

Enzymy

Enzymy to biologiczne katalizatory, które przyspieszają reakcje chemiczne poprzez obniżenie ich energii aktywacji. Cechą charakterystyczną enzymów jest ich specyficzność – zarówno w stosunku do substratu, jak i katalizowanej reakcji, w określonych warunkach (pH, temperatura) [1].

Owoce takie, jak ananas, kiwi, mango i papaja zawierają enzymy proteolityczne, co powoduje, że galaretki po ich dodaniu nie tężeją. Żelatyna jest białkiem, która po rozpuszczeniu tworzy żel. Enzymy zawarte w wymienionych owocach wchodzi w reakcję ze składnikami galaretki, nie pozwalając jej zastygnąć [2].



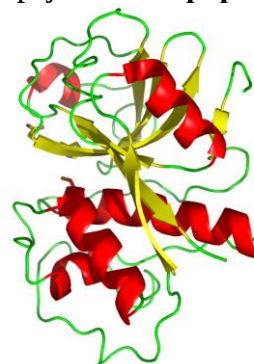
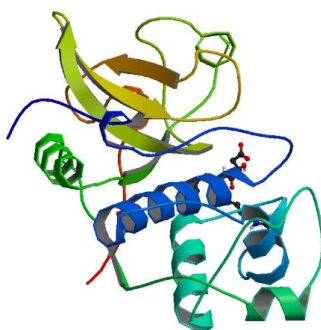
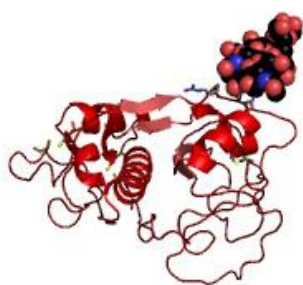
Ananas zawiera **bromelianę**



Kiwi zawiera **aktynidynę**



Papaja zawiera **papainę**



[1] www.wikipedia.pl

[2] www.sciencelearn.org.nz

1. Wpływ kiwi na proces żelowania galaretki

- 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 przez 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.

Enzymy

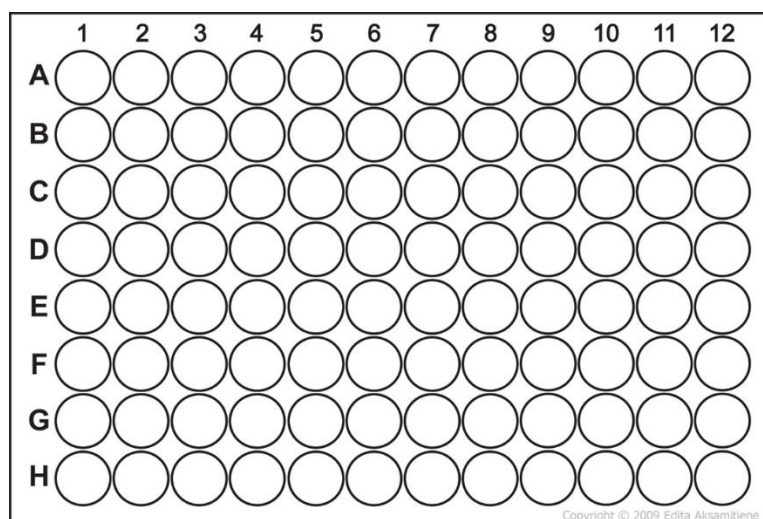
- Zawartość probówek zamieszaj i wstaw do lodówki.
- Co 15 minut zapisuj obserwacje.

2. Badanie aktywności enzymatycznej supernatantu

- 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.

3. Oznaczenie zawartości białka w supernatancie z kiwi

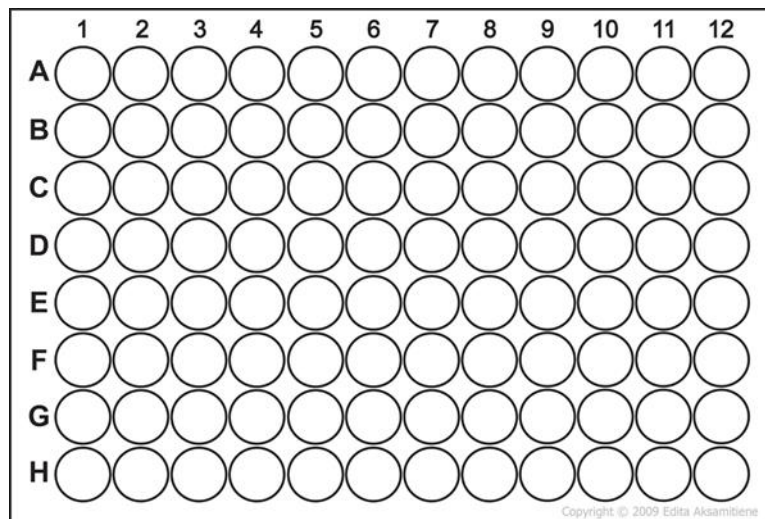
- Naważ 2 mg albuminy i rozpuść go w 2 ml wody destylowanej, aby uzyskać stężenie wyjściowego roztworu 1 mg/ml.
- Przygotuj krzywą wzorcową albuminy według poniższej tabelki

Stężenie	Objętość roztworu	Objętość wody
----------	-------------------	---------------

Enzymy

	białka	destylowanej
0,25 mg/ml	250 μ l	750 μ l
0,5 mg/ml	500 μ l	500 μ l
0,75 mg/ml	750 μ l	250 μ l

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



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