

Úloha 5: Stanovení optimálního pH α -amylázy obsažené ve slinách

1. Připravíme roztok slin:

- **ústa vypláchneme destilovanou vodou**, podržíme ji v ústech cca **2 minuty**, kapalinu vpustíme do kádinky a **přefiltrujeme do zkumavky**, roztok slin **zředíme vodou 1:2**. *Není třeba čekat, až se zfiltruje všechno. Spočítáme si, kolik naředěného roztoku budeme opravdu potřebovat.*

2. Do **osmi zkumavek** připravíme ústojné roztoky (pufry) podle následující tabulky:

č. zkumavky	Na ₂ HP O ₄ (0,2M)	kys. citronová (0,1M)	pH
1	1,29	1,21	5
2	1,51	0,99	5,8
3	1,65	0,85	6,2
4	1,82	0,68	6,6
5	1,93	0,57	6,8
6	2,06	0,44	7
7	2,27	0,23	7,4
8	2,43	0,07	8

*Pokud jsme správně pipetovali, roztoky v jednotlivých zkumavkách mají pH uvedené v posledním sloupečku tabulky. **pH si ověřte pomocí pH papírků a zapište do protokolu.***

3. Přidáme **5 ml čerstvého vodného roztoku škrobu**

4. Do jednotlivých zkumavek přidáváme **v půlminutových intervalech 2,5 ml zředěného vodného roztoku slin.**

5. Obsah zkumavek promícháme a necháme **20 minut** reagovat při laboratorní teplotě. Probíhá štěpení polysacharidů na di- a monosacharidy.

6. Do všech zkumavek přidáme v půlminutových intervalech **50 μ l Lugolova roztoku**. Zaznamenejme barvu zkumavek. Vybereme nejvhodnější pH pro amylasovou reakci. Pokud mají všechny zkumavky stejnou barvu, naředíme roztoky 10x destilovanou vodou. *Jod v Lugolově roztoku reaguje s polysacharidy (škrob) za vzniku modrého zbarvení. Takže čím je zkumavka světlejší, tím lépe reakce probíhala.*

Do protokolu:

Uvést postup, vyfotit a vložit do protokolu výsledek barevných změn, uvést tabulku s naměřenými hodnotami pH.

