Ruuansulatusentsyymien tutkiminen

Työn tavoite Työn tavoitteena on perehtyä haiman ja mahan tuottamien ruuansulatusentsyymien vaikutuksiin. Työn aikana havainnoidaan ruuansulatusentsyymien vaikutuksia sekä entsyymien toimintaan vaikuttavia tekijöitä. Työn tavoitteena on myös kontrollinäytteen merkityksen ymmärtäminen.

Työn kesto 60-90 min.

Taustatietoa

Haima tuottaa monia tärkeitä ruuansulatusentsyymejä, jotka pilkkovat ruuan sisältämiä rasvoja, hiilihydraatteja, proteiineja ja nukleiinihappoja. Ravintoaineet hajotetaan niin pieniksi, että niistä pilkkoutuneet molekyylit voivat imeytyä ohutsuolen seinämien läpi verenkiertoon ja imusuonistoon, ja ne kuljetetaan solujen käyttöön koko elimistöön. Ruuan sisältämiä ravintoaineita käytetään kehon energianlähteinä sekä rakennusaineina.

Proteiinit koostuvat aminohapoista. Proteaasientsyymit, kuten mahan pepsiini ja haiman trypsiini ja kymotrypsiini, hajottavat proteiineja aminohapoiksi pilkkoen aminohappojen välisiä peptidisidoksia. Aminohappoja tarvitaan esimerkiksi solujen ja kudosten uusiutumiseen.

Hiilihydraatit ovat elimistön solujen tärkeä energianlähde. Sylkirauhasten erittämä amylaasi aloittaa hiilihydraattien pilkkomisen. Ohutsuolessa haiman erittämä amylaasi jatkaa hiilihydraattien pilkkomista disakkarideiksi, jotka koostuvat kahdesta sokeriyksiköstä. Disakkaridien hajotus monosakkarideiksi tapahtuu entsymaattisesti ohutsuolen solujen pinnalla. Maltaasi, sakkaraasi ja laktaasi ovat entsyymejä, jotka pilkkovat disakkarideja monosakkarideiksi.

Rasvat eli lipidit ovat toinen elimistöjen tärkeä energianlähde. Rasvoja ovat esimerkiksi varsinaiset rasvat eli triglyseridit sekä solukalvojen rakenneosina toimivat fosfolipidit. Haiman tuottama lipaasi pilkkoo triglyseridejä rasvahapoiksi ja monoglyseridiksi.

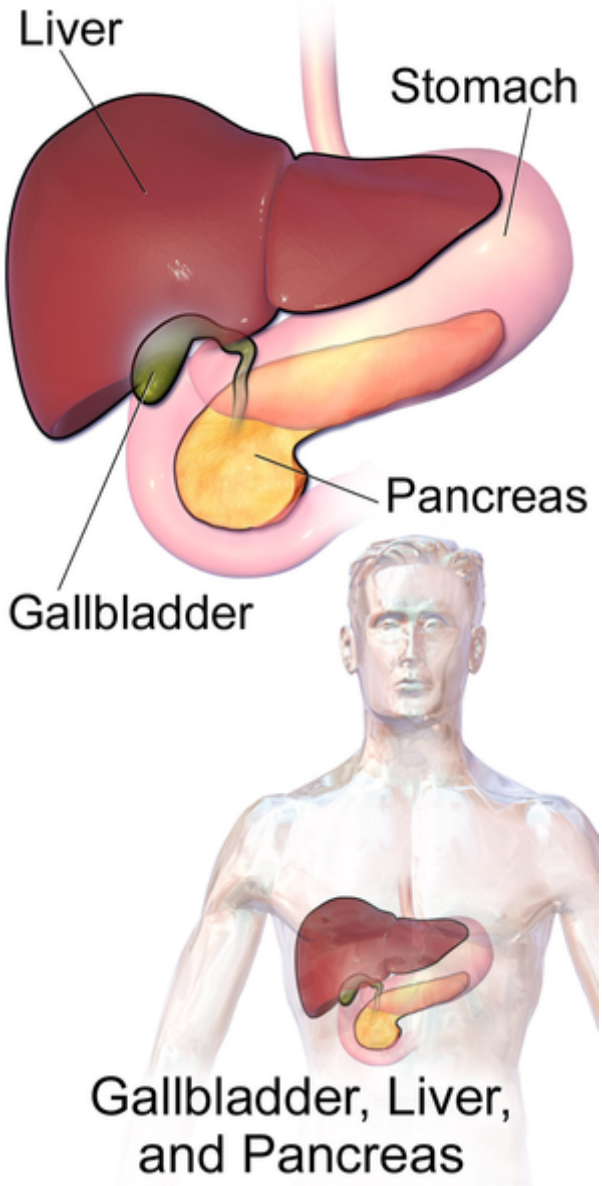
Haiman tuottamien entsyymien avulla pilkotaan siis hiilihydraatteja, proteiineja ja rasvoja. Lisäksi haima tuottaa myös nukleiinihappoja pilkkovaa nukleaasientsyymiä. Haima on ruuansulatuksen tärkein entsyymien valmistaja, joka mahdollistaa ruuan ravintoaineiden pilkkoutumisen ja hyödyntämisen elimistön tarpeisiin. Tässä työssä ravintoaineiden pilkkomiseen käytetään pankreatiiniliuosta, joka sisältää haiman tuottamia entsyymejä.

Haiman entsyymit pilkkovat proteiineja **aminohapoiksi** ja rasvoja **rasvahapoiksi** ja glyseroliksi. Tämän vuoksi entsyymien toimiessa ruokasulan pH laskee eli se muuttuu happamammaksi. Tässä työssä pH:n muutos havaitaan indikaattoriväriliuoksen värin muuttumisena. Indikaattoriväriaineena käytettävä bromitymolisini on neutraalissa pH:ssa sinistä ja muuttuu happamassa keltaiseksi.

Tämä teos on lisensoitu Creative Commons Nimeä-JaaSamoin 4.0 Kansainvälinen –lisenssillä. Anu Wicklund & Salla Merenheimo / BioPop-tiedeluokka 2016-2019.

Pohdittavaksi ennen työtä

1. Miksi ruoansulatuksessa tarvitaan entsyymejä?
2. Mitä entsyymejä haima tuottaa?
3. Missä ruoansulatuskanavan osissa eri ravintoaineet pilkkoutuvat?
4. Missä ruoansulatuskanavan osassa eri ravintoaineet imeytyvät?



Kuva 1. Haima erittää haimanestettä ohutsuoleen haimatiehyeen kautta. Kuvassa haima näkyy keltaisella. Kuva: Wikimedia Commons (Bruce-Blaus, CC-BY SA 4.0)

Työssä tarvittavat välineet

- Pasteur-pipettejä
- Mikroputkia
- Mikroputkitelineitä
- Permanent-tusseja
- 1 M HCl eli laimea suolahappo
- Indikaattoriväriliuos (Bromitymolisini)
- Jodiliuos (esim. Betadine-liuos)
- Pankreatiiniliuos eli haimaneste
- Puskuriliuosta, pH 8,5 (0,4 M Na-bikarbonaattiliuos)
- Vortex-ravistelija
- Lämminvesihaude (lämpömittari veden lämpötilan seurantaan)
- Dekantterilaseja
- Tutkittavia aineita:
    - Öljy
    - Maito
    - Kananmunan valkuainen
    - Tärkkelysliuos
- Suojavarusteet: suojatakit, -hanskat ja -lasit

Työturvallisuus

- Käytä suojahanskoja ja suojatakkia koko työn ajan.
- Suolahappoa käsitellessä on käytettävä suojalaseja.

Tämä teos on lisensoitu Creative Commons Nimeä-JaaSamoin 4.0 Kansainvälinen –lisenssillä. Anu Wicklund & Salla Merenheimo / BioPop-tiedeluokka 2016-2019.

Työohje

A. Haiman entsyymien toiminta ruuansulatuksessa

Maito

1. Pipetoi kahteen mikroputkeen 0,2 ml maitoa. Hyödynnä mikroputken asteikkoa pipetoidessasi.
2. Lisää molempiin mikroputkiin noin 4 tippaa indikaattoriväriliuosta.
3. Pipetoi toiseen putkeen 3 tippaa puskuriliuosta ja toiseen 3 tippaa pankreatiiniliuosta.
4. Laita putket lämpöhauteeseen 15 minuutiksi ja kirjaa lämpötila ylös. Sekoittele putkia tämän aikana pari kertaa.
5. Ota putket lämpöhauteesta ja vertaa niitä keskenään. Kirjaa tulokset taulukkoon.

Öljy

1. Pipetoi kahteen mikroputkeen 0,5 ml ruokaöljyä.
2. Pipetoi molempiin mikroputkiin 0,5 ml indikaattoriväriliuosta.
3. Pipetoi vielä toiseen putkeen 3 tippaa puskuriliuosta ja toiseen saman verran haimanestettä.
4. Sekoita ja vorteksoi näytteet huolellisesti.
5. Vie putket lämpöhauteeseen noin 15-20 minuutiksi. Sekoittele ja vorteksoi putkia lämpökäsittelyn aikana vähintään viiden minuutin välein.
6. Ota putket lämpöhauteesta ja vertaile niitä keskenään. Kirjaa tulokset taulukkoon.

Kananmunan valkuainen

1. Pipetoi kahteen mikroputkeen 0,5 ml kananmunan valkuaista.
2. Pipetoi molempiin mikroputkiin noin 0,25 ml indikaattoriväriliuosta.
3. Pipetoi toiseen putkeen 2 tippaa puskuriliuosta ja toiseen 2 tippaa haimanestettä.
4. Sekoita ja vorteksoi näytteet huolellisesti.
5. Vie putket lämpöhauteeseen noin 15-20 minuutiksi. Sekoittele ja vorteksoi putkia lämpökäsittelyn aikana vähintään viiden minuutin välein.
6. Ota putket lämpöhauteesta ja vertaile niitä keskenään. Kirjaa tulokset taulukkoon.

Tärkkelys

1. Pipetoi kahteen mikroputkeen 0,5 ml tärkkelysliuosta.
2. Pipetoi molempiin 1 tippa jodiliuosta. Jodi värjää tärkkelyksen ruskeaksi tai violetiksi.
3. Pipetoi 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 lämpökäsittelyn aikana.
5. Ota putket lämpöhauteesta ja vertaile niitä. Kirjaa tulokset taulukkoon.

B. Suolahapon toiminta mahalaukussa

1. Pipetoi pasteur-pipetillä 0,5 ml kananmunan valkuaista kahteen mikroputkeen.
2. Pipetoi toiseen putkeen 3 tippaa 1 M suolahappoa ja toiseen putkeen 3 tippaa vettä.
3. Sekoita näytteet. Tarkkaile reaktioita. Kirjaa tulokset taulukkoon.

Tämä teos on lisensoitu Creative Commons Nimeä-JaaSamoin 4.0 Kansainvälinen –lisenssillä. Anu Wicklund & Salla Merenheimo / BioPop-tiedeluokka 2016-2019.

Näyte	**Lämpö-tila**	**Reaktion kuvaus**
maito (ei haimaliuosta)		
maito (+haimaliuos)		
öljy (ei haimaliuosta)		
öljy (+haimaliuos)		
kananmuna (ei haimaliuosta)		
kananmuna (+haimaliuos)		
tärkkelys (ei haimaliuosta)		
tärkkelys (+haimaliuos)		
kananmuna (ei suolahappoa)		
kananmuna (+suolahappo)		

Pohdittavaksi työn jälkeen

1. Miksi näytteitä pidettiin lämpöhauteessa? Kuinka lämmin arvelet hauteen olleen?
2. Mitä tapahtui pankreatiiniliuoksen reagoidessa maidon kanssa?
3. Mitä tapahtui pankreatiiniliuoksen reagoidessa öljyn kanssa?
4. Mitä tapahtui pankreatiiniliuoksen reagoidessa tärkkelyksen kanssa?
5. Miten kananmunan valkuainen reagoi, kun siihen lisättiin suolahappoa?
6. Mihin haiman entsyymejä tarvitaan ja mitä ihmiselle tapahtuisi, jos niitä ei olisi?
7. Miksi entsyymitutkimuksissa on aina oltava kontrolliputki ilman entsyymiä?

Tämä teos on lisensoitu Creative Commons Nimeä-JaaSamoin 4.0 Kansainvälinen –lisenssillä. Anu Wicklund & Salla Merenheimo / BioPop-tiedeluokka 2016-2019.