

Laktaza

A

Cel doświadczenia: Wykrywanie aktywności enzymatycznej laktazy

Sprzęt i odczynniki:

- naczynko z roztworem chlorku wapnia – ok. 50 ml do stworzenia kulek z alginianu
- zwitek waty bawełnianej do uszczelnienia kolumny
- strzykawka
- pipetka pasterowska o poj. 1 ml
- 2 paski diagnostyczne do wykrywania glukozy
- 2 ml enzymu laktaza
- sitko do odczedenia kulek alginianu
- 2 puste kubeczki lub szklanki – jeden na roztwór alginianu, drugi do zbierania płynu wyciekającego przez kolumnę
- 1 plastikowy kieliszek do zbierania właściwej frakcji płynu wyciekającego przez kolumnę
- mieszadełko
- ok. 20 ml laktozy jako substrat reakcji

Przed przystąpieniem do zadania postaw hipotezę badawczą:

Zapisz spostrzeżenia z przeprowadzonego eksperymentu:

Wyciągnij wnioski:

Porównując wyniki pozostałych grup w klasie określ, czy wykonywany przez Ciebie wariant doświadczalny był kontrolą, czy właściwą próbą:

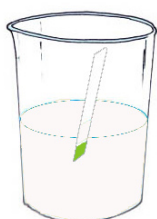
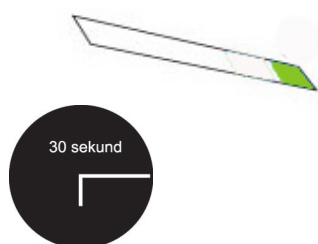
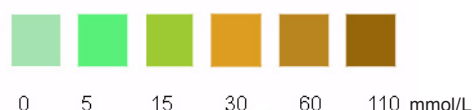
Po zakończeniu pracy przez wszystkie zespoły uzupełnijcie na podstawie wyników z każdej grupy umieszczoną poniżej tabelkę:

Wariant	Substrat	Obecność enzymu w złożu (+/-)	Obecność glukozy przed wlaniem substratu na kolumnę	Obecność glukozy po przepuszczeniu przez kolumnę	Rola wariantu (kontrola +, -, czy próba właściwa)

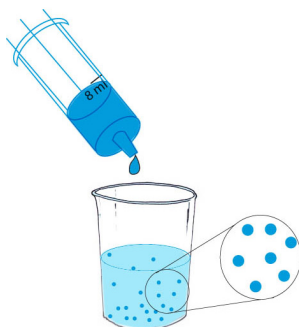
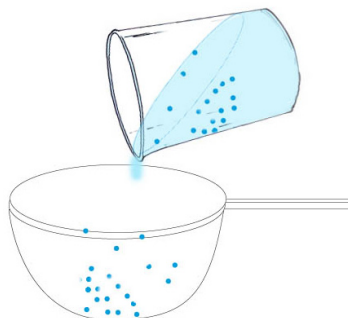
Opis doświadczenia

A

1. Przy pomocy otrzymanego paska diagnostycznego sprawdź zawartość glukozy w roztworze twojego substratu – czyli laktozie:
 - a. Zanurz pasek w roztworze na 3 sekundy
 - b. Wyjmij i poczekaj 30 sekund
 - c. Odczytaj stężenie glukozy porównując kolor paska z kolorem wzorca. Podobnie postępuj przy następnych pomiarach glukozy

Pkt. 1a

Pkt. 1b

Pkt. 1c


2. Nabierz za pomocą strzykawki 8 ml 2% roztworu alginianu sodu (znajdującego się w butelce o poj. 125 ml) i wlej do pustego kubeczka.
3. Dodaj za pomocą pipety pasterowskiej 2 ml enzymu laktazy (od nauczyciela) do tego samego naczynka z 8 ml alginianu. Dobrze wymieszaj roztwór przy pomocy mieszadła.
4. Nabierz przy pomocy strzykawki 10 ml mieszaniny alginianu sodu z enzymem i dodawaj jej po kropli do zlewki z roztworem chlorku wapnia. Pozwól powstałym kulkom stężeć przez ok. 4 minuty. W tym czasie możesz wykonać punkt 5.
5. Wyjmij tłoczek ze strzykawki i umieść w środku zwitek waty bawełnianej. Porządnie go ubij tłoczkiem, na dnie kolumny powinno być około 1 cm zbitej waty. Wyjmij tłoczek.
6. Odcedź powstałe kulki alginianu na sitku i umieść je w strzykawce. Tak przygotowana strzykawka posłuży jako kolumna ze złożem.
7. Do kolumny wlewaj powoli roztwór laktozy. Zwróć uwagę, by podczas trwania eksperymentu kolumna ZAWSZE była wypełniona roztworem.
8. Wyciekający z kolumny roztwór zbieraj do czystego kubeczka. Pierwszą frakcję wyciekającą z kolumny, do momentu, gdy poziom zbieranej cieczy pokryje dno kieliszka, należy wylać. Następnie podstaw, pod wylot kolumny nowy, czysty, plastikowy kieliszek.
9. Zbieraj właściwą frakcję przez około 5 - 10 minut, aż kieliszek zostanie napełniony.
10. Sprawdź zawartość glukozy w zebranym płynie paskiem diagnostycznym (jak w pkt 1.).

Pkt. 4

Pkt. 6

Pkt. 7
