



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

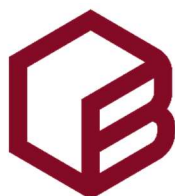


	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

Projekt pt.: „STUDENCI HIPOKRATESA - kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej” w ramach programu Fundusze Europejskie dla Rozwoju Społecznego 2021-2027 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Plus, nr umowy: FERS.01.05-IP.08-0335/23-00

INSTRUKCJE DO ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH Z BIOCHEMII

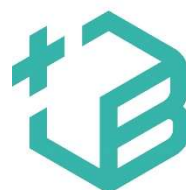
*dla kierunku lekarskiego
Politechniki Bydgoskiej
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich*



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Technologii
i Inżynierii Chemicznej



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Medyczny



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



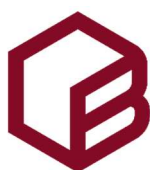
Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

ENZYMY



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Technologii
i Inżynierii Chemicznej



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Medyczny



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

Materiał do przygotowania przez studenta na zajęcia

- budowa enzymów (część białkowa, centrum aktywne)
- podział enzymów
- zależność pomiędzy budową a funkcją enzymu
- jednostki aktywności enzymu
- swoistość działania enzymów
- aktywność całkowita i specyficzna
- mechanizm działania enzymów
- kinetyka reakcji enzymatycznych (model Michaelisa-Menten, szybkość reakcji, czynniki wpływające na szybkość reakcji)
- inhibitory enzymów
- kofaktory, koenzymy – podział i mechanizm działania
- izoenzymy



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

Wykonanie ćwiczeń

1. Wykrywanie oksydaz i peroksydaz w ziemniaku.

Wykonanie:

Umytego i obranego ziemniaka utrzeć na tarce o drobnych oczkach. Miazgę włożyć do zlewki z około 200 ml wody. Zawartość zlewki łagodnie wymieszać. Uzyskuje się w ten sposób wodny ekstrakt zawierający enzymy i skrobię. Otrzymany roztwór zdekantować i przesączyć. Otrzymany wyciąg ziemniaczany zachować do kolejnych doświadczeń.

Do 6 probówek wlać po 5 ml wyciągu ziemniaczanego. Do dwóch dodać 10 kropli 1% roztworu fenolu, do dalszych dwóch 10 kropli 1% roztworu pirokatechiny, a do pozostałych po 10 kropli 1% roztworu pirogalolu. Zawartość probówek wymieszać. Następnie do jednej probówki z każdej pary dodać 10 kropli 3% roztworu H_2O_2 , wymieszać i obserwować zmianę zabarwienia. W probówkach zawierających obok związków fenolowych H_2O_2 zmiana zabarwienia następuje o wiele szybciej bowiem równocześnie działają oksydazy i peroksydazy.

Podobną reakcję obserwuje się nawet bez powyższych odczynników, np. na obranym ziemniaku, który po pewnym czasie sinieje, ponieważ zawarte w nim związki typu *o*-dwufenoli ulegają utlenieniu.

Zanotować obserwacje, wyjaśnić mechanizm.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

2. Wrażliwość oksydaz i peroksydaz na temperaturę

Wykonanie:

Do 3 próbek odmierzyć po 3 ml wyciągu ziemniaczanego. Dwie próbki ogrzewać na łaźni wodnej w temperaturze 70° C przez 10 lub 15 lub 20 minut. Następnie ostudzić i dodać do pierwszej próbki 10 kropli pirokatechiny (powinny działać oksydazy), do drugiej 10 kropli pirokatechiny i 3% roztworu H₂O₂ (powinny działać oksydazy i peroksydazy). Trzecią próbkę z zawartością zagotować i dodać 10 kropli 1% roztworu pirokatechiny i 10 kropli 3% roztworu H₂O₂. Zanotować obserwacje, wyjaśnić mechanizm.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

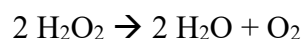


	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

3. Wykrywanie katalazy

Zasady:

Katalaza jest bardzo rozpowszechnionym enzymem występującym u człowieka, zwierząt, roślin i wszystkich bakterii beztlenowych. Jest naturalnym antyoksydantem chroniącym organizm przed szkodliwym działaniem nadtlenku wodoru. Aktywność katalazy obserwuje się w krwi, szpiku, błonach śluzowych, nerkach oraz wątrobie. Jej zadaniem jest katalizowanie reakcji rozkładu nadtlenku wodoru do cząsteczki tlenu i wody zgodnie z równaniem:



Katalaza jest metaloproteidem, zawierającym w stanie krystalicznym 0,09% żelaza (odpowiada to czterem atomom Fe na cząsteczkę). Wyróżnia się bardzo wiele inhibitorów katalazy. Wśród nich można wymienić szereg substancji, które reagują z żelazem trójwartościowym koenzymu katalazy m.in. siarczki, cyjanki, fluorki, azydki, hydroksyloamina. Również sam nadtlenek wodoru w dużych stężeniach dezaktywuje katalazę.

Wykonanie:

Do dwóch probówek wlać po 2 ml wyciągu ziemniaczanego do kolejnych dwóch po 2 ml wyciągu z kapusty. Jedną probówkę z każdej pary ogrzać do wrzenia i ostudzić. Do wszystkich probówek dodać po 2 ml 3% H_2O_2 . Zanotować obserwacje, wyjaśnić mechanizm.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

4. Inaktywacja termiczna enzymów fermentacji alkoholowej

Zasada:

Dezaktywacja enzymu następuje, kiedy enzym zostanie narażony na warunki w jakich normalnie nie funkcjonuje w żywej komórce: zmiana temperatury, zbyt wielka lub mała ilość soli, zmiana odczynu PH itp. Powtórna zmiana warunków, w jakich funkcjonuje enzym na normalne przywraca jego aktywność.

Wykonanie:

Kawałek drożdży piekarskich (wielkości dużej fasoli) rozetrzeć w 10 ml wody destylowanej. Otrzymaną zawiesinę rozdzielić na dwie równe części. Jedną z nich ogrzewać we wrzącej łaźni wodnej przez 5 minut w celu termicznej inaktywacji enzymów. Następnie do obu zawiesin dodać po około 20 ml 10% roztworu sacharozy i przenieść do kolbek lub zlewek. Pozostawić naczynka w temperaturze pokojowej na około 45 minut. Porównać przebieg fermentacji, zanotować obserwacje, wyjaśnić mechanizm.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

5. Wpływ pH na działanie enzymów

Wykonanie:

Przygotować dwa rzędy probówek (po 4 probówki w każdym) i ponumerować je w każdym rzędzie od 1 do 4. Do poszczególnych probówek dodawać kolejno po 2 ml następujących roztworów, o różnym pH:

probówka Nr 1 - 0,1M kwas solny - pH 1,0

probówka Nr 2 - 0,1% kwas mlekowy - pH 5,0

probówka Nr 3 - woda destylowana - pH 7,0

probówka Nr 4 - 1% węglan sodu - pH 9,0

Do probówek pierwszego rzędu dodać po 2-3 krople roztworu *pepsyny* i 3-4 „kłaczkii” *włóknika* zabarwionego czerwienią Kongo. Do probówek drugiego rzędu dodać po 1 ml kleiku skrobiowego i po 2 ml roztworu *amylazy*.

Wszystkie probówki wstawić do łaźni wodnej o temperaturze 37° C na 20 minut. Zaobserwować, który z roztworów zawierających *włóknik* i *pepsynę* zabarwił się.

Do każdej probówki (drugiego rzędu) zawierającej skrobię i *amylazę* wrzucić po kawałeczku uniwersalnego papierka lakmusowego. Ciągłe mieszając, dodawać kroplami rozcieńczony NaOH (probówka 1 i 2) lub HCl (probówka 4) - doprowadzić płyny do oddziaływania obojętnego kierując się barwą papierka. Następnie zawartość każdej probówki rozdzielić na dwie części (**A** i **B**).

Roztwory **A** poddać próbie na obecność skrobi, dodając 2 krople płynu Lugola. Z roztworami **B** wykonać próbę redukcyjną Benedicta (do 1 ml odczynnika Benedicta dodać 3 - 5 kropli roztworu **B**. Wymieszać i wstawić na 5 min. do wrzącej łaźni wodnej, a następnie wyjąć i oziębć pod bieżącą wodą).



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

Zaobserwować zależność aktywności badanych enzymów od pH roztworu. Ustalić w przybliżeniu optimum pH dla obydwu badanych enzymów. Wyniki zestawić w Tabeli, zaznaczając efekty reakcji (w zależności od ich natężenia) odpowiednią liczbą plusów.

Probówka	1	2	3	4
pH	1,0	5,0	7,0	9,0
Pepsyna				
Amylaza				



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

6. Wykorzystanie ureazy do celów analitycznych

Zasada:

Ureaza katalizuje reakcję hydrolitycznego rozkładu mocznika na amoniak i dwutlenek węgla, optymalne warunki reakcji to 40 °C i pH 7.



Wykonanie:

Ureaza występuje m. in. w mące sojowej. Do probówki wlać ok. 5 ml 5% roztworu mocznika i dodać ok. 1 g badanej próbki oraz 1 kroplę fenoloftaleiny. Przykryć probówkę korkiem. Odstawić na 15 min., po czym sprawdzić, czy pojawiło się czerwone/różowe zabarwienie i czy daje się wyczuć woń amoniaku.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

7. Stopniowy rozkład skrobi przez amylazę

Zasada:

W przypadku człowieka i zwierząt obserwujemy występowanie wyłącznie α -amylazy. Najwyższą aktywnością enzymatyczną charakteryzuje się sok trzustkowy i ślina, a w dalszej kolejności surowica krwi i mocz. Przebieg reakcji hydrolizy skrobi można śledzić przez ograniczenie ilości substratu wielkocząsteczkowego (zanik niebieskiej barwy) lub pojawienie się niskocząsteczkowych produktów reakcji (pomiar wzrostu ilości związków redukujących).

Wykonanie:

Przygotowanie roztworu amylazy śliny: przepłukać usta ciepłą wodą, następnie pobrać łyk wody do ust i po kilku minutach wypluć do zlewki, czynność tę powtórzyć kilkakrotnie aż uzyska się powyżej 10 ml roztworu amylazy.

Do próbki odmierzyć 7 ml świeżo przyrządzonego roztworu skrobi i 7 ml otrzymanego roztworu amylazy śliny. Dokładnie wymieszać a następnie próbkę umieścić w łaźni wodnej w temperaturze 40 °C na około 5 minut. W tym czasie przygotować pipetę o pojemności 1 ml i 10 probówek. W każdej probówce umieścić po 2 ml 0,002 % roztworu jodu w jodku potasu. Po upływie 5 minut z próbki zawierającej skrobię i enzym pobierać co pół minuty 1 ml roztworu i umieszczać w kolejnych wcześniej przygotowanych probówkach. Obserwować zabarwienie.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

