

ЗАДАНИЯ**практического тура заключительного этапа XXXIII Всероссийской олимпиады школьников по биологии. 2016-17 уч. год. 11 класс****БИОХИМИЯ****Определение активности амилазы слюны методом последовательных разведений (по Вольгемуту)**

Реактивы и оборудование: дистиллированная вода в пластиковой чашке (50 мл) для приготовления раствора амилазы слюны (готовится в ходе эксперимента), дистиллированная вода, 0,1% раствор NaCl, 0,1% раствор крахмала, 20 пустых пробирок в штативе, автоматическая пипетка, наконечники, раствор Люголя в капельнице.

Ход работы: Пронумеруйте 2 ряда по 10 пробирок в каждом (1-10 и 11-20) и налейте в пробирки №2-10 в ряду 1-10 по 4 мл дистиллированной воды и в пробирки №12-20 в ряду 11-20 по 4 мл раствора NaCl. Наберите в рот дистиллированной воды из пластиковой чашки, прополощите рот в течение примерно 1 минуты и соберите полученный раствор амилазы в ту же пластиковую чашку. **Считайте, что в полученном растворе слюна разведена в 10 раз (разведение 1:10).** Внесите в пробирки №1 и №2 по 4 мл полученного раствора амилазы. Тщательно перемещайте содержимое пробирки №2 и перенесите из неё 4 мл в пробирку №3, тщательно перемешайте содержимое и перенесите из неё 4 мл в пробирку №4 и т.д. до пробирки №10. Из пробирки №10 после перемешивания вылейте 4 мл раствора. Смените наконечник на пипетке и проделайте ту же процедуру с рядом пробирок 11-20. Смените наконечник на пипетке и добавьте во все пробирки по 2 мл раствора крахмала. Начните с пробирок №10 и 20, перемешайте, затем добавьте крахмал в пробирки №9 и 19, перемешайте, и т.д. до пробирок №1 и 11. Проинкубируйте пробирки при комнатной температуре 5 минут. После 5 минут инкубации добавьте в пробирки № 10 и 20 по 1 капле раствора Люголя, перемешайте, затем добавьте по 1 капле раствора Люголя в пробирки №9 и 19, перемешайте, и т.д. до пробирок №1 и 11. Внесите результаты в Таблицу. Внесите в Таблицу **конечные** значения разведения слюны в инкубационной смеси (разведение 1:XX).

Задание 1 (12 баллов). Заполните Таблицу и внесите в неё результаты эксперимента (Окраска: « + » - синяя, « +/- » - фиолетовая, « - » - нет окрашивания).

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Разведение слюны										
Окраска:										
№ пробирки	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Разведение слюны										
Окраска:										

Задание 2 (3 балла). Рассчитайте, сколько миллилитров 0,1% раствора крахмала полностью расщепит 1 мл неразведенной слюны за 5 минут? Полным считается расщепление крахмала в той пробирке, в которой полностью отсутствует синее/фиолетовое окрашивание.

В отсутствие NaCl 1 мл неразведенной слюны полностью расщепит крахмал в _____ мл 0,1% раствора за 5 минут

В присутствии NaCl 1 мл неразведенной слюны полностью расщепит крахмал в _____ мл 0,1% раствора за 5 минут

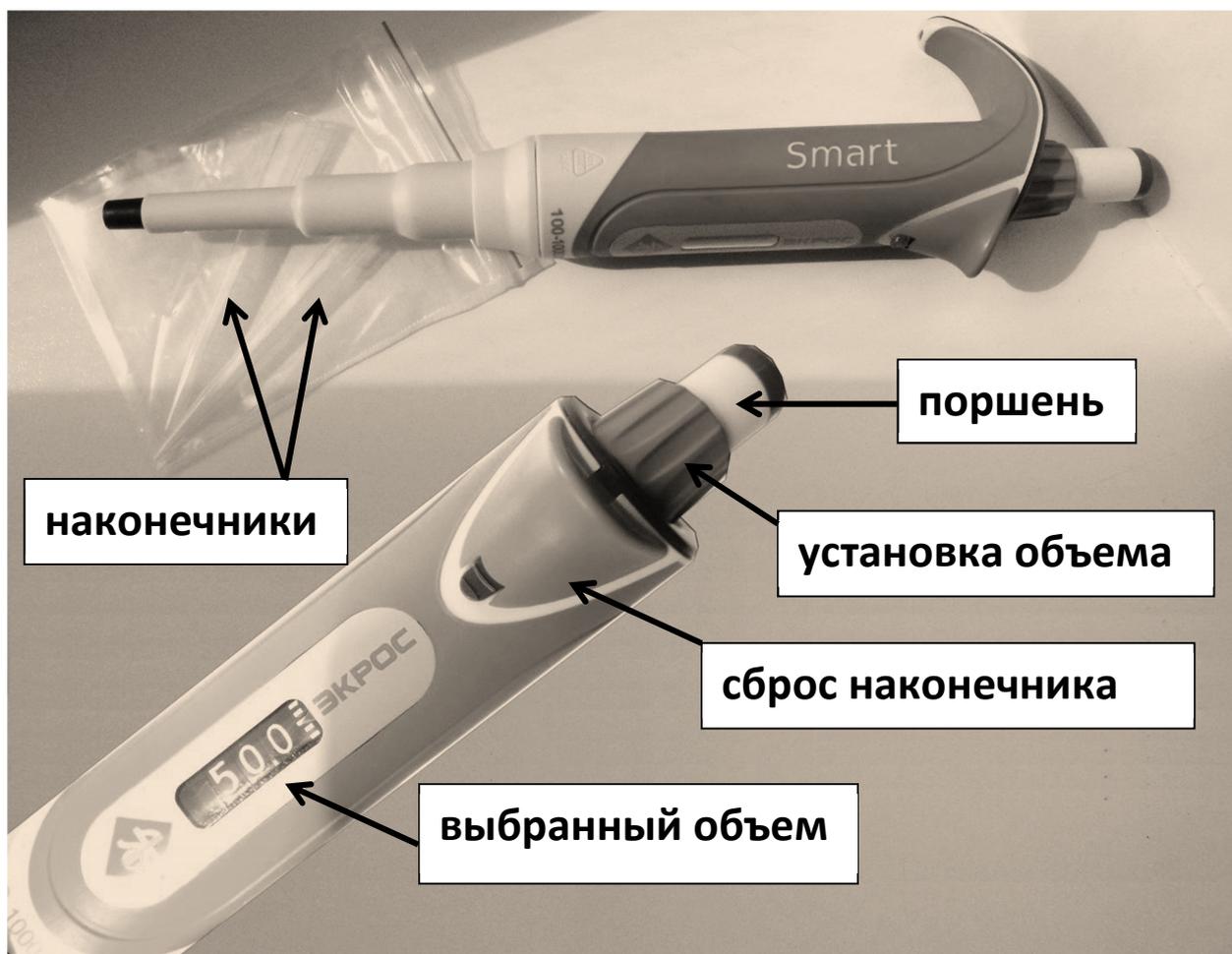
Задание 3 (5 баллов). Рассчитайте удельную активность амилазы слюны в мкмоль мальтозы/мин на 1 мл неразведенной слюны в Вашем опыте.

Молекулярная масса мальтозы равна _____

В отсутствие NaCl активность амилазы составляет _____ мкмоль мальтозы/мин на 1 мл неразведенной слюны

В присутствии NaCl активность амилазы составляет _____ мкмоль мальтозы/мин на 1 мл неразведенной слюны

ИНСТРУКЦИЯ ПО РАБОТЕ С АВТОМАТИЧЕСКОЙ ПИПЕТКОЙ



Устройство автоматической пипетки

Для эксперимента Вам предоставляются пипетки объемом от 100 до 1000 мкл. Нужный объем устанавливается путем вращения зеленого кольца «установка объема». Цифры в окошечке показывают **выбранный объем** в микролитрах. Наденьте на пипетку **наконечник**, нажмите **поршень** до первой остановки и погрузите наконечник в набираемую жидкость. Медленно отпустите поршень до достижения полной остановки для набора образца. Затем поместите наконечник с жидкостью в нужную пробирку и медленно нажмите поршень до первой остановки, пока вся жидкость полностью не выйдет из наконечника. Для выдувания остатков жидкости из наконечника нажмите поршень сильнее, до второй остановки. Снимите использованный наконечник, нажав кнопку сброса, и положите его на место.

Аккуратно используйте наконечники!!!

Один наконечник нельзя погружать в разные растворы! Если Вы отбираете одну и ту же жидкость – пользуйтесь одним наконечником!