1. **Wpływ kiwi na proces żelowania galaretki (max 0,3 pkt – obserwacje 0,2 pkt, wnioski 0,1 pkt)**
* Przygotuj galaretkę – zagotuj szklankę wody, a następnie rozpuść w niej opakowanie galaretki. Otrzymany roztwór podziel na 3 części. Odstaw do ostudzenia.
* Świeże kiwi obierz ze skórki, pokrój na kawałki, a następnie dobrze posiekaj widelcem lub rozetrzyj w moździerzu.
* Otrzymaną mieszaninę przełóż do plastikowych probówek, zakręć i odwiruj prze 15 minut.
* Otrzymany supernatant podziel na dwie części i zachowaj w oddzielnych probówkach.
* Jedną część supernatantu zagotuj do wrzenia – odstaw do ostudzenia.
* Do przygotowanych 3 porcji galaretki dodaj kolejno 3 ml supernatantu, 3 ml supernatantu po podgrzaniu, 3 probówka zostanie jako kontrola.
* Zawartość probówek zamieszaj i wstaw do lodówki.
* Co 15 minut zapisuj obserwacje.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Agar | Żelatyna |
| Sok z kiwi |  |  |
| Sok z kiwi po podgrzaniu |  |  |
| Kontrola |  |  |

**Wnioski:**

1. **Badanie aktywności enzymatycznej supernatantu** **(max 0,3 pkt – pomiary 0,2 pkt, wnioski 0,1 pkt)**
* Przygotować odpowiednie rozcieńczenia substratów do oznaczania aktywności enzymatycznej supernatantu.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Rozcieńczenie | Bufor | Substrat podstawowy |
| 10 × | 180 μl | 20 μl |
| 20 × | 380 μl | 20 μl |
| 50 × | 980 μl | 20 μl |
| 100 × | 1800 μl | 20 μl |
| 200 × | 3800 μl | 20 μl |

* Nanieść na płytkę 96-dołkową po 50 μl odpowiednich rozcieńczeń substratu w trzech powtórzeniach.



* Do każdej studzienki z substratem dodać 150 μl buforu, a następnie 50 μl supernatantu.
* Powtórzyć dla supernatantu po podgrzaniu.

Wartości fluorescencji:

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Sok z kiwi |  |  |  |  |  |  |
| Sok z kiwi po podgrzniu |  |  |  |  |  |  |

**Wnioski:**

1. **Oznaczenie zawartości białka w supernatancie z kiwi (max 0,4 pkt – pomiary 0,2 pkt, krzywa wzorcowa 0,1 pkt, obliczenie stężenia białka 0,1 pkt)**
* Naważ 2 mg albuminy i rozpuść go w 2 ml wody destylowanej, aby uzyskać stężenie wyjściowego roztworu 1 mg/ml.
* Przygotuj krzywą wzorcową albuminy według poniższej tabelki

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Stężenie | Objętość roztworu białka | Objętość wody destylowanej |
| 0,25 mg/ml | 250 μl | 750 μl |
| 0,5 mg/ml | 500 μl | 500 μl |
| 0,75 mg/ml | 750 μl | 250 μl |

* Na płytkę 96-dołkową do pomiaru absorbancji nanieś po 20 μl poszczególnych rozcieńczeń, roztworu wyjściowego oraz wody w trzech powtórzeniach.



* Do studzienek dodaj po 180 μl odczynnika Bradforda.
* Inkubuj płytkę w temperaturze pokojowej przez 10 minut.
* Przeprowadź pomiar absobancji przy długości fali 595 nm.
* Sporządź krzywą wzorcową zależności absorbancji od stężenia białka.
* Na płytkę nanieść po 20 μl supernatantu z kiwi w trzech powtórzeniach oraz supernatantu po podgrzaniu.
* Dodaj 180 μl odczynnika Bradforda, inkubuj 10 minut. Przeprowadź pomiar absorbancji.
* Korzystając z krzywej wzorcowej oblicz stężenie białka w badanych próbkach.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Stężenie albuminy [mg/ml] |  |  |  |  |
| Absorbancja |  |  |  |  |

Absorbancja soku z kiwi:

Stężenie białka w soku z kiwi: