

Лабораторная работа №6

Получение инвертазы и ее идентификация

Цель работы: получить гомогенат инвертазы из пекарских дрожжей и идентифицировать инвертазу с помощью реактива Фелинга.

Инвертаза (Шифр КФ 3.2.1.26; пищевая добавка E1103) (систематическое имя: бета-фруктофуранозидаза) – энзим, который катализирует гидролиз (распад) сахарозы, расщепляют O-C связь. Полученные в результате фруктоза и глюкоза называются инвертированный сахарный сироп. Для промышленного использования инвертазы обычно выделяют из дрожжей. Также инвертаза синтезируется пчелами, которые используют ее для приготовления меда из нектара. Оптимальная температура для реакции гидролиза сахарозы 60°C, а оптимальная pH 4.5.

Оборудование и посуда: водяная баня, центрифуга, термометр, штатив, ступка и пестик, круглодонная колба на 50 мл, пробирки, 5 плоскодонных колб на 50 мл.

Реактивы: сухие пекарские дрожжи, раствор сахарозы 20%, реактив Феллинга, вода дистиллированная.

Приготовление реактива Фелинга:

1. В одной колбе 2,0 г $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ растворите в 50 мл дистиллированной воды.
2. В другой колбе 10 г сегнетовой соли и 7,5 г NaOH растворите в 50 мл дистиллированной воды.
3. Перед применением смешайте в равных количествах объемов (1:1).

Ход работы:

1. Сухие пекарские дрожжи массой 2 г измельчите в ступке с небольшим количеством воды
2. Полученный раствор перелейте в колбу, добавьте ещё 10 мл воды, разлейте по пробиркам и отцентрифугируйте в течение 10 минут при 1,5 тыс. об/мин.

3. Возьмите пять пробирок или колб на 50 мл:
 - а) в первую влейте 5 мл 20%-го раствора сахарозы;
 - б) во вторую – 5 мл 20%-го раствора сахарозы + 3 мл надосадочной жидкости => оставьте при комнатной температуре и наблюдайте за сменой окраски в течение 20 минут;
 - в) в третью - 5 мл 20%-го раствора сахарозы + 3 мл надосадочной жидкости => нагревайте на водяной бане при 40°C в течение 10 минут;
 - г) в четвертую колбу - то же, что и в третью, но нагревайте на водяной бане при 60°C в течение 10 минут;
 - д) в пятую колбу - 5 мл 20%-го раствора сахарозы+3 мл надосадочной жидкости => прокипятите на водяной бане в течение 10 минут.
4. Во все пробирки/колбы влейте по 3 мл реактива Фелинга.
5. Определите характер окраски растворов во всех пробирках/колбах и оцените наличие и активность фермента инвертазы.
6. Результаты эксперимента необходимо вписать в таблицу:

| № пробы | Содержимое пробы | Окраска раствора |
|---------|------------------|------------------|
| 1 | | |
| 2 | | |
| 3 | | |
| 4 | | |
| 5 | | |

7. Сделайте выводы по проделанной работе. Охарактеризуйте оптимальные условия для проявления активности инвертазы. Укажите влияние температуры на активность инвертазы, сравнив окраску растворов при разной температуре.
8. Оформить отчет по результатам исследования.

Контрольные вопросы:

- К какому классу относится фермент инвертаза? Какие типы реакций катализирует?
- Из каких источников можно выделить фермент инвертазу?
- Почему в одной из пробирок окраска раствора оранжевая? Какая химическая реакция протекает в этой пробирке?