



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

ORGANICKÁ CHEMIE – Laboratorní práce č. 9

Téma: Bílkoviny, enzymy

Úkol 1: ***Dokažte, že mléko obsahuje bílkovinu kasein.***

Princip: Kasein je hlavní bílkovinou obsaženou v savčím mléce. Výroba řady mléčných výrobků je založena na jeho kyselém srážení. Kyseliny porušují povrchovou strukturu kaseinu, který se tímto stává nerozpustným a tvoří sraženinu. Přítomnost kaseinu v mléce lze dokázat reakcí s modrou skalicí v silně alkalickém prostředí, při které vzniká fialový biuret.

Pomůcky: kádinka, trojnožka, síťka, skleněná tyčinka, papírový kapesník, filtrační aparatura, univerzální pH papír, teploměr

Chemikálie: mléko, ocet, NaOH, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Postup:

- 1) Do kádinky dejte 40 cm³ mléka, přidejte cca 10 kapek octu a zamíchejte.
- 2) Zahřejte na 50° C a vzniklou sraženinu přefiltrujte přes papírový kapesník.
- 3) Sraženinu rozpustěte v roztoku modré skalice a zalkalizujte roztokem NaOH.
- 4) Pozorujte barevné změny a vysvětlete.

Výsledky:

Závěr:



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Úkol 2: ***Určete teplotu denaturace bílkovin.***

Princip: Ze sacharidů je v ovoci nejvíce zastoupena fruktóza a dále glukóza. Oba zmíněné cukry patří mezi monosacharidy, mají tedy zachován poloacetálový hydroxyl a mohou redukovat Fehlingovo i Tollensovo činidlo.

Pomůcky: zkumavky, teploměr, vodní lázeň, kahan, síťka, trojnožka, skleněná tyčinka, filtrační aparatura, papírový kapesník

Chemikálie: syrový vaječný bílek, voda

Postup:

- 1) Vaječný bílek rozmíchejte ve 100 cm³ vody a přefiltrujte přes papírový kapesník.
- 2) Do zkumavky napipetujte 5 cm³ filtrátu a zkumavku spolu s teploměrem vložte do vodní lázně.
- 3) Zahřívejte a sledujte teplotu, při které dochází k denaturaci bílkovin (roztok se zakaluje).

Výsledky:

Závěr:

Úkol 3: ***Dokažte, že amylasa ze slin je schopna rozštěpit škrob.***

Princip: Enzym α -amylasa katalyzuje hydrolytické štěpení α -glykosidických vazeb rostlinného škrobu. Vznikají tak postupně kratší řetězce složené z glukosových jednotek, které podle délky řetězce dávají s roztokem jodu



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

charakteristické zbarvení (od modré až po hnědé). Konečným produktem štěpení škrobu je maltosa, kterou lze dokázat reakcí s Fehlingovým činidlem.

Pomůcky: vodní lázeň, porcelánová kapkovací destička, filtrační nálevka, odměrný válec, pipety, kádinka, kahan, varná síťka, filtrační papír, stojan, filtrační kruh, stojan se zkumavkami

Chemikálie: roztok jodu, Fehlingův roztok I a II, rozpustný škrob, NaCl, zředěný roztok slin

Postup:

- 1) Připravte si čerstvý roztok škrobu – 1 g rozpustného škrobu a 0,3 g NaCl rozpustíte ve 100cm³ destilované vody.
- 2) Dále si připravte roztok vlastních slin – ústa si dvakrát vypláchněte vodou, potom si naberte do úst destilovanou vodu, pět minut ji přealujete v ústech a vypustíte do kádinky.
- 3) Roztok slin přefiltrujte.
- 4) Do zkumavky A napipetujte 5 cm³ škrobu a 3 cm³ destilované vody.
- 5) Do zkumavky B napipetujte 5 cm³ škrobu a 3 cm³ roztoku slin.
- 6) Obě zkumavky vložte do vodní lázně zahřáté na 37 °C.
- 7) Na porcelánovou kapkovací destičku naneste dvě řady kapek roztoku jodu.
- 8) Skleněnou tyčinkou v dvouminutových intervalech odebírejte vzorky ze zkumavky A i B vzorky a přidávejte je ke kapkám roztoku jodu.
- 9) Pozorujte změny zbarvení kapek na skleněné desce.
- 10) Z obou zkumavek potom pipetou přeneste 2 cm³ do čistých zkumavek, přidejte 2 cm³ Fehlingova roztoku a obě zkumavky zahřejte.
- 11) Pozorujte a vysvětlete.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Výsledky:

Závěr:

Úkol 4: ***Určete, jaký vliv má teplota na aktivitu amylasy ze slin.***

Princip: Reakční rychlost obecně vzrůstá se stoupající teplotou. To platí i pro enzymové reakce, ovšem jen v rozmezí zhruba od 10 do 40 °C.

Při 45-50 °C se narůstání rychlosti reakce zastaví a při dalším zvyšování teploty začne rychlost silně klesat. Většina enzymů za vyšší teploty (50-60°C) ztrácí svou katalytickou aktivitu.

Pomůcky: kapkovací deska, zkumavky, odměrná zkumavka, kahan, držák na zkumavky, stojan, svorka, varný kruh, síťka, kádinka, led, pipeta dělená 10 cm³, skleněná tyčinka, teploměr

Chemikálie: roztok jodu, čerstvě připravený roztok škrobu, roztok slin

Postup:

- 1) Na porcelánovou kapkovací destičku naneste čtyři řady kapek roztoku jodu.
- 2) Do čtyř zkumavek označených písmeny A až D napipetujte po 2 cm³ roztoku enzymu.
- 3) Roztok slin ve zkumavce C zahřejte k varu a ochlaďte ve studené vodě.
- 4) Do zkumavky A přidejte 3 cm³ roztoku škrobu, ihned ji vložte do lázně s ledem a ihned prostřednictvím tyčinky odeberte vzorek a vložte jej do kapky jodu na destičce.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

- 5) Vždy po půlminutových intervalech pokračujte stejně i s ostatními zkumavkami, zkumavku B však ponechte stát při pokojové teplotě a zkumavky C a D vložte do vodní lázně zahřáté na 37 °C.
- 6) Pokračujte v půlminutových intervalech s postupným odebráním dalších vzorků ze všech zkumavek (mezi odběry vzorků z téže zkumavky budou tedy vždy dvouminutové intervaly) a přidávejte je ke kapkám roztoku jodu na kapkovací desce.
- 7) Pozorujte změny zbarvení, запиšte je do tabulky a vysvětlíte.

Výsledky:

	A	B	C	D
0 minut				
2 minuty				
4 minuty				
6 minut				

Závěr:

Otázky a úkoly:

- 1) Lze dokázat bílkovinu ve vzorku i jinak než bibretovou reakcí? Jak? Jaký je princip tohoto důkazu?



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

- 2) Co je podstatou denaturace bílkovin? Které faktory ji mohou způsobit?
- 3) Proč se při teplotě vyšší než 50°C aktivita enzymů snižuje?
- 4) Jak se označuje teplota, při které je aktivita enzymu nejvyšší?