

Data.....

Imię i nazwisko.....

Grupa.....

Ocena.....

ENZYMY

Ćwiczenie 1. Oksydazy ziemniaka

Wykonanie

Przygotowanie wyciągu z ziemniaka

W celu otrzymania wyciągu umyć i obrać średniej wielkości ziemniaka, zetrzeć go na tarce, włożyć do woreczka z gazy i zanurzyć w zlewce w 100 ml wody destylowanej. Trzymać przez 2 – 3 minuty mieszając zawartość zlewki. Z otrzymanego wyciągu zlać roztwór pozostawiając osad do pozostałych ćwiczeń.

a) otrzymany roztwór ziemniaka rozlać do 3 probówek po 5 ml

Probówka nr 1 dodać 10 kropli 1 % fenolu

Probówka nr 2 dodać kilka kryształków pirokatechiny

Probówka nr 3 dodać kilka kryształków pirogallolu

Wymieszać zawartość probówek zaobserwować i zanotować wyniki w *tabeli 1*.

Tabela 1

Probówka	Odczynnik chemiczny	Obserwacje	Wnioski
1	1 % fenol		
2	Pirotechina		
3	Pirogallol		

b) Jeden kawałek obranego ziemniaka umieścić na szalce Petri'ego bez wody, drugi na szalce zalać wodą. Po 1 godzinie zanotować obserwacje w tabeli 2.

Tabela 2

Tkanka ziemniaka	Obserwacje
Nie zalana wodą	
Zalana wodą	

Wnioski

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Ćwiczenie 2. Peroksydazy

Wykonanie

- a) Do 5 ml wyciągu ziemniaka dodać kilka kropli benzydyny rozpuszczonej w kwasie octowym i kilka kropli 30 % nadtlenku wodoru (H_2O_2). Zanotować i uzasadnić wyniki.

Obserwacje

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Wnioski

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

- b) Powtórzyć ćwiczenie 1 a) dodając do probówek po 10 kropli 30 % nadtlenku wodoru (H_2O_2). Wyniki zanotować w tabeli 3.

Tabela 3

probówka	Dodany odczynnik		Obserwacje
1	1 % fenol	30 % nadtlenek wodoru	
2	Pirokatechina		
3	Pirogallol		

Wnioski

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Ćwiczenie 3. Katalazy

Wykonanie

Pociąć liście dowolnej rośliny na kawałki, włożyć do probówki i zalać 30 % nadtlenkiem wodoru. W drugiej probówce liście zalać wodą i gotować 5 minut. Zlać wodę i po ostudzeniu liście zalać nadtlenkiem wodoru.

Powtórzyć ćwiczenie używając wyciągu ziemniaka.

Zanotować wyniki w tabeli 4.

Tabela 4

Rodzaj materiału roślinnego		Obserwacje
Nie gotowane kawałki liści		
Gotowane kawałki liści		
Wyciąg z ziemniaka	nie gotowany	
	gotowany	

[illegible]

Ćwiczenie 4. Amylazy

Wykonanie

Przygotowanie wyciągu amylaz

Około 20 g kielkujących ziarniaków pszenicy rozetrzeć w moździerzu, zalać 180 ml wody destylowanej, wymieszać, przesączyć i pozostawić na 20 minut do wyklarowania.

Przygotowanie kleiku skrobiowego

1 g skrobi zmieszać z 9 ml wody destylowanej i wlać do 90 ml gotującej się wody. Całość gotować 1 minutę.

Przygotować 4 próbówki według poniższej tabeli i wymieszać ich zawartość, co 2 minuty pobierać próbkę na płytkę szklaną wraz z kroplą płynu Lugola.

Zaobserwować i zanotować wyniki w tabeli 5.

Tabela 5

Probówka	Skład roztworów				Czas*				
	Kleik skrobiowy [ml]	H ₂ O [ml]	Amylazy [ml]	Całkowita objętość roztworu [ml]	[min]				
					2	4	6	8	10
1	2	0	4	6					
2	2	2	2	6					
3	2	3	1	6					
4	2	3,5	0,5	6					

**w rubrykę wstawić znak „+” (intensywne) lub „-”(brak) w zależności od zabarwienia roztworu. W przypadku wątpliwym wstawić znak „± ”*

Wnioski

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Ćwiczenie 5. Wpływ temperatury na działanie amylaz

Wykonanie

Przygotować w zlewkach kąpiele wodne o temperaturach: około 0, 25, 40, 60, 90 °C.

Przygotowanie kąpiei wodnych

1. **Kąpiel nr 1 (0 °C):** do zlewki wsypać kilka kawałków lodu i zalać możliwie jak najmniejszą ilością wody z kranu tak, aby poziom cieczy zakrywał około 1/3 wysokości typowej probówki szklanej.
2. **Kąpiel nr 2 (25 °C):** do zlewki nalać odstanej wody z kranu o temperaturze pokojowej.
3. **Kąpiel nr 3 (37 °C):** do zlewki nalać wody z kranu ogrzanej uprzednio w cieplarni.
4. **Kąpiel nr 4 (60 °C):** zlewkę z wodą ogrzewać na palniku gazowym do momentu uzyskania temperatury ok. 60 °C. Następnie wodę przelać do przygotowanego wcześniej termosu.
5. **Kąpiel nr 5 (90 °C):** zlewkę z wodą ogrzewać na palniku gazowym do wrzenia, następnie odstawić i po ok. 5 min. skontrolować temperaturę.

W kolbce Erlenmeyer'a zmieszać 12 ml kleiku skrobiowego, 18 ml wody destylowanej i 18 ml wyciągu amylaz. Roztwór wymieszać i rozlać do 5 probówek (po ok. 8 ml). Następnie po jednej probówce włożyć do kąpiei wodnej przygotowanej jak opisano powyżej. Co 2 minuty pobierać próbę jak w ćwiczeniu 4. Barwy zapisać w tabeli 6.

Tabela 6

Temp. [°C]	Barwa				
	Czas				
	[min]				
	2	4	6	8	10
0					
25					
40					
60					
90					

[illegible]

Ćwiczenie 6. Wpływ pH na aktywność amylaz

Wykonanie

Przygotować 3 probówki zawierające:

Probówka nr 1:

2 ml kleiku skrobiowego, 1,5 ml 0,1 n HCl oraz 4 ml wyciągu amylaz ($\text{pH} < 7$)

Probówka nr 2:

2 ml kleiku skrobiowego, 1,5 ml 0,1 n NaOH oraz 4 ml wyciągu amylaz ($\text{pH} > 7$)

Probówka nr 3:

2 ml kleiku skrobiowego, 1,5 ml H_2O oraz 4 ml wyciągu amylaz ($\text{pH} = 7$)

Zawartość probówek wymieszać i co 5 minut pobierać próby do reakcji z płynem Lugola jak w ćwiczeniu 4. Barwę roztworu opisać w tabeli 7.

Tabela 7

Nr próbówki	pH	Barwa			
		Czas [min]			
		5	10	15	20
1	<7				
2	>7				
3	=7				

Wnioski

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Ćwiczenie 7. Hydroliza kwasowa skrobi

Wykonanie

Do kolby stożkowej o pojemności 250 ml wlać 50 ml kleiku skrobiowego, 20 ml 10 % H_2SO_4 i dokładnie wymieszać. Pobrać do probówki 3 ml cieczy z kolbki i dodać kilka kropli płynu Lugola. Pozostałą zawartość kolbki ogrzewać na siatce azbestowej małym płomieniem, utrzymując w stanie wrzenia przez 2 minuty. Po tym czasie przerwać ogrzewanie pobrać 3 ml cieczy, po ostudzeniu dodać płynu Lugola. Resztę ponownie ogrzewać. Pobieranie próbek powtarzać 5 – 6 razy. Na zakończenie płyn w kolbce zobojętnić 20 % NaOH, aby nastąpiło odbarwienie i dodać zmieszanego uprzednio odczynnika Fehlinga (po 10 ml Fehlinga I i II) i ogrzać na palniku. Zanotować wyniki.

Obserwacje

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Wnioski

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....