

## Spaltning af albumin med pepsin

Pepsin er trivialnavnet for mavesaftens protease, dvs. mavesækkens proteinspaltende enzym. Det spalter (hydrolyserer) proteinmolekylerne til polypeptider. hvorved opløseligheden i vand øges. Opgaven i denne øvelse er at bestemme hydrolysens hastighed ved forskellige pH-værdier og ved tilstedeværelsen af et par metalsalte.

### Materialer

*Pepsinopløsning:* En 0,1% pepsinopløsning tilberedes (findes færdiglavet i laboratoriet). Hvert hold ksla bruge 50 ml.

*Albumin:* 5 ml æggehvite fra et hønseæg blandes med 10 ml vand og blandingen opvarmes i et bægerglas under omrøring. Der fortsættes til blandingen bliver stærkt grumset på grund af (albuminets) koagulering. Bægerglasset fjernes da straks fra varmepladen. Opløsningen skal være så frisk som muligt og laves først, når den er klar til at blive anvendt.

### Fremgangsmåde

Til ni nummererede reagensglas tilsættes følgende:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
HCl, 1 M, ml	2,0	1,2	0,5	0,1	-	-	0,5	0,5	0,5	Egnet pipette 1 ml målepipette
Eddikesyre, 0,2 M, ml	-	-	-	-	5,0	-	-	-	-	5 ml fuld pipette
Vand, destilleret, ml	3,0	3,8	4,5	4,9	-	5,0	4,1	4,1	9,5	5 ml målepipette
Pepsinopløsning, ml	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	-	5 ml fuld pipette
HgCl <sub>2</sub> , 0,1 M, ml	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	= 8 dråber
Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , 0,1 M, ml	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	= 8 dråber
Albumin, ml	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	5 ml målepipette
Samlede rumfang	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	
Absorbans	....	....	....	....	....	....	....	....	....	
pH	....	....	....	....	....	....	....	....	....	

Tilsæt albuminsuspensionen så samtidigt som muligt i alle reagensglassene. Notér tidspunktet for tilsætningen. Ryst reagensglassene efter tilsætningen til alle 9 glas. Forsøget gennemføres ved stuetemperatur, som aflæses på et termometer. Iagttag glassene hele tiden og find det glas som først bliver klart (det grumsede denaturerede albumin hydrolyseres). Notér tidspunktet.

Hvor lang tid tog det?.....

Så hurtigt som muligt anbringes det reagensglas, som først klarer op i spektrofotometeret, som i forvejen er varmet op, og indstillet på blå lys (350 nm). Dette reagensglas bruges som den blanke, hvormed galvanometeret nulstilles. Mål i hurtig rækkefølge de øvrige glas absorbans. Begynd med de mest klare glas, slut med de mest grumsede.

Til sidst bestemmes pH i samtlige reagensglas.

I rapporten ønskes en graf, der viser sammenhængen mellem pH og absorbansen.

Desuden skal der tages stilling til følgende spørgsmål:

1. Hvad er den optimale pH-værdi for pepsinets aktivitet?
2. Hvilken konklusion kan der drages ud fra resultatet i reagensglas nr. 7?
3. Hvilken konklusion kan der drages ud fra resultatet i reagensglas nr. 8?
4. Hvilken konklusion kan der drages ud fra resultatet i reagensglas nr. 9?
5. I reagensglas nr 6 og nr 9 er der ikke foregået nogen hydrolyse. Forskellen i grumsethed hænger sammen med, at proteiner er tungtopløselige ved det isoelektriske punkt. I hvilket af glassene findes der en pH-værdi, som ligger nærmest albuminets isoelektriske punkt?

*Niels Roholt*  
Århus Akademi