in de volle melk.
3. Meet de temperatuur van de melk met de thermometer.
4. Kies op de TI-83 Plus de optie 2 = START. Er volgt een geluidssignaal. Neem de tijd op.
5. Pipetteer 5 ml pancreatineoplossing en voeg die 15 seconden na het geluidssignaal bij de melk.
6. Roer van tijd tot tijd eventjes voorzichtig, of gebruik een magnetische roerder.
7. Een nieuw geluidssignaal zal het einde van de meting aangeven. Automatisch toont de TI-83 Plus nu de pH-tijdsgrafiek.



8. Druk  om de grafiek van het scherm te verwijderen. Verlaat nu het programma datamate door optie 6 =QUIT. Druk nogmaals . Zo kom je terug naar het hoofdscherm.

## Opslaan van de eigen meting

Druk op STAT gevolgd door . Dan krijg je een overzicht van alle lijsten op het rekentoestel. L1 bevat de tijdsdata en L2 bevat de pH-waarden.

Druk dan 2nd QUIT om terug te keren naar het hoofdscherm

Wij gaan de data uit L2 nu als volgt hernoemen.

- De meting voor melk op frigotemperatuur noemen wij PHF,
- De meting voor melk op kamertemperatuur noemen wij PHK
- De meting voor warme melk noemen wij PHW

Doe dit als volgt:

1. Druk op 2nd LIST. Ga met de cursortoets  naar L2 en .
2. Op het scherm verschijnt nu L2 voor de cursor.
3. Druk nu op de STO-toets.
4. Vorm met behulp van de groene ALPHA-toets de letters PHF (resp. PHK of PHW).
5. Op het scherm staat nu L2 ->PHF.
6. Bevestig met .

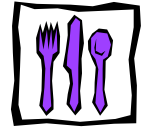
## Uitwisseling van de metingen met de andere teams

Na hernoeming kunnen wij onderling metingen uitwisselen met de teams die gewerkt hebben met melk op een andere temperatuur.

Koppel de twee rekentoestellen aan elkaar via het verbindingskabeltje en volg onderstaande werkwijze.

### Ontvangend toestel

Druk op 2nd LINK. Selecteer met de cursortoets  de optie RECEIVE en druk 1 of . Het toestel reageert met WAITING.



## Zendend toestel

1. Druk op 2nd LINK en je komt in het menu SEND.
2. Kies 4 LIST
3. Ga met de cursortoets  naar de lijst(en) die je wilt verzenden en selecteer ze door  te drukken. Selecteer met de cursortoets  de optie TRANSMIT en druk 1 of .

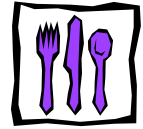
## **Maken van de synthesegrafiek**

1. Druk 2nd STAT PLOT.
2. Kies 1 (Plot1)
3. Selecteer ON
4. Selecteer bij type de eerste voorgestelde type.
5. Ga naar Xlist, Toets 2nd LIST en selecteer L1.
6. Ga naar Ylist. Toets 2nd LIST en selecteer PHF.
7. Kies bij Mark het punt
8. Ga terug naar boven en kies nu Plot2.
9. Herhaal de acties van plot1, maar kies als Ylist PHK en eveneens een punt bij Mark.  
Ga weer naar boven en kies Plot3
10. Kies nu als Ylist PHW en bij Mark het punt.
11. Druk dan 2nd QUIT.
12. Druk op de toets WINDOW. Zet Xmax op 600, Ymin op 5 en Ymax op 10.
13. Je krijgt nu de drie grafieken samen op het scherm door op de toets GRAPH te drukken.



## Conclusies

Je merkt dat de pH-daling het snelst verloopt bij de warme melk en dat er bij de melk op frigotemperatuur praktisch geen daling op treedt. Hieruit kan je opmaken dat het pancreatine-lipase inderdaad het meest actief is bij lichaamstemperatuur.



## Informatie voor de leraar

---

- ✓ Zonder rekenmachine en CBL 2-interface is het experiment ook op één van volgende manieren uit te voeren.
  - Het experiment wordt uitgevoerd met een klassieke pH-meter. Laat de leerlingen bv. om de 20 seconden de pH aflezen en noteren.
  - Laat de leerlingen om de 20 seconden de pH testen met behulp van strookjes universele indicator.

In beide gevallen kunnen de genoteerde waarden ingevoerd worden in een rekenbladtoepassing om gemakkelijk grafieken van de enzymactiviteit te verkrijgen.
  
- ✓ Indien je nog vragen hebt over deze module, kan je hiervoor terecht bij Jos Punie: [jos.punie@tiscali.pe](mailto:jos.punie@tiscali.pe)

*Deze workshopsessie is gebaseerd op "Meten is weten: enzymkinetiek" van M. Van Strydonck, A. Van den Berghe en G. Declerck in het VOB Jaarboek 1999 blz. 85-90 Uitg. De Sikkel*