

## Wpływ pH, temperatury, aktywatorów na aktywność amylazy ślinowej

### Zadanie 1. Oznaczanie punktu achromowego

Celem zadania jest wyznaczenie aktywności amylazy ślinowej. W pierwszym etapie należy dobrać odpowiednie rozcieńczenie śliny, umożliwiające osiągnięcie punktu chromowego w czasie pomiędzy 3 a 15 min.. Punkt achromowy definiujemy jako czas niezbędny do powstania produktów rozkładu skrobi (amylolizy) nie dających barwnej reakcji z jodem .



**Wykonanie.** Do zagłębień płytki porcelanowej nakroplicz po 3 krople  $0,001 \text{ mol/dm}^3 \text{ I}_2$  w KI i po 1 kropli  $2 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ .

Do probówki odmierzyć  $5 \text{ cm}^3$  1% skrobi,  $2 \text{ cm}^3$  1% NaCl  $2 \text{ cm}^3$   $0,2 \text{ mol/dm}^3$  buforu fosforanowego o pH 6,6, zawartość zmieszać i probówkę wstawić do łaźni wodnej o temp.  $37^\circ \text{ C}$ . Po 5 minutach dodać  $1 \text{ cm}^3$  śliny (źródło enzymu) rozcieńczonej 100x wodą destylowaną. Probówkę pozostawić w łaźni wodnej. Moment zmieszania enzymu z substratem rozpoczyna reakcję enzymatyczną (czas „0”).

Dokładnie w odstępach 1-minutowych pobierać po  $0,2 \text{ cm}^3$  inkubatu do zagłębień w płytce. Obserwować zabarwienie roztworu i zanotować czas osiągnięcia punktu achromowego. W razie zbyt krótkiego czasu (mniej niż 3 minuty) lub zbyt długiego czasu (więcej niż 15 minut) niezbędnego do odbarwienia roztworu próbę powtórzyć używając innego rozcieńczenia śliny.



## Zadanie 2. Badanie wpływu pH na aktywność amylazy ślinowej.

Celem zadania jest badanie wpływu pH na aktywność amylazy ślinowej.

**Wykonanie.** Do zagłębień płytki porcelanowej nakroplic po 3 krople  $0,001 \text{ mol/dm}^3 \text{ I}_2$  w KI i po 1 kropli  $2 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ .

Przygotować 3 probówki oznaczone (1,2,3). Do każdej odmierzyć po  $5 \text{ cm}^3$  1% roztworu skrobi i  $2 \text{ cm}^3$  1% NaCl.

Następnie do probówek dodać:

- do probówki 1 -  $2 \text{ cm}^3$   $0,2 \text{ mol/dm}^3$  buforu fosforanowego o pH 6,6
- do probówki 2 -  $2 \text{ cm}^3$   $0,2 \text{ mol/dm}^3$  buforu fosforanowego o pH 8,0
- do probówki 3 -  $2 \text{ cm}^3$   $0,2 \text{ mol/dm}^3$  buforu fosforanowego o pH 5,0

Probówki wstawić do łaźni wodnej o temperaturze  $37^\circ\text{C}$  i po 5 minutach do wszystkich 3 próbek dodać  $1 \text{ cm}^3$  śliny (źródło enzymu). Dokładnie co 1 minutę z każdej probówki pobierać po 2 krople inkubatu do zagłębień wcześniej przygotowanej płytki porcelanowej, tak aby uzyskać trzy rzędy z trzema różnymi wartościami pH.

Obserwować zmiany zabarwienia i zanotować czas osiągnięcia punktu achromowego dla poszczególnych wartości pH.

## Zadanie 3. Badanie wpływu jonów chlorkowych na aktywność amylazy ślinowej.

Celem zadania jest badanie wpływu obecności jonów chlorkowych na aktywność amylazy ślinowej.

**Wykonanie.** Do zagłębień płytki porcelanowej nakroplic po 3 krople  $0,001 \text{ mol/dm}^3 \text{ I}_2$  w KI i po 1 kropli  $2 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ .

Przygotować 2 probówki oznaczone (1,2). Do każdej odmierzyć po  $5 \text{ cm}^3$  1% roztworu skrobi i  $2 \text{ cm}^3$   $0,2 \text{ mol/dm}^3$  buforu fosforanowego o optymalnym pH (wynik z doświadczenia poprzedniego).

Następnie do próbek dodać:

- do probówki 1 -  $2 \text{ cm}^3$  1% NaCl
- do probówki 2 -  $2 \text{ cm}^3$  wody destylowanej

Obie probówki wstawić do łaźni wodnej o temperaturze  $37^\circ\text{C}$  na 5 minut. Dodać  $1 \text{ cm}^3$  śliny (źródło enzymu).

Dokładnie co 1 minutę z każdej probówki pobierać po 2 krople inkubatu do poszczególnych zagłębień wcześniej przygotowanej płytki porcelanowej tak aby uzyskać dwa rzędy z dwoma różnymi



roztworami na płytce.

Obserwować zmiany zabarwienia i zanotować czas osiągnięcia punktu achromowego dla obu próbek.

#### **Zadanie 4. Badanie wpływu temperatury inkubacji na aktywność amylazy ślinowej.**

Celem zadania jest badanie wpływu temperatury na aktywność amylazy ślinowej.

**Wykonanie.** Do zagłębień płytki porcelanowej nakroplic po 3 krople  $0,001 \text{ mol/dm}^3 \text{ I}_2$  w KI i po 1 kropli  $2 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ .

Przygotować 3 próbki oznaczone (1,2,3). Do każdej odmierzyć po  $5 \text{ cm}^3$  1% roztworu skrobi,  $2 \text{ cm}^3$  1% NaCl i  $2 \text{ cm}^3$   $0,2 \text{ mol/dm}^3$  buforu fosforanowego o optymalnym pH (wynik z zadania 2).

-próbówkę 1 umieścić w łaźni wodnej o temp.  $37^\circ \text{ C}$

-próbówkę 2 pozostawić w temp. pokojowej

-próbówkę 3 umieścić w lodzie

Po 5 minutach dodać do każdej próbki po  $1 \text{ cm}^3$  roztworu śliny.

Dokładnie co 1 min z każdej próbki pobierać po 2 krople inkubatu do zagłębień wcześniej przygotowanej płytki porcelanowej, tak ażeby uzyskać trzy rzędy z trzema różnymi wartościami temperatury.

Obserwować zmiany zabarwienia i zanotować czas osiągnięcia punktu achromowego dla poszczególnych wartości temperatury.

Lublin, 24.02.2025

