

KV Іb 3303 «Иммунобиотехнология»

Зертханалық жұмыс № 9

Тақырып: Өсімдік тектес ферменттерді бөліп алу және олардың белсенділігін анықтау

Сабақтың мақсаты:

Өсімдік тектес ферменттерді бөліп алу әдістерін зерттеу. Өсімдік тектес ферменттердің белсенділігін анықтау әдістерін үйрену. Ферменттердің ферментативті қасиеттерін және олардың физиологиялық маңыздылығын түсіну.

Сабақтың міндеттері:**Теориялық:**

- Өсімдік тектес ферменттердің түрлері, қасиеттері және қолданылу салалары туралы түсінік беру.
- Ферменттердің химиялық табиғаты мен белсенділік механизмі туралы білім алу.

Практикалық:

- Өсімдік тектес ферменттерді бөліп алу және олардың белсенділігін анықтау әдістерін тәжірибеде қолдану.
- Білім алушыларға ферментативті реакцияларды бақылай отырып, ферменттердің белсенділігін өлшеу дағдыларын дамыту.

Аналитикалық:

- Ферменттің белсенділігін анықтау үшін қолданылатын әдістерді, мысалы, субстраттың концентрациясын өзгерту немесе температураны реттеу арқылы зерттеу.

Зертханалық жұмысты орындау барысы:**Қажетті материалдар мен жабдықтар:**

Өсімдік материалдары: ферменттерді бөліп алу үшін қажетті өсімдіктердің бөліктері (мысалы, картоп, алмұрт, сәбіз, жапырақтар).

Химиялық заттар: қант ерітінділері, пішін түзетін ерітінділер, субстраттар (қант немесе крахмал), фермент белсенділігін анықтау үшін реагенттер (мысалы, DNS ерітіндісі).

Жабдықтар: реакция ыдыстары, спектрофотомтер, пипеткалар, сүзгіш қағаз, магнитті араластырғыш, термостат.

Дайындық кезеңі:

- Өсімдік материалын (мысалы, картоп) жинап, жақсылап жуып, ұсақтап турап немесе ұнтақтау.
- Өсімдік материалын ферменттерді бөліп алу үшін арнайы еріткішпен араластыру (мысалы, су немесе фосфатты буфер).

Ферменттерді бөліп алу:

- Ұсақталған өсімдік материалын буферлік ерітіндіде экстракциялау.
- Экстракцияны 2-3 сағат бойы магнитті араластырғышта жүргізу.
- Алынған экстрактіні сүзгіш қағаз арқылы тазалау.
- Экстрактіні центрифугалау арқылы қатты заттардан бөліп алу.

Фермент белсенділігін анықтау:**Альфа-амилаза белсенділігін анықтау:**

- Экстракцияланған ферментті арнайы амилозды қоспалармен реакцияға түсіру.
- Реакциядан кейін қант концентрациясын өлшеу, мысалы, DNS (дихлорфенилсульфон) әдісімен.
- Спектрофотометрикалық өлшеу арқылы қанттың түзілу жылдамдығын анықтау.

Целлюлаза белсенділігін анықтау:

- Өсімдік экстрактісі мен субстрат ретінде целлюлозаны араластыру.
- Бөлінген глюкоза мөлшерін бақылау (DNS әдісі арқылы).

Пепсин белсенділігін анықтау:

- Өсімдік экстрактісін пепсиндік субстраттармен реакцияға түсіру.
- Белоктың ыдырауын өлшеу үшін, мысалы, белоктардың азоттық құрамын анықтау.

Фермент белсенділігінің шарттарын зерттеу:**Температураның әсерін зерттеу:**

- Әртүрлі температураларда фермент белсенділігін бақылау және ең жоғары белсенділік температурасын анықтау.

pH деңгейінің әсерін зерттеу:

- Фермент реакциясының әртүрлі pH деңгейінде белсенділігін бақылау.

Бақылау сұрақтары:

1. Өсімдік тектес ферменттер қандай топтарға бөлінеді және олардың ферментативті әрекеттегі рөлі қандай?
2. Экстракция процесін қандай еріткіштер арқылы жүргізуге болады?
3. Альфа-амилаза мен целлюлазаның белсенділігін қалай өлшеуге болады?
4. Фермент белсенділігін анықтау кезінде қандай физикалық және химиялық параметрлер маңызды болып табылады?
5. Ферменттердің белсенділігіне температура мен pH деңгейінің әсері қандай?
6. Өсімдік тектес ферменттерді өнеркәсіптік қолдану мүмкіндіктері қандай?