

Versuch 8: pH-Optimum der β -Fructosidase und Spaltung der Saccharose

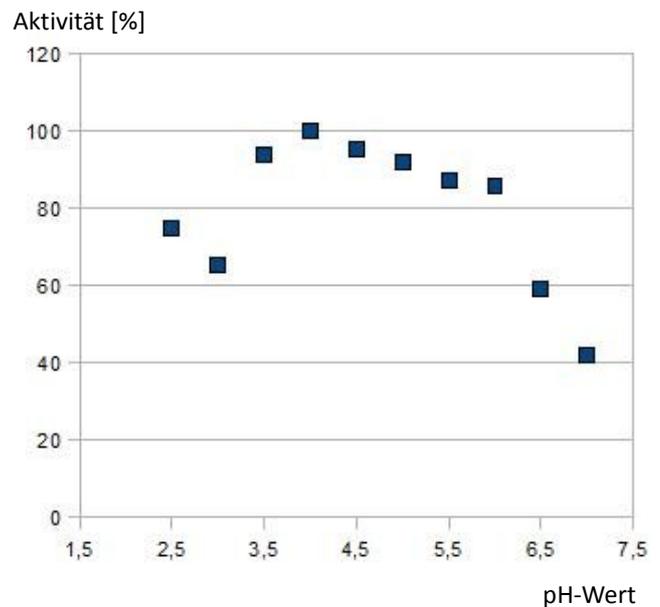
Einführung:

Es soll die β -Fructosidase untersucht werden. Zuerst wird das pH-Optimum ermittelt, danach wird eine gekoppelte Reaktion durchgeführt, wo die Produkte des Enzyms quantitativ gemessen wird. Nachdem die β -Fructosidase die Saccharose gespalten hat wird der Glukosegehalt, mithilfe der Glc-6-P-DH, bestimmt (NADPH-Gehalt). Im Anschluss wird die Fruktose zur Glukose umgesetzt, so dass man auch den Fruktose-Gehalt bestimmen kann.

Durchführung:

pH-Optimum:

pH-Wert	ΔE	U/ml	U[%]
Standard	0,333	0,130	
2,5	0,048	0,112	75
3	0,042	0,101	65,6
3,5	0,060	0,172	93,8
4	0,064	0,184	100
4,5	0,061	0,164	95,3
5	0,059	0,158	92,2
5,5	0,056	0,150	87,5
6	0,055	0,142	85,9
6,5	0,038	0,102	59,4
7	0,027	0,072	42,2



Saccharose-Spaltung:

$$\Delta E1 = 0,150$$

$$\Delta E2 = 0,046$$

Ergebnisse:

pH-Optimum:

Der Optimale pH-Wert liegt bei uns zwischen 4 und 4,5. laut Literatur solle er nahe von 4,5 liegen. Mögliche Fehlerquellen sind die *unglaublich* ungenauen Praktikumpipetten.

Saccharose-Spaltung:

Es wird mit der folgenden Formel gerechnet: $c = \Delta E / \epsilon * d$

$$c_{GLC} = 4,41 * 10^{-5} \text{ mol/L} \rightarrow (\text{Verd.: } *97,5 + \text{ von mol zu } \mu\text{mol: } *10^6) \rightarrow 4299 \mu\text{mol/L}$$

$$c_{FRU} = 4,19 * 10^{-5} \text{ mol/L} \rightarrow (\text{Verd.: } *97,5 + \text{ von mol zu } \mu\text{mol: } *10^6) \rightarrow 4186 \mu\text{mol/L}$$

Verhältnis Glukose/Fruktose $\rightarrow 1 : 0,97$

Diskussion:

Nach der Spaltung von Saccharose haben wir zuerst den Glukosegehalt, und danach den Fruktosegehalt ermittelt. Das Verhältnis der Beiden war $1 : 0,97$ (der Erwartungswert war natürlich $1 : 1$). Wir haben eine Menge von ca. 4 mmol / L bestimmen können, welches mit der Menge übereinstimmt, die wir am Anfang abgemessen haben.