

Лабораторне заняття 2

ПЕРЕТРАВЛЮВАННЯ КРОХМАЛЮ ФЕРМЕНТАМИ СЛИНИ. ДОСЛІДЖЕННЯ ФЕРМЕНТАТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ШЛУНКОВОГО СОКУ. ВПЛИВ ЖОВЧІ НА ЖИРИ

Мета: ознайомитись із дією ферментів слини та шлункового соку; ознайомитись із емульгувальною дією жовчі на жири та методами виявлення жовчних пігментів

Прилади та матеріали. Термостат або водяна баня (37-38°C), лід або холодильник, штатив з пробірками (15 шт), лупа, предметні скельця, штатив, пробірки, лійки, піпетки, свіжа жовч, рослинна олія, вода, паперові фільтри, розчин йоду або розчин Люголя (0,2 г кристалічного йодиду калію розчиняють у 150 мл дистильованої води), реактив Фелінга (готують із двох розчинів, які готують та зберігають окремо, а перед застосуванням змішують у рівних об'ємах), 0,5% розчин НС1, лакмусовий папір, 1% розчин вареного крохмалю, 1% розчин сирого крохмалю, спиртовий пальник, пінцет, фібрин (або яечний білок), 0,5% розчин NaHCO₃.

ЗАВДАННЯ 1. Перетравлювання крохмалю ферментами слини

Ознайомтеся із навчальним відео:

<https://www.youtube.com/watch?v=iaqxTaXit9M>

Хід роботи

Завчасно готують розчини та реактиви. Збирають слину (близько 10 мл) за допомогою інструментальним чи природнім шляхом, випускаючи її через лійку у пробірку.

Нумерують 5 пробірок, ставлять їх у штатив і в кожную відміряють по 1 мл слини.

В першу пробірку добавляють 3 мл 1% розчину вареного крохмалю; другу пробірку нагрівають на спиртівці до кипіння, охолоджують і добавляють 3 мл 1% розчину вареного крохмалю; у третю пробірку добавляють 0,5% розчин НС1 до появи стійкого забарвлення лакмусового паперу і 3 мл 1% розчину вареного крохмалю; в четверту пробірку 3 мл 1% розчину сирого крохмалю; в п'яту 3 мл 1% розчину вареного крохмалю. Перші чотири пробірки ставлять на 30 хв в термостат або водяну баню, а п'яту пробірку - в холодильник чи стакан з льодом.

Через 30 хв. вміст всіх пробірок розділяють на дві частини (для цього нумерують ще 5 пробірок) і досліджують на наявність крохмалю (додають розчин Люголю) і цукрів (додають реактив Фелінга).

За умови присутності крохмалю у пробірках з 1-2 краплями розчину Люголю колір змінюється на синій. А реактив Фелінга і нагрівання (до кипіння) виявляє наявність простих цукрів, тобто продуктів розщеплення крохмалю ферментами слини. У цих пробірках вміст стає буро-червоного кольору.

Замалюйте схему дослідження, зробіть відповідні записи та висновки.

Результати роботи оформити у вигляді таблиці

№	Вміст пробірок	Колір вмісту пробірок	Колір вмісту пробірок після додання	
			Розчин Люголю	Розчин Фелінга
1	1 мл слини + 3 мл вареного крохмалю			
2	1 мл прокип'яченої слини + 3 мл вареного крохмалю			

3	1 мл слини + 0,5% HCl + 3 мл вареного крохмалю			
4	1 мл слини + 3 мл сирого крохмалю			
5	1 мл слини + 3 мл вареного крохмалю			

Дайте відповіді на питання:

1. Як впливає рН середовища на активність ферментів слини? Поясніть механізм дії.
2. Чому в експерименті використовують різні умови (нагрівання, додавання кислоти, різні температури)? Які контрольні групи використовуються в експерименті та для чого?
3. Чому використовують варений та сирий крохмаль в різних пробірках? Поясніть різницю у їх структурі та вплив на процес гідролізу.
4. Поясніть, як саме амілаза розщеплює молекулу крохмалю на молекули цукру. Опишіть етапи реакції.
5. Які висновки можна зробити з цього експерименту щодо оптимальних умов функціонування ферментів слини в організмі?

ЗАВДАННЯ 2. Дослідження ферментативних властивостей шлункового соку

Ознайомтеся із навчальним відео:

<https://www.youtube.com/watch?v=ejsHX7SvyzM>

Хід роботи

Нумерують чотири пробірки і наливають: в першу пробірку 2 мл шлункового соку; в другу – 2 мл шлункового соку і кип'ятять на спиртівці; в третю – 2 мл шлункового соку і додають розчин соди до отримання слаболужної реакції (до синього забарвлення червоного лакмусового паперу); в четверту – 2 мл 0,5% розчину HCl. В усі пробірки кладуть однакову кількість фібрину (0,1-0,3 г) і поміщають їх на 30-40 хв у водяну баню. Через 30-40 хв визначають, як змінився зміст кожної з пробірок.

Замалюйте схему дослідження, зробіть відповідні записи та висновки.

Результати досліду занесіть в таблицю

№	Вміст пробірок	Стан вмісту пробірок	Причина зміни вмісту пробірок
1	2 мл шлункового соку + білок		
2	2 мл кип'яченого шлункового соку + білок		
3	2 мл шлункового соку + розчин NaHCO ₃ + білок		
4	2 мл 0,5% розчину HCl + білок		

Дайте відповіді на питання:

1. Який фермент шлункового соку відповідає за розщеплення фібрину? Поясніть механізм його дії та вплив рН на його активність.
2. Чому в експерименті використовують різні умови (кип'ятіння, додавання соди, розчин HCl)? Поясніть роль кожної умови та її вплив на активність ферментів шлункового соку.

3. Поясніть, як зміниться вміст кожної з пробірок через 30-40 хвилин. Обґрунтуйте свої відповіді на основі знань про властивості ферментів шлункового соку.
4. Чому фібрин використовується як субстрат у цьому експерименті? Які інші білки могли б бути використані та чому?
5. Які висновки можна зробити з цього експерименту щодо оптимальних умов роботи ферментів шлункового соку в організмі людини? Як ці умови забезпечуються в шлунку?

ЗАВДАННЯ 3. Вплив жовчі на жири

Озайомтеся із навчальним відео:

<https://www.youtube.com/watch?v=3DIJHXyqWUs>

Хід роботи

У дві пробірки налити по 2 мл рослинної олії. У одну додати 2 мл жовчі, у другу – 2 мл води. Затиснути пробірки пальцями, збовтати і порівнюють розшарування емульсії олії. У пробірці з жовчю під її впливом утворюється стійка емульсія, а у пробірці з водою – спостерігається чітке розшарування, за якого олія виявляється над водою.

У дві пробірки вставляють лійки з паперовими фільтрами. Один фільтр змочують водою, другий жовчю. У кожну лійку наливають по 5-10 мл олії. Через 45 хв визначають кількість профільтрованої олії, що профільтрувався, в обох пробірках. Порівнюють результати.

Замалюйте схему дослідження, зробіть відповідні записи та висновки.

Дайте відповіді на питання:

1. Поясніть механізм емульгування жирів жовчю. Які компоненти жовчі беруть участь у цьому процесі та як вони діють?
2. Чому в експерименті використовується вода як контрольна група? Які висновки можна зробити, порівнюючи результати в пробірках з жовчю та водою?
3. Поясніть, як впливає емульгування жирів на процес їхнього перетравлення ферментами. Які ферменти беруть участь у розщепленні емульгованих жирів?
4. Чому олія краще проходить через фільтр змочений жовчю, чим через фільтр змочений водою? Які фізико-хімічні властивості жовчі впливають на швидкість фільтрації?
5. Які висновки можна зробити з цього експерименту щодо ролі жовчі в процесі травлення в організмі людини? Як порушення жовчовиділення впливають на перетравлення жирів?

ЗАВДАННЯ 4. Реакція на жовчні пігменти (за Гмелінім)

Озайомтеся із навчальним відео:

<https://www.youtube.com/watch?v=ac8gXAvHSPo>

У першу пробірку налити по 1 мл спочатку азотної, а потім азотистої кислоти. У другу пробірку налити 1 мл розбавленої жовчі (50 : 50). Жовч обережно нашаруйте на кислоту. На місці стикання жовчі з кислотою утворюється ряд різнобарвних кілець, продуктів окислення пігментів жовчі.

Профільтруйте жовч кілька разів через невеличкий фільтр; на ньому частково затримуються жовчні пігменти. Розгорніть фільтр на склі та пустіть усередину фільтра за допомогою скляної палички

краплину концентрованої азотної кислоти. Спостерігається утворення на фільтрі кольорових кілець (крайнім зовні буде зелене кільце).

Замалуйте схему дослідження, зробіть відповідні записи та висновки.