

Vruchtenpudding

-Het aantonen van het enzym bromeline in vruchtensap-

Inleiding

Enzymen zijn eiwitten die reacties in organismen katalyseren. Er zijn bijvoorbeeld enzymen voor de afbraak van voedingsstoffen en de aanmaak van celbouwstoffen. Enzymen zijn ook erg belangrijk in de industrie. Wasmiddelen bevatten bijvoorbeeld enzymen voor de afbraak van o.a. vetten en eiwitten. Hierdoor lossen deze stoffen beter op en worden ze gemakkelijker 'weggewassen'.

Het enzym bromeline komt voor in diverse vruchten, en wordt in veel andere producten gebruikt. Het zit bijvoorbeeld in sommige vitaminepillen en in stimulerende middelen die op viagra lijken.

In dit experiment tonen we de aanwezigheid van bromeline in vruchten aan. Hierbij gaan we uit van het feit dat bromeline eiwitten afbreekt. Als eiwit gebruiken gelatine. Gelatine wordt onder andere gebruikt om pudding stijf te maken. In dit experiment bekijken we in tweetallen welke vruchten wel en niet geschikt zijn om pudding te maken. Hiervoor mengen we gelatine met verschillende vruchtensappen. Bij sommige vruchtensappen zal een gel ontstaan, bij anderen niet. Hieruit kunnen we afleiden of er bromeline in het vruchtensap aanwezig is.

Doel

Onderzoeken welke vruchten het enzym bromeline bevatten en daardoor ongeschikt zijn voor het maken van pudding.

Theorie

Eiwitten zijn opgebouwd uit aminozuren. De volgorde, het aantal en de onderlinge verhouding van aminozuren verschilt per eiwitsoort. Ieder eiwitmolecuul heeft een specifiek aminozuurpatroon. Enzymen vormen een speciale groep binnen de eiwitten. Enzymen kunnen namelijk andere eiwitten afbreken waardoor deze hun oorspronkelijke functie niet meer kunnen vervullen.

Gelatine is een eiwit, dus opgebouwd uit aminozuren. Bij kamertemperatuur bevinden de gelatinemoleculen zich in een zogenaamde helix structuur, een soort wenteltrapvorm. Deze structuur bestaat uit drie aminozuurketens en wordt in stand gehouden door zwakke bindingen (waterstofbruggen) tussen de aminozuren aan de binnenkant van de helix. Heet water verbreekt de waterstofbruggen. Hierbij valt de helixstructuur uit elkaar, en bewegen de verschillende aminozuurketens los van elkaar door de oplossing.

Wanneer het mengsel afkoelt, herstellen de waterstofbruggen zich en binden de aminozuurketens weer aan elkaar. Omdat de ketens behoorlijk door de oplossing



Vruchtenpudding

-Het aantonen van een enzym in vruchten-

gemengd zijn, kan de drievoudige helix structuur echter niet meer perfect gevormd worden. Er ontstaat een groot eiwit netwerk met allemaal gaten waarin water wordt vastgehouden. De gel die op deze manier wordt gevormd, vormt de basis voor bijvoorbeeld puddingen.

Het enzym bromeline breekt de gelatinemoleculen af tot kleine eiwitstukjes. Hierdoor ontstaat er geen waterhoudend eiwit netwerk, en wordt er geen gel gevormd.

Uitvoering

Materialen

- 50 mL 2% gelatine oplossing verdeeld over 5 buizen (in het waterbad)
- Waterbad 37 °C
- 0,5 mL vruchtenpulp / sap per vruchtenmonster (of verse vruchten of vruchten uit blik)
- Bak met ijswater
- Watervaste stift

Veiligheid

Dit experiment dient altijd uitgevoerd te worden onder begeleiding van een docent of toa. Wageningen University aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor schade die voortvloeit uit het verrichten van dit experiment buiten de campus van Wageningen University.

Beschrijving

- Lees deze handleiding helemaal door.
- Optioneel: Schil de desbetreffende vruchten, pers ze uit of pureer ze. Zeef eventuele grote stukken eruit. De monsters moeten zo dun zijn dat ze kunnen worden gepipetteerd. Voeg hiervoor eventueel water toe. Verdeel de hoeveelheid vruchtensap over zoveel reageerbuizen als er tweetallen zijn. Geef elke vrucht een letter (vul dit in bij resultaten) en schrijf de bijbehorende letters op de reageerbuizen.
- Elk tweetal neemt per vrucht een reageerbuis. Leg een pipet klaar om het vruchtenmonster in de reageerbuis met gelatine over te brengen. Nadat de gelatinebuizen uit het waterbad zijn gehaald moet je vlot werken om te voorkomen dat de gelatine stolt zonder dat deze met het vruchtensap is gemengd.
- In het waterbad staan buizen met een vloeibare gelatine-oplossing. Schrijf met watervaste stift je groepsnummer op de buizen en vermeld welk vruchtensap je gaat toevoegen.
- Voeg met de pipet 0,5 mL van het desbetreffende vruchtensap aan iedere buis toe.
- Maak de pipet goed schoon om te voorkomen dat er bromeline van het ene vruchtensap in een andere reageerbuis komt.
- Gebruik voor één reageerbuis water in plaats van vruchtensap.
- Meng alle reageerbuizen goed.



Vruchtenpudding

-Het aantonen van een enzym in vruchten-

- Zet de buizen snel weer in het waterbad bij 37 °C. Laat ze daar tenminste 15 minuten staan onder zo nu en dan omzwenken.
- Laat de reageerbuizen een kwartier in het warme water staan, en breng ze daarna over naar de bak met ijswater. Let er op dat er geen ijswater in de buizen loopt: dit zou het experiment kunnen verstoren. Bekijk je resultaten wanneer de buizen helemaal zijn afgekoeld.

Resultaten

Bekijk de buizen en vul onderstaande tabel in. Welke vruchten zijn geschikt voor het bereiden van pudding?

Letter	Vrucht	Gelvorming?	Geschikt voor pudding?

Tabel 1: Resultaten gelvorming in gelatine bij verschillende vruchtensappen

Vragen

1. Welke vruchten zijn geschikt voor het maken van pudding en waarom?
2. Wat is het verschil tussen ananas uit blik en de verse ananas? Hoe kan dat?
3. Hoe zou je een vrucht die in deze proef ongeschikt blijkt voor het maken van pudding hier toch voor kunnen gebruiken?
4. Waarvoor dient de reageerbuis met gelatine en water?



Vruchtenpudding

-Het aantonen van een enzym in vruchten-

Suggesties voor verder onderzoek

Wageningen University biedt nog meer profielwerkstuksuggesties en experimenten over enzymen aan. Kijk hiervoor op www.mijnwageningenuniversity.nl/pws.

Oriëntatie op vervolgonderwijs

Het onderwerp van dit experiment kom je ook tegen in de volgende opleidingen van Wageningen University:

- Biologie
- Levensmiddelentechnologie
- Biotechnologie
- Moleculaire Levenswetenschappen
- Voeding en gezondheid

Kijk voor meer informatie op www.wageningenuniversity.nl/bsc.



Voor de docent of toa

Uitvoering

Zie leerling handleiding.

Veiligheid

Dit experiment dient altijd uitgevoerd te worden onder begeleiding van een docent of toa. Wageningen University aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor schade die voortvloeit uit het verrichten van dit experiment buiten de campus van Wageningen University.

Materialen

- 50 mL 2% gelatine oplossing verdeeld over 5 reageerbuizen (in een waterbad)
- Waterbad van 37°C
- 0,5 mL vruchtenpulp / sap per vruchtenmonster (of verse vruchten of vruchten uit blik)
- Bak met ijswater
- Watervaste stift

Vruchtensap

Het klaarmaken en opruimen van de vruchtensappen kost veel tijd. Wanneer leerlingen de vruchtensappen zelf bereiden duurt het experiment dus veel langer. Het is het handigst wanneer een paar leerlingen vruchtenmonsters voor de hele groep maken. In principe kunnen alle vruchten voor het experiment gebruikt worden. Het lukt bijvoorbeeld goed met verse ananas, ananas uit blik, verse kiwi's en verse sinaasappels. Sap krijg je door de vruchten te schillen, te pureren of uit te persen. Het is ook handig om het sap door een koffiefilter te laten lopen om het pipetteerbaar te krijgen. Let op: bij sommige vruchten (bijvoorbeeld kiwi's) duurt dit lang!

Gelatine

Voor aanvang van het experiment moeten er buizen met gelatine oplossing worden gemaakt. Gelatinebladeren zijn verkrijgbaar in iedere supermarkt; de bereidingswijze staat op de verpakking. Maak een oplossing die voor ongeveer 2% uit gelatine bestaat. Zorg dat deze gelatineoplossing bij aanvang van de proef ongeveer 37° C is. Gebruik hiervoor een waterbad met deze temperatuur.

Temperatuurbakken

Ijssnippers maak je door ijsblokjes in een plastic zak fijn te maken.

Meerdere koppels kunnen dezelfde waterbak van 37° C en bak met ijs gebruiken.



Vruchtenpudding

-Het aantonen van een enzym in vruchten-

Invulling wachttijd

Tijdens het experiment moeten de reageerbuizen 15 minuten in een warmwaterbad staan. In de tussentijd kan een extra proefje uitgevoerd worden. Het aantonen van amylase in speeksel leent zich hier goed voor omdat het ook over enzymen gaat. Hiermee kan het begrip enzym verder uitgediept worden.

Het amylase-proefje werkt als volgt:

- Ieder tweetal krijgt 2 reageerbuizen
- Laat in de ene buis ongeveer 1,5 cm speeksel lopen; in de andere buis 1,5 cm water.
- Voeg enkele koekkrumels toe (goed fijnknippen, zodat de amylase er goed op in kan werken) en schud dit heel goed ('kauwen')!
- Zet de buizen in het warmwaterbad van 37° C graden.
- Blijf regelmatig goed schudden en voeg na 5 minuten een druppel jodium toe.
- Het waterbuisje moet zwart kleuren; het speekselbuisje moet een veel lichtere kleur krijgen.

Schoonmaken

Maak na afloop van het experiment het materiaal goed schoon. Stiftresten op de reageerbuizen verwijder je met ethanol, gelatine uit de reageerbuizen door de buizen weer heel even op te warmen. Leg de pipetten ook even in het warmwaterbad om gelatine op te lossen, was ze vervolgens met een sopje, spoel ze goed na met achtereenvolgens gewoon en demi-water en laat ze goed drogen.

Vaardigheden

Pipetteren, schoon en zorgvuldig werken, plannen.

Resultaten

Bij de vruchtensappen die bromeline bevatten, zal geen gelvorming optreden. De vruchtensappen zonder bromeline zullen wel geleren. Kiwi's en ananas bevatten bromeline; sinaasappels niet. Ananas uit blik is gesteriliseerd, waardoor het bromeline is geïnactiveerd en er toch een gel ontstaat. De buis met water in plaats van vruchtensap geldt als blanco, ter controle. Hierin moet zich ook een gel vormen, omdat gelvorming niet wordt tegengegaan.

Uitwerking van de vragen

1. Doordat bromeline eiwitten afbreekt, zijn vruchten met bromeline ongeschikt voor het maken van (gelatine)pudding. Voorbeelden hiervan zijn kiwi's en ananas. Vruchten zonder bromeline (sinaasappels) zijn wel geschikt voor het maken van (gelatine)pudding.



Vruchtenpudding

-Het aantonen van een enzym in vruchten-

2. Ananas uit blik is gesteriliseerd, waardoor het bromeline is geïnactiveerd en er toch een gel ontstaat.
3. De vrucht of het sap steriliseren zoals bij ananas uit blik.
4. Ter controle om te laten zien dat de gelatine zonder toevoegingen een gel wordt.

