



Chương II: ENZYME

Bài 1: ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ ĐẾN HOẠT TÍNH CỦA ENZYME

Nhiệt độ có ảnh hưởng quan trọng đến tốc độ phản ứng của enzyme. Sự tăng tốc độ phản ứng của enzyme bằng cách nâng nhiệt độ chỉ có hiệu quả trong một khoảng nhiệt độ tương đối hẹp.

Nhiệt độ tối thích của phần lớn các enzyme là trong khoảng 40 – 60⁰C. Càng xa nhiệt độ thích hợp hoạt độ của các enzyme càng giảm.

❖ Nguyên liệu và hóa chất:

- Dung dịch tinh bột 1%
- Nước cất, nước đá
- Dung dịch Iod 5mmol/L trong KI 3%
- Dung dịch amylase (dd nước bột pha loãng 10 lần)

❖ Dụng cụ:

- Ống nghiệm, giá ống nghiệm, cặp ống nghiệm
- Tủ ẩm điều nhiệt
- Giấy lọc
- Nồi đun cách thủy
- Pipet 1 – 5ml
- Cốc 100 – 250ml

❖ Cách tiến hành:

Chuẩn bị 8 ống nghiệm: cho vào ống nghiệm 1 -4 mỗi ống 2ml dd tinh bột 1%.

- Ống 1: gia nhiệt ở 85 – 90⁰C
- Ống 2: cho vào nước đá
- Ống 3: để ở tủ ẩm 45 - 50⁰C
- Ống 4: để ở nhiệt độ phòng

Giữ các ống trong 15 phút để dd trong ống đạt đến các nhiệt độ tương ứng.



Bài 3: XÁC ĐỊNH HOẠT ĐỘ α – AMYLASE THEO PHƯƠNG PHÁP WOHLGEMUTH

Các amylase là các enzyme thủy phân tinh bột, có 2 loại là α - amylase và β - amylase. Sự tác dụng của hỗn hợp α - amylase và β - amylase trên tinh bột cho ta hỗn hợp càng lúc càng nhiều glucose, maltose và dextrin đơn giản

Để xác định hoạt độ của enzyme, ta xác định nồng độ enzyme thấp nhất có khả năng gây thủy phân hoàn toàn tinh bột cho các sản phẩm không đổi màu dd iode. Đó là nguyên tắc của phương pháp Wohlgemuth.

Đơn vị Wohlgemuth là lượng enzyme cần thiết để thủy phân hoàn toàn 1mg tinh bột ở 37⁰C sau 30 phút có chất Cl⁻ làm chất hoạt hóa.

❖ Nguyên liệu và hóa chất:

- Dung dịch amylase (dd nước bọt pha loãng 10 lần)
- Dung dịch tinh bột 0,1%
- Dung dịch NaCl 0,9%
- Dung dịch Iode 0,02N
- Nước cất

❖ Dụng cụ:

- Ống nghiệm, giá ống nghiệm, cặp ống nghiệm
- Pipette 1 – 5ml
- Tủ ấm hoặc nồi cách thủy ổn nhiệt (37⁰C)

❖ Cách tiến hành:

- Chuẩn bị 10 ống nghiệm, đánh số từ 1 – 10, cho vào mỗi ống 1ml dd NaCl 0,9%.
- Thêm vào ống 1: 1ml dịch enzyme, lắc đều, lấy ra 1ml cho vào ống 2, lắc kỹ, lấy ra 1ml cho vào ống 3...Tiếp tục làm thao tác trên cho đến ống 10, lấy 1ml từ ống 10 bỏ đi.
- Sau đó cho vào mỗi ống 2ml dung dịch tinh bột 0,1%, lắc đều và giữ yên ở 37 ⁰C trong 30 phút.



- Khi thời gian hết, làm nguội các ống nghiệm đến nhiệt độ phòng và cho vào mỗi ống 2 giọt dd Iode 0,02N và lắc đều.

Hoạt độ enzyme được tính như sau: $X = 2^n \times 2$ (trong đó n là số thứ tự ống nghiệm có nồng độ enzyme thấp nhất và đã thủy phân hoàn toàn).

Giải thích kết quả. Giải thích vai trò của NaCl trong thí nghiệm. Tính hoạt độ của enzyme.