MAHALAUKUN JA HAIMAN ENTSYYMIEN TUTKIMINEN

**TAUSTAA**

Haima tuottaa monia ihmisen tärkeistä ruunasulatusentsyymeistä, jotka pilkkovat ruuan sisältämiä rasvoja, hiilihydraatteja ja proteiineja. Ravintoaineet hajotetaan niin pieniksi, että niistä pilkkoutuneet molekyylit voivat imeytyä ohutsuolen seinämien läpi verenkiertoon ja imusuonistoon, ja ne kuljetetaan solujen käyttöön koko elimistöön.

**Proteiineja** on varsinkin kananmunassa, lihassa, maitotuotteissa ja palkokasveissa, ja niitä hajottavat proteeasientsyymit, kuten mahalaukun pepsiini. Lihassolut ja muutkin solut tarvitsevat kipeästi proteiineja ravinnosta.

**Hiilihydraatteja** eli sokeriaineita saa varsinkin tärkkelyspitoisesta perunasta, puurosta, leivästä, kasviksista tai riisistä. Ne ovat elimistön solujen energianlähde. Monet hiilihydraattien lähteet, kuten vihannekset ja hedelmät ovat myös hyvä vitamiinien lähde. Hiilihydraatteja pilkkoo amylaasientsyymi, jota tuotetaan sylkirauhasissa ja haimassa.

Haima tuottaa myös **rasvoja** pilkkovaa lipaasia ja proteiineja pilkkovia trypsiini- ja kymotrypsiinientsyymejä. Haima on siis ruuansulatuksen tärkein entsyymien valmistaja, joka mahdollistaa ruuan sulamisen ja hyödyntämisen elimistön tarpeisiin! Työssä käytetään pankreatiiniliuosta, jossa on haiman tuottamia entsyymejä.

Haima hajottaa proteiineja **aminohapoiksi** ja pilkkoo rasvoja **rasvahapoiksi** ja glyseroliksi. Tämän vuoksi entsyymien toimiessa pH laskee eli liuos muuttuu happamammaksi. Kun liuos muuttuu happamammaksi, indikaattorina toimivan liuoksen väri muuttuu. Tässä työssä indikaattorina on bromitymolisini, joka neutraalissa pH:ssa on sinistä, mutta happamassa muuttuu keltaiseksi.

**POHDITTAVAKSI ENNEN TYÖTÄ**

* Miksi ruoansulatuksessa tarvitaan entsyymejä?
* Missä ruoansulatuskanavan osassa ravintoaineet pilkkoutuvat?
* Missä ruoansulatuskanavan osassa ravintoaineet imeytyvät verenkiertoon?

**TARVIKKEET:**

* Pasteurpipettejä
* Mikroputkia (tai koeputkia)
* Koeputkitelineet
* 1 M HCl eli laimea suolahappo
* Bromitymolisini (indikaattori)
* Jodiliuos (esim. Lugolin liuos)
* Pankreatiiniliuos (haimaneste), pH 8 (pankreatiinikapseli 10 ml puskuriliuosta)
* Puskuriliuosta, pH 8 (n. 0,4 M Na-bikarbonaattiliuos)
* Tutkittavia aineita:
  + Öljy
  + Maito
  + Kananmunan valkuainen
  + Tärkkelysliuos

**TYÖOHJE**

**A. Haiman entsyymien toiminta ruuansulatuksessa**

Maito

1. Pipetoi 1 ml maitoa kahteen mikroputkeen ja lisää noin 0,5 ml indikaattoriväriliuosta (bromitymolisini).
2. Pipetoi toiseen putkeen 3 tippaa puskuriliuosta ja toiseen 3 tippaa haimanestettä.
3. Laita putket lämpöhauteeseen 15 minuutiksi ja kirjaa lämpötila ylös. Sekoittele putkia tämän aikana. Voit myös ravistella/käännellä putkea, jos se on suljettu.
4. Ota putket lämpöhauteesta ja vertaa niitä keskenään. Näetkö eroja?
5. Jos eroja ei näy, pipetoi putkiin lisää väri-indikaattoriliuosta. Kirjaa tulokset taulukkoon.

Öljy

1. Pipetoi kahteen muoviseen mikroputkeen muovisella kertakäyttöpipetillä noin 1/3 putkea ruokaöljyä.
2. Pipetoi sitten molempiin suunnilleen sama määrä indikaattoria.
3. Pipetoi vielä toiseen putkeen 2-3 tippaa puskuriliuosta ja toiseen saman verran haimanestettä.
4. Sulje putket huolellisesti ja vie ne lämpöhauteeseen noin 10 minuutiksi. Sekoittele putkia välillä lämpökäsittelyn aikana.
5. Ota putket lämmöstä pois ja vertaile niitä. Kirjaa tulokset ylös taulukkoon.

Kananmunan valkuainen

1. Pipetoi muovipipetillä kahteen muoviseen mikroputkeen kananmunan valkuaista noin puoleen väliin asti.
2. Pipetoi toiseen putkeen 2 tippaa puskuriliuosta ja toiseen 2 tippaa haimanestettä.
3. Sulje putket huolellisesti ja vie ne lämpöhauteeseen noin 10-15 minuutiksi.
4. Ota putket lämmöstä pois ja vertaile niitä. Kirjaa tulokset ylös taulukkoon.

Tärkkelys

1. Pipetoi muovipipetillä kahteen muoviseen mikroputkeen tärkkelysliuosta noin puoleen väliin asti.
2. Pipetoi molempiin 2-3 tippaa jodiliuosta. Jodi värjää tärkkelyksen ruskeaksi tai violetiksi.
3. Lisää pipetoimalla vielä toiseen putkeen 2 tippaa puskuriliuosta ja toiseen 2 tippaa haimanestettä.
4. Sulje putket huolellisesti ja vie ne lämpöhauteeseen noin 10-15 minuutiksi. Sekoittele putkia heiluttelemalla/ravistelemalla lämpökäsittelyn aikana.
5. Ota putket lämmöstä pois ja vertaile niitä. Kirjaa tulokset ylös taulukkoon.

**Odotellessasi lämpökäsittelyn vaikutusta voit tehdä tutkimuksen toisen osan (suolahapon vaikutuksesta kananmunan valkuaiseen).**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Näyte** | **Lämpötila** | **Reaktion kuvaus** |
| maito (ei haimaliuosta) |  |  |
| maito (+haimaliuos) |  |  |
| öljy (ei haimaliuosta) |  |  |
| öljy (+haimaliuos) |  |  |
| muna (ei haimaliuosta) |  |  |
| muna (+haimaliuos) |  |  |
| tärkkelys (ei haimaliuosta) |  |  |
| tärkkelys (+haimaliuos) |  |  |

**B. Suolahapon vaikutus ruoka-aineisiin mahalaukussa**

1. Pipetoi muovisella pasteur-pipetillä kananmunan valkuaista kahteen mikroputkeen tai lasiseen koeputkeen siten, että putkesta vajaa puolet täyttyy.
2. Pipetoi sitten munanvalkuaisen päälle
   1. yhteen putkeen 3 tippaa 1 M vahvuista suolahappoa
   2. toiseen putkeen 3 tippaa vettä
3. Tarkkaile reaktioita. Miten kananmunan väri tai rakenne muuttuu?

|  |  |
| --- | --- |
| **Näyte** | **Reaktion kuvaus** |
| Kananmunan valkuainen + suolahappo |  |
| Kananmunan valkuainen + vesi |  |

**POHDITTAVAKSI TYÖN JÄLKEEN**

* Miten kananmunan valkuainen reagoi, kun siihen lisättiin suolahappoa?
* Mitä tapahtui haimaentsyymien reagoidessa
  + maidon kanssa?
  + öljyn kanssa?
  + tärkkelyksen kanssa?
* Mihin haimaentsyymejä tarvitaan ja mitä ihmiselle tapahtuisi, jos ne lakkaisivat olemasta?
* Miksi entsyymitutkimuksissa on aina oltava kontrolliputki ilman entsyymiä?