

TÉMA: SACHARIDY

Úloha 1 Enzymová hydrolýza škrobu α -amylázou

Záznam průběhu štěpení škrobu α -amylázou:

		Reakce s Lugolovým roztokem			
		Zk. číslo	Škrobový maz	Zk. číslo	Nevařený škrob
Před enzymovou hydrolýzou		1K		K	
		2K	(se slinami)		
Průběh enzymové hydrolýzy (čas)	30 s	1A		1B	
	60 s	2A		2B	
	90 s	3A		3B	
	120 s	4A		4B	
	150 s	5A		5B	
	180 s	6A		6B	
	210 s	7A		7B	
	240 s	8A		8B	
Benedictova reakce					
Před enzymovou hydrolýzou					
Po enzymové hydrolýze					

Závěr a zdůvodnění výsledků:

K úplné hydrolýze škrobu α -amylázou došlo zas.
 Porovnejte výsledky enzymového štěpení vařeného škrobu a škrobu nevařeného.

Úloha 2 Stanovení aktivity α -amylázy v séru (S-AMS)

Výpočet aktivity α -amylázy v séru:

1) *Rozdíly absorbancí za 1 minutu ΔA :*

Čas	A_{405}	ΔA_{405}
0	A_0	
1. minuta	A_1	$A_1 - A_0 \rightarrow \Delta A_1$
2. minuta	A_2	$A_2 - A_1 \rightarrow \Delta A_2$
3. minuta	A_3	$A_3 - A_2 \rightarrow \Delta A_3$

2) *Průměrná změna absorbance ΔA_{405} :*

$$\Delta A_{405}/\text{min} = \frac{\Delta A_1 + \Delta A_2 + \Delta A_3}{3} = \frac{\dots + \dots + \dots}{3}$$

$$\text{S-Amyláza} = \Delta A_{405}/\text{min} \times 53,8 = \dots \mu\text{kat/l}$$

Hodnocení

- Zjištěná aktivita α -amylázy v sérovém vzorku je v referenčním rozmezí, snižena, zvýšená. (zakroužkujte odpovídající hodnocení).
- Příčinou snížené/zvýšené aktivity může být:

Úloha 3 Enzymové štěpení disacharidů

Vyhodnocení reakcí po proběhlé inkubaci:

Pozitivní výsledek zkoušky označte +, negativní -; ve vyhodnocení štěpení uveďte, ve kterých reakčních směsích proběhla hydrolýza.

	ZKUMAVKA 1 (sacharóza+ enzym A)	ZKUMAVKA 2 (sacharóza+ enzym B)	ZKUMAVKA 3 (laktóza+ enzym A)	ZKUMAVKA 4 (laktóza+ enzym B)
Benedictova reakce				
Barfoedova reakce				
Typ sacharidu (monosacharid/disacharid, redukující/ neredukující)				
Vyhodnocení štěpení substrátu				

Enzym A je.....

Enzym B je.....

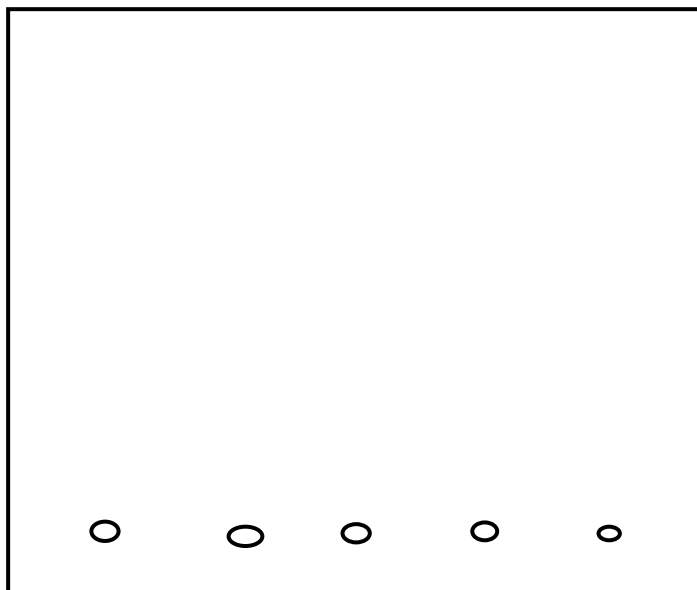
Zdůvodněte výsledky:

Úloha 4 TLC chromatografie produktů enzymového štěpení laktózy

Výsledky:

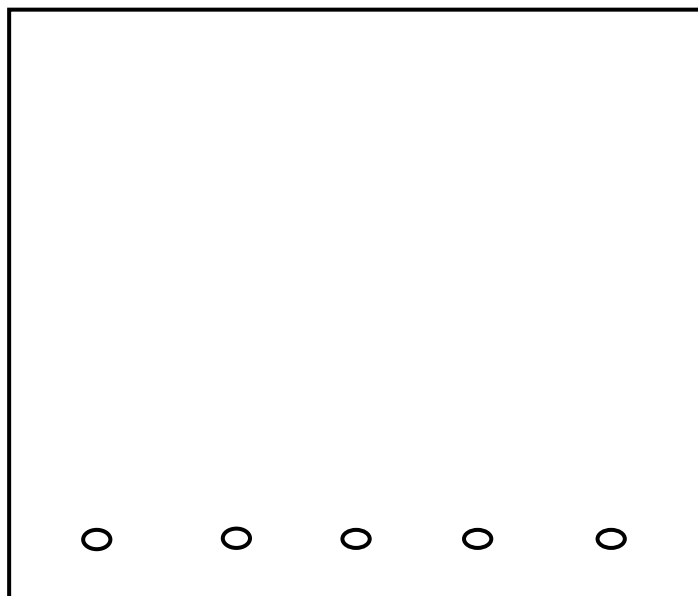
- Na schématu chromatogramu označte starty (standardy, vzorky).
- Po detekci zaznamenejte zbarvení skvrn, určete hodnoty R_f standardů sacharidů a vzorků z úlohy 3, výsledky zapište do tabulky.
- Porovnáním hodnot R_f skvrny vzorků z úlohy 3 s R_f standardů určete, o jaké se jedná sacharidy.

Schéma chromatogramu 1:



	Zbarvení skvrny	Vzdálenost a (start – střed skvrny) v cm	Vzdálenost b (start – čelo rozpouštědla) v cm	R_f	Prokázaný sacharid
Sacharóza					–
Glukóza					–
Fruktóza					–
Zkumavka č.....					
Zkumavka č.....					

Schéma chromatogramu 2:



	Zbarvení skvrny	Vzdálenost a (start – střed skvrny) v cm	Vzdálenost b (start – čelo rozpouštědla) v cm	R_f	Prokázaný sacharid
Laktóza					–
Glukóza					–
Galaktóza					–
Zkumavka č.....					
Zkumavka č.....					

Sacharáza štěpí sacharózu na tyto monosacharidy

Laktáza štěpí laktózu na tyto monosacharidy.....

Závěr: