

## DENEY 2.1.: Karbohidrat Sindirimi

**Teorik Bilgi:** İnsanların besinlerle aldığı karbohidratlar genel olarak şeker kamışı şekeri olan sakkaroz, sütte bulunan ve bir disakkarit olan laktoz ile bitkisel kaynaklı ve özellikle tahılda bulunan bir depo polisakkarit olan nişastadır. Bunların haricinde daha az tüketilen farklı karbohidratlar da mevcuttur. İnsanların sellülaz enziminin yokluğundan dolayı sindiremediği bir karbohidrat tipi olan sellüloz ise bir besin kaynağı grubu olarak kabul edilemez. Bu karbohidrat tipinden ancak basit yapılı bazı hayvanlar faydalanabilmektedir. Çünkü bunların sindirim sisteminde sellülozu sindiren sellülaz aktivitesi dolaylı olarak mevcuttur.

Nişastalı besinler ağıza alınıp çiğnenmeye başladığında tükürük bezlerinden pityalin enzimi ( $\alpha$ -amilaz) salgılanır. Bu enzim nişastayı bir disakkarit olan maltoz ve küçük glukoz polimerleri olan maltotrioz ve  $\alpha$ -limit dekstrinler gibi bileşiklere hidroliz eder. Fakat besin ağızda kısa bir süre kaldığından, yutuluncaya kadar besinle alınan nişastanın ancak % 3-5 kadarı hidroliz olur. Pityalin enziminin ağızdaki sindirime etkisi, bir ekmek parçasını birkaç dakika çiğnedikten sonra lokmanın tatlılaşmasıyla gösterebilir. Bunun nedeni pityalin etkisiyle nişastadan maltoz oluşumudur. Nişasta doğal olarak ince koruyucu bir sellüloz kılıfla sarı küçük globüller halinde olduğundan, besinler pişirilip koruyucu kılıf tahrip edilmedikçe, nişastanın çoğu ağızda tamamen sindirilemez.

Besinlerin ağızda kalma süresi pityalin enziminin nişastayı maltoza parçalamasına yetmediği için, pityalin etkisini, besinler mideye girdikten sonra da mide salgısıyla karşılaşınca kadar yaklaşık bir saat kadar devam eder. Daha sonra nötre yakın ortamda maksimum aktivite gösteren pityalin enziminin faaliyeti, mide salgısının asit özelliği ile durdurulur. Pityalinin en aktif olduğu pH değeri 6.5 olup, pH 4.0 ün altında bu aktivitesi durur. Bununla beraber besinler mide salgısıyla karşılaşınca kadar nişastanın % 30-40 kadarı maltoza çevrilir. Bunu takiben nişastanın ince bağırsakta pankreas amilazı ile sindirimi devam eder. Pankreas salgısı da tükürük salgısında olduğu gibi  $\alpha$ -amilaz ihtiva eder. Pankreas amilazı da nişastayı maltoz ve öteki küçük glukoz polimerlerine parçalar. Böylece besinler mideden duodonuma (12 parmak bağırsağı) boşaldıktan sonra pankreasın sindirim salgıları ile karşılaşır ve henüz tamamen sindirilmemiş olan nişasta pankreas amilazı ile sindirilmeye devam eder. Genelde nişasta jejunuma (ince bağırsağın orta kısmı) geçmeden önce hemen hemen tamamen maltoz ve küçük glukoz polimerlerine dönüşür. Bu safhadan sonra bağırsak epitelyal hücre enzimleriyle disakkarit ve küçük glukoz polimerlerinin monosakkaritlere hidrolizi gerçekleşir. İnce bağırsağı kaplayan epitelyal hücrelerde laktaz, sakkaraz, maltaz ve  $\alpha$ -dekstrinaz enzimleri mevcuttur. Bu enzimler disakkaritleri, laktoz, sakkaroz, maltoz ve öteki küçük glukoz polimerlerini monosakkaritlere parçalar. Bu enzimler bağırsak boşluğunu kaplayan hücrelerin fırçası kenarlarında bulunurlar ve kenara temas eden disakkaritleri sindirirler. Sindirim ürünü olarak oluşan monosakkaritler hemen vena portae (karaciğer ana toplar damarı) dan absorbe olup, laktoz, galaktoz ve glukoz moleküllerine parçalanırlar. Sakkaroz, glukoz ve fruktoza ayrışırlar. Maltoz ve öteki küçük glukoz polimerleri de, glukoz moleküllerine parçalanırlar. Böylece karbohidrat sindiriminin son ürünlerinin tamamı monosakkaritlere dönüşmüş olur. Normal besinlerle alınan nişasta, sakkaroz ve laktozdan çok daha fazla alındığından, karbohidrat sindiriminin son ürünlerinin % 80 i glukozdur. Galaktoz ve fruktoz nadir olarak % 10 un üzerine çıkar.

**Amaç:** Tükürük salgısında bulunan pityalin ( $\alpha$ -amilaz) enziminin, nişastayı sindirmesini ve şeker oluşumunu kalorimetrik ve kalitatif olarak göstermek.

**Materyal:** Benedikt çözeltisi, iyot çözeltisi, nişasta çözeltisi (0.010), glukoz çözeltisi serileri, pityalin ( $\alpha$ -amilaz) çözeltisi, damıtık su, mezür(10 ml), lam, deney tüpü, damlalık, pipet, porttüp.

**Metot:**

**Nişasta çözeltisinin hazırlanması:**

2 gr nişastayı, 2-3 ml su ile karıştırarak bir bulamaç hazırlayınız. Bunu 1 litreye tamamlayıp, 5 dakika kaynatınız. Akan su altında soğutup kullanınız. Nişasta çözeltisi kullanım anında hazırlanmalı ve taze olmalıdır. Önceden hazırlanmış ve bekletilmiş çözeltide mikrobiyal aktivite hızlanmış olacağından dolayı, nişastanın şeker parçalanması söz konusudur.

**Glukoz çözeltisi serilerinin hazırlanması:**

1 litrelik bir erlende 0.010 luk glukoz çözeltisi hazırlanır. Bundan 10 farklı deney tüpüne 0.010, 0.009, 0.008, 0.007, 0.006, 0.005, 0.004, 0.003, 0.002 ve 0.001 lik çözelti yoğunluğunda 10 farklı seri yapılır. Bu tüm sınıf için 1 adet hazırlanıp, kalorimetrik tayin için her bir tüpün içine 1 ml benedikit ilave edilip kaynatılarak farklı renk tonları oluşturulup, bir porttüp içinde bekletilir.

**İyot çözeltisinin özellikleri:**

Nişastanın ayırıcısıdır. Nişasta bulunan bir ortama ilave edildiğinde kahverengi olan rengi, koyu lacivert ya da siyaha dönüşür.

**Sebebi:** Nişasta  $\alpha$ -amiloz ve amilopektin adında 2 yapısal formda bulunmaktadır. Bunlardan  $\alpha$ -amiloz suda çözünmez fakat su emerek miseller haline gelebilir ve iyot ile muamele edilirse koyu lacivert ya da siyah bir renk meydana getirir.

**Benedikt çözeltisinin özellikleri:**

Şekerin ayırıcısıdır. Şeker bulunan bir ortama ilave edilip kaynatıldığında petrol mavisi olan rengi, şekerin çok olduğu ortamda kiremit kırmızısı, şekerin az olduğu ortamda ise zeytin yeşiline dönüşür.

**Sebebi:** Benedikt ayırıcı bazlı ortamda bakır sitrat çözeltisidir. Bu çözelti petrol mavisi rengindedir. Bir tüp içerisinde aldoz veya ketoz cinsinden bir şeker, benedikit ayırıcı ile kaynatılırsa, benediğin yapısındaki +2 değerlikli bakır, +1 değerlikli bakıra indirgenir. Bu +1 değerlikli bakır kiremit kırmızısı renginde olup, ortamda az miktarda şeker bulunduğu zeytin yeşili bir renk tonu gösterir.



Aldoz veya ketoz şekeri + 2Cu sitrat + NaOH (benedikt)  $\rightarrow$  Cu<sub>2</sub>O + 2H<sub>2</sub>O + şeker asidi tuzu

1. 10 ml lik bir mezür alıp, içine 2 ml tükürük salgısı biriktiriniz (Tükürüğün köpük kısmı hariç, yoğun sıvı kısmı tam 2 ml olmalıdır).
2. Üzerine 8 ml damıtık su ilave edip, toplam 10 ml hacminde pityalin ( $\alpha$ -amilaz) enzim çözeltisi hazırlayınız. Bu çözelti tüm sınıf için 2 ayrı mezürde hazırlanacak ve tüm gruplar bu stokdan kullanacaktır.
3. 4-5 adet lam alıp, her birisinin üzerine aralıklı olarak yan yana 3 damla iyot çözeltisi damlatınız.
4. Bir deney tüpüne 6 ml nişasta çözeltisi koyunuz.

5. Bu deney tüpünün üzerine enzim çözeltisinden 0.5 ml ilave edip toplam hacmi 6.5 ml yapınız.
6. Enzim çözeltisini, nişasta çözeltisinin üzerine ilave eder etmez, 30 saniye bekleyip, tüpteki karışımdan bir miktar alıp, ilk iyot damlasının üzerine bir damla damlatınız.
7. Renk siyah ise bir 30 saniye daha bekleyip, ikinci iyot damlasına tüpteki çözeltiden yine bir miktar alıp bir damla damlatınız.
8. Şayet renk yine siyah ise iyot kendi kahverengi rengini değiştirmeyinceye kadar 30 saniye aralıklarla damlatma işlemine devam ediniz.
9. İyotun renginin değişmediği anı tespit edip, o ana kadar geçen süreyi tayin ediniz.
10. Pityalin ( $\alpha$ -amilaz) enziminin reaksiyon hızını hesaplayınız.

RH(Reaksiyon Hızı) :  $\frac{\text{Kullanılan substrat miktarı (ml)}}{\text{Reaksiyonun bittiği süre (dk)}}$