

## Kvantitativ bestemmelse af stivelses hydrolyse med syre

Stivelse (amylose) er et polysakkarid,  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , som ved opvarmning med syre spaltes under optagelse af vand (hydrolyseres) til  $n$  stykker glukosemolekyler,  $C_6H_{12}O_6$ . Tidsforløbet af denne reaktion skal følges.

**Spektrofotometrisk metode til bestemmelse af glukose.** Se øvelse 1 side 3 og 4.

**Salicylatreagens.** Se øvelse 1.

**Stivelseopløsning.** 0,10 g opløselig stivelse opløses i 100 ml kogende vand (findes færdiglavet i laboratoriet).

**Vandbad,** bestående af vand i en gryde, opvarmes til kogepunktet.

**Fremgangsmåde:** Til 8 små reagensglas, som er nummererede, tilsættes opløsninger efter følgende tabel. De materialer, der benyttes i øvelsen fremgår af tabellen. Alle væsker findes færdigblandet. Husk at læse teksten efter tabellen!

Stivelsesopløsning, ml	1	2	3	4	5	6	7	8	Egnet pipette 1 ml målepipette
HCl, 2M, ml	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	5 ml målepipette
Minutter i kogende vandbad	0	2	4	6	9	12	15	20	
Reagensglas nedsat kl.:	-	....	....	....	....	....	....	....	
Reagensglas tages op kl.:	-	....	....	....	....	....	....	....	
NaOH, 0,8M, ml	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	5 ml målepipette
Salicylatreagens, ml	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	5 ml målepipette
Samlede rumfang, ml	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	
Absorbans	0,0	....	....	....	....	....	....	....	

Hydrolysen af stivelsen begynder når reagensglassene opvarmes. Reagensglassene skal ikke anbringes samtidigt i vandbadet, men med nogle minutters mellemrum, så at badet hele tiden koger. **Begynd med reagensglas nr. 8 for at spare tid.** Notér tidspunktet når hvert glas anbringes i vandbadet; notér samtidigt tidspunktet for hvornår det skal op. Hydrolysen afbrydes når saltsyren neutraliseres ved tilsætning af NaOH. Tag derfor reagensglasset op nogle sekunder før det beregnede tidspunkt, så at NaOH kan tilsættes på det rigtige tidspunkt. Planlæg forsøget således, at to glas ikke samtidigt skal tages op. Når det sidste reagensglas er taget op af vandbadet, erstattes det bortkogte vand, og opvarmningen fortsættes.

Efter salicylatreagensen er tilsat skal der omrystes grundigt, der må ikke sidde salicylat op ad glasset. Alle reagensglassene anbringes herefter i et stativ der sættes op i vandbadet. Der opvarmes ved kogepunktet i 5 minutter, hvorved salicylatreagensen reduceres.

Reagensglassene afkøles i et bægerglas med koldt vand til stuetemperatur, tørres af med køkkenrullepapir, og anbringes i den nummererede orden i reagensglasstativet.

Mål derefter absorbansen i spektrofotometeret. Husk opvarmning og nulstilling. Benyt samme monokromatiske lys som i øvelse 1. Hæld den reducerede salicylatreagens over i 8 **tørre** cuvetter. Cuvette nr. 1 er “den blanke”, og fotometeret indstilles på 100% transmittans.

I rapporten skal der indgå en graf over sammenhængen mellem tiden for hydrolysen og absorbansen. Hvordan ændres reaktionshastigheden med tiden? Hvorfor?

I hvert glas var der fra begyndelsen 400 µg stivelse (er du enig?). Efter hvor lang tid kan stivelsen anses for fuldstændigt at være spaltet?

Beregn middelværdien for absorbansen i de reagensglas hvor stivelsen spalttes fuldstændigt. Bestem ved hjælp af kalibreringskurven fra øvelse 1 den tilsvarende glukosemængde per reagensglas og sammenlign de aflæste værdier med de teoretisk beregnede værdier.

*Niels Roholt*  
Århus Akademi