#### *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** | Pirokatechina |  |  |  |
| **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***

1. Do 5 ml wyciągu ziemniaka dodać kilka kropli benzydyny rozpuszczonej w kwasie octowym i kilka kropli 30 % nadtlenku wodoru (H2O2). Zanotować i uzasadnić wyniki.

***Obserwacje***

.................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................

***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 3*.

*Tabela 3*

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

***Wnioski***

.............................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................

*Ćwiczenie 4*. **Amylazy**

***Wykonanie***

**Przygotowanie wyciągu amylaz**

Około 20 g kiełkujących 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 probówki 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 4.

*Tabela 4*

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| ***Probówka*** | ***Skład roztworów*** | | | | *Czas*\*[min] | | | | |
| ***Kleik skrobiowy***  [ml] | ***H2O*** [ml] | ***Amylazy*** [ml] | ***Całkowita objętość roztworu***  [ml] | **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, 90 oC.

**Przygotowanie kąpieli wodnych**

1. **Kąpiel nr 1 (0 oC):** 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 oC**): do zlewki nalać odstanej wody z kranu o temperaturze pokojowej.
3. **Kąpiel nr 3 (37 oC):** do zlewki nalać wody z kranu ogrzanej uprzednio w cieplarce.
4. **Kąpiel nr 5 (90 oC):** zlewkę z wodą ogrzewać na palniku gazowym do wrzenia, następnie odstawić i po ok. 5 min. skontrolować temperaturę.

W kolbce Erlenmeyer’a zmieszać 9 ml kleiku skrobiowego, 15 ml wody destylowanej i 15 ml wyciągu amylaz. Roztwór wymieszać i rozlać do 4 probówek (po ok. 8 ml). Następnie po jednej probówce włożyć do kąpieli wodnej przygotowanej jak opisano powyżej. Co 2 minuty pobierać próbę jak w ćwiczeniu 4. Barwy zapisać w *tabeli 5*.

*Tabela 5*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Temp.[ºC] | Barwa | | | | |
| Czas[min] | | | | |
| **2** | **4** | **6** | **8** | **10** |
| **0** |  |  |  |  |  |
| **25** |  |  |  |  |  |
| **40** |  |  |  |  |  |
| **90** |  |  |  |  |  |

***Wnioski***

..........................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................

*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 (**pH < 7**)

**Probówka nr 2:**

2 ml kleiku skrobiowego, 1,5 ml 0,1 n NaOH oraz 4 ml wyciągu amylaz (**pH > 7**)

**Probówka nr 3:**

2 ml kleiku skrobiowego, 1,5 ml H2O oraz 4 ml wyciągu amylaz (**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 6*.

*Tabela 6*

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Nr probówki** | **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 % H2SO4 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***

...................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................