Министерство образования и науки Карачаево – Черкесской республики Республиканское государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Карачаево – Черкесский республиканский институт повышения квалификации работников образования»

ПРОЕКТНО – ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ РАБОТА

на тему: «Исследование концентрации в слюне различных ферментов»

для участия в региональном конкурсе проектных и исследовательских работ школьников

«Мир глазами учеников – исследователей»

Ф. И. О. участника: Нашев Алим Ренатович.

Ф. И. О. руководителя проекта: Хамдохова Раиса Рауфовна

Направление исследования: генетика и биомедицина.

Тип проекта: исследовательский

Образовательная организация: МБОО «СОШ а. Эльбурган им Умара Мекерова»

Предметная область: биология

Дата подачи 24.03.2025 г.

Ф. И. О. члена комиссии,

рецензировавшего работу \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(подпись) (дата)

Заключение о работе \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(рекомендуется к участию/не рекомендуется к участию)

Оценка работы \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(количество набранных баллов)

Председатель \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Экспертной комиссии (подпись) (дата)

**Глоссарий**

**Альфа-амилаза (α-амилаза или α –1,4– глюкангидролаза)** – (от лат. *amylum* – крахмал) фермент, содержащийся в слюне и ускоряющий гидролитическое расщепление.

**Ротовая жидкость** – кроме слюны, выделяемой слюнными железами, содержит ряд других компонентов: слюнные тельца, слизь носоглотки, микроорганизмы и остатки пищи.

**Слюна** - (лат. *saliva*) – вязкая прозрачная бесцветная жидкость, одна из жидких биологических среда организма, выделяемая в ротовую полость тремя парами слюнных желез (подчелюстные, околоушные, подъязычные) и множеством мелких слюнных желез полости рта, как правило в полости рта находится смешанная слюна и ротовая жидкость.

**Смешанная слюна** – слюна, постоянно находящаяся в ротовой полости, и образованная из смеси слюны, выделяемой всеми слюнными железами.

**Ферменты (энзимы)**– (от лат. *fermentum* – закваска и греч. *enzume* – в дрожжах) это особые белки, выполняющие роль катализаторов химических реакций.

Оглавление

[Введение 3](#_Toc127279354)

[1. Слюна как важный показатель здоровья организма человека 5](#_Toc127279355)

[2. Экспериментальная часть 8](#_Toc127279356)

[Заключение 12](#_Toc127279357)

[Список использованной литературы 13](#_Toc127279358)

[Приложение А 15](#_Toc127279359)

[Приложение Б 16](#_Toc127279360)

[Приложение В 17](#_Toc127279361)

# 

# Введение

Слюна человека, как отмечается в ряде исследований, имеет ценные диагностические возможности, прежде всего это обусловлено удобностью получения биологического материала и его хранения. Многие количественные и качественные характеристики слюны вполне могут служить биомаркерами различных как физиологических, так и патологических состояний организма. За счет наличия биологических маркеров она идеально подходит для диагностики таких заболеваний как вирус папилломы человека, заболеваний, вызванных грибами (прежде всего рода *Сandida*), вирус Эпштейна-Барра, цитомегаловирус, и бактериями (прежде всего диагностика кариеса и парадонта) [9, 12]. В слюне выявлены биомаркеры болезни Альцгеймера, которые появляются задолго до того, как становятся видны клинические проявления. Установлена связь секреции электролитов с гинекологическими заболеваниями, состав слюны меняется при онкологических заболеваниях и т.д. [12]. Уровень ферментов и их активность могут свидетельствовать о различных изменениях в организме человека.

В связи с вышеперечисленным, научное сообщество по всему миру продолжает проводить исследования состава слюны, в части соотнесения полученных данных с физиологическими данными людей участвующих в исследовании. Результаты широко используются в саливадиагностике, определении ДНК, заболеваний ротовой полости и т.д.

Целью моей работы является исследование концентрации ферментов (альфа-амилазы) в слюне, и последующее соотнесение результатов с физиологическими данными участников эксперимента.

Для достижения постеленной цели мною должны быть решены следующие задачи:

- провести анализ научной и научно-исследовательской литературы в части рассматриваемого вопроса;

- организовать эксперимент по изучению концентрации ферментов в слюне;

- исследовать диагностические возможности слюны, согласно данным экспериментов.

Предметом исследования выступают ферменты, содержащиеся в человеческой слюне.

Объектом исследования выступает концентрация ферментов, содержащихся в человеческой слюне.

Для написания работы использовала следующие методы исследования: анализ и синтез литературы, экспериментальные методы, основанные на химических реакциях.

# Слюна как важный показатель здоровья организма человека

Слюна имеет чрезвычайно важное значение в поддержании здоровья ротовой полости [3, с. 7] и организма человека в целом. Количество слюны и ее состав может изменяться зависимости от времени суток, возраста человека, состояния его здоровья и т.д. В среднем у здорового человека за сутки выделяется 0,5 до 2,2 л слюны, в спокойном состоянии в среднем секретируется 0,24 мл/мин, при жевании пищи до 200 мл/мин [11, с. 6]. На 99,5% слюна состоит из воды, остальные 0,5% это растворенные в ней минеральные вещества и органические компоненты. Слюна человека содержит органические (протеогликаны, иммуноглобулины, мочевина, мочевая кислота, протеолитические ферменты) и неорганические (ионы Na, K, Cl, Ca, Mg и др.) вещества [12] (рис. 1).

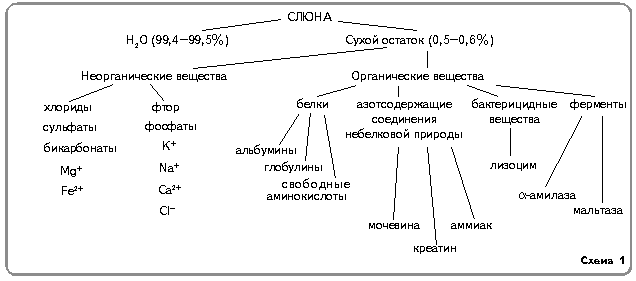


Рисунок 1. Состав слюны [10]

Слюна выполняет следующие функции:

- защитную (механическая защита, иммунная, антимикробная), благодаря наличию собственного микробного комплекса слюна содержит антимикробные комплексы, осуществляющие контроль за общим состоянием организма [12], очищает ротовую полость [11, с. 4];

- буферную, слюна способна нейтрализовать кислоты и щелочи, то есть имеет буферную емкость [3, с. 7];

- минерализующую – поддержание химического состава твердых тканей зубов [11, с. 3];

- выделительную (экскреторную) – выводит конечные продукты распада [11, с. 4];

- регулирующую водно-солевой гомеостаз, у слюны есть показатель рН (6,4–7,4) слабощелочной. Отметим, что рН может колебаться в зависимости от времени суток, возраста, характера питания и т.д. Но отклонения от указанного выше коридора свидетельствует о проблемах со здоровьем [3, с. 7];

- речевую – обеспечивает легкость произношения слов;

- секретирующую – смазка слизистой [6];

- эндокринную – выработка гормоноподобных веществ (паротин, эритропоэтин и т.д.)[8];

- пищеварительную, так слюна участвует в процессах механической обработки пищи, облегчает проглатывание, способствует вкусовому восприятию продуктов, благодаря наличию ферментов (амилазы, липазы) запускает процессы переваривания пищи[Турлак].

Прежде всего, меня интересуют ферменты слюны, их насчитывается более 100, но основными принято считать амилазу, мальтазу, в меньшем объеме содержатся лизоцим, щелочную и кислую фосфатазы, гликолитические ферменты, гиалуронидазу и т.д. [11, с. 9].

Возвращаясь к пищеварительной функции, отмечу важность участия в ней ферментов, в частности альфа-амилазы, которая представляет собой металлофермент, имеющий четвертичную структуру. Фермент гидролизует 1,4 – гликозидные связи в молекулах крахмала и гликогена, в результате чего образуются олигосахариды, мальтоза и мальтотриозы [11, с. 9] (рис. 2). Строго говоря, разложение крахмала – это основная функция указанного фермента, при этом фермент активен только в желудочно-кишечном тракте, и только в узком спектре рН, приблизительно в границах нейтральной зоны.

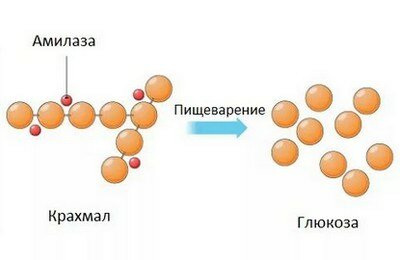


Рисунок 2. Разложение крахмала до глюкозы [7]

Альфа-амилаза начинает процесс разрушения крахмала в ротовой полости, он продолжается пока пищевой комок движется по пищеводу, но после достижения пищей желудка, работа амилазы содержащейся в слюне прекращается, так как рН желудочного сока равен 2-3единицам, а в этих условия фермент становится неактивен[7]. Благодаря амилазе мы чувствуем сладковатый вкус, при отсутствии сахара, при длительном переживании крахмалосодержащих продуктов (например, риса или картофеля). Отмечу, что пища находится в ротовой полости примерно 15 секунд, и полного расщепления крахмала не происходит, но сам процесс запускается именно здесь. Начало разложения крахмала – это своеобразный сигнал всему пищеварительному тракту.

Рассматриваемый фермент был открыт в 1814 году академиком петербургской Академии наук К.Г.С.Кирхгофом[6]. Фермент выделяется с секретом паротидной железы, отмечу, что его концентрация не зависит от возраста, но меняется в течение суток и зависит от чистки зубов и приема пищи. По своим свойствам и аминокислотному составу слюнная альфа-амилаза очень сходна с панкреатической [3, с. 34].

Как и все остальные ферменты нашего организма, альфа-амилаза — это своего рода биологический катализатор химических реакций, происходящих в нашем организме [1, с. 43].

У ферментов есть такое свойство как специфичность, то есть ферменты специфичны, как в отношении типа катализируемых реакций, так и в отношении субстратов, на которые они воздействуют. Как указано выше, альфа-амилаза катализирует гидролитическое расщепление полисахаридов (крахмала), в результате образуется мальтоза. Промежуточными продуктами в реакции расщепления крахмала являются различные декстрины (амино-, эритро-, ахро- и мальтодекстрины). При этом отмечу, что рассматриваемый фермент не оказывает действия на дисахариды (сахарозу) [1, с. 44].

Эффективность ферментов сильно зависит от условий среды, так оказать влияние на их работу могут рН, температура (оптимальная температура обычно лежит в пределах 30–50 °С), присутствие ингибиторов (веществ замедляющих реакцию), а также от их концентрации [5, c. 11].

Укажу, что секреция альфа-амилазы в значительной мере зависит от тревожности человека, существует прямая корреляция между уровнем указанного фермента и вербально определяемым уровнем стресса. Влияет на секрецию рассматриваемого фермента также наличие вредных привычек, в частности курения [12, 13]. Имеет значение и время суток, в период, когда организм отдыхает (ночью) активность фермента снижена, ночные перекусы исключают фермент из процесса пищеварения, что может привести к панкреатиту [7].

# Экспериментальная часть

Для проведения эксперимента необходимо собрать слюну. Смешанную слюну собирают путем выплевывания в сосуд (рис. 3), перед этим следует почистить зубы, и тщательно прополоскать ротовую полость. При этом важно учитывать, что стимулированная и нестимулированая слюна имеет разный состав [11, с. 5]. Использовали также метод ополаскивания, тогда для получения слюны, разведенной в 10 раз, следует 20 мл. воды подержать во рту 2 мин. Затем полученный раствор разбавляют в 2 раза [2, с. 33]. Собранную слюну тщательно закупоривают, хранят в холодильнике.

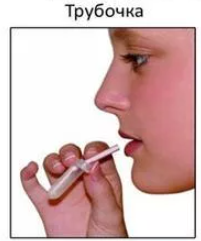


Рисунок 3. Сбор слюны

Порядок подготовки к испытаниям, и ход проведения испытаний слюны, оборудование и т.д. указаны в приложениях к работе, использовал для подготовки практикума по биохимии [2].

Как я уже указывал выше, альфа-амилаза не оказывает действия на дисахариды. Проверим специфичность активности, используя в качестве субстратов растворы сахарозы и крахмала (ход эксперимента в Приложении А), результаты в таблице 1. Работа велась со слюной одного человека.

Таблица 1. Специфичность фермента амилазы

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Материал | Субстрат | Контрольные реакции | |
| Йодная проба | Реакция Троммера |
| Слюна + вода | крахмал | Синее окрашивание, исчезает со временем, переходя через фиолетовое-красно-бурое в желтое | отрицательная |
| Слюна + вода | сахароза | Йод не изменяет цвет, раствор окрашен в желтовато-бурый оттенок | положительная |
| Контроль | крахмал | Синее окрашивание не исчезает | отрицательная |

Результаты показывают, что крахмал с йодом дает синее окрашивание, при разрушении крахмала (он выступает в роли полисахарида) ферментом альфа-амилаза образуются декстрины, которые в зависимости от размера молекул окрашиваются йодом в разные цвета (фиолетовый, красно-бурый), а конечные продукты (мальтоза или глюкоза) с йодом окраски не имеют, и раствор приобретает почти прозрачный цвет или имеет разные оттенки желтого. Альфа-амилаза не разрушает дисахариды.

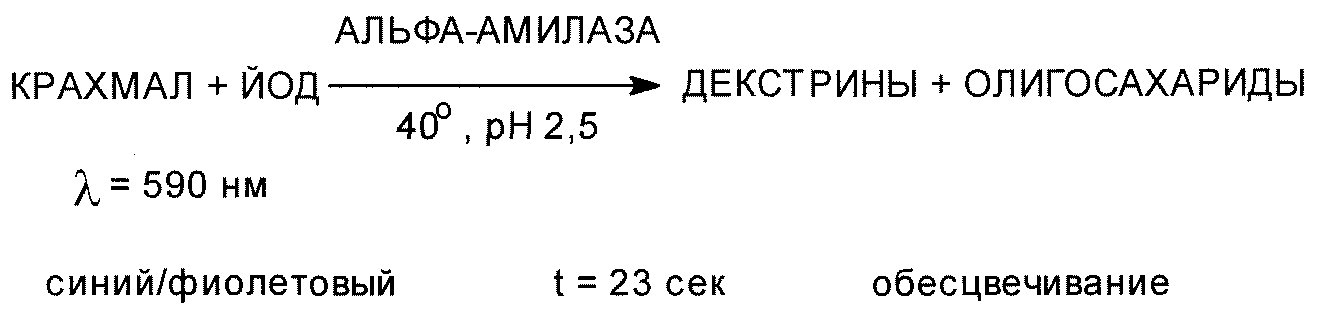


Рисунок 2. Разложение крахмала до глюкозы, йодная реакция [7]

Реакция Троммера указывает на наличие свободных альдегидных групп (в мальтозе или глюкозе). В крахмале свободных альдегидных групп нет (проба Троммера отрицательна), тогда как в сахарозе реакция идет с выпадением осадка.

Проверено термолабильность фермента альфа-амилазы, результаты сведены в таблицу 2 (Ход проведения испытания показан в Приложении В). Работаю со слюной одного человека.

Таблица 2. Термолабильность фермента амилазы

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Материал | Субстрат | Контрольные реакции |
| Йодная проба |
| Свежая слюна (0оС) | крахмал | Синее окрашивание, которое по мере нагревания стало пропадать (примерно спустя 30-40 минут), спустя 1,5 часа при температуре в помещении +25оС, цвет сменился на красный, а затем на фиолетово-красный. |
|
| Свежая слюна (37оС) | крахмал | Синее окрашивание исчезает со временем, переходя через фиолетовое-красно-бурое в желтое |
|
| Прокипяченая слюна | крахмал | Синее окрашивание не исчезает |
|
| Контроль | крахмал | Синее окрашивание не исчезает |
|

Исходя из результатов, представленных в таблице 2, могу отметить, что белок фермента при денатурации разрушается, то есть теряет свою пространственную структуру, и как следствие биологическую активность, как следствие прокипяченная слюна по свойствам похожа на контрольную пробу, и крахмал не разрушается. Активность фермента в этом случае утеряна, что касается охлажденной пробы, то холод не повлиял на структуру белка, но «работать» альфа-амилаза начала только по достижении комнатной температуры. Оптимальная температура реакции +38оС.

Скорость расщепления полисахаридов сильно зависит от концентрации альфа-амилазы в слюне. Для этого я сформировал серию разведений, от 1:10 до 1:320 и проверил скорость расщепления крахмала, по йодной реакции. Результаты в таблице 3.

Таблица 3. Влияние концентрации слюны на активность фермента

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Номер пробирки | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Концентрация  слюна:вода | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 |
| Окраска | грязно-желтая | желто-розовая | розовая | красноватая | фиолетовая | синяя |

Таблица 3 дает возможность наглядно наблюдать, что гидролиз крахмала наиболее активно идет при высокой концентрации фермента, по мере снижения концентрации реакция затормаживается, конечные продукты распада не образуются.

Как известно, такие вещества как спирт и никотин угнетающе действуют на активность рассматриваемого фермента. Мною были собраны образцы слюны курящего человека (5 минут после выкуривания сигареты) и некурящего (сбор вели через ополаскивание полости рта). Активность проверял через йодную реакцию (здесь и далее действовал по алгоритму, приведенному в Приложении В, в случае необходимости добавления антибиотика и кислоты вносил их в пробирку). Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4. Влияние ингибиторов на активность фермента альфа-амилаза

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № п/п | Содержимое пробирки | Йодная реакция |
| 1 | Крахмал, слюна некурящего человека (контроль) | Синее окрашивание исчезает со временем |
| 2 | Крахмал, слюна курящего человека | Синее окрашивание не исчезает |
| 3 | Крахмал, слюна, этиловый спирт (капля) | Синее окрашивание не исчезает |
| 4 | Крахмал, слюна, лимонная кислота | Синее окрашивание не исчезает со временем |
| 5 | Крахмал, слюна, антибиотик (Пеницилин) | Синее окрашивание не исчезает |

Представленные в таблице 4 результаты говорят о том, что никотин угнетает активность фермента, и разложения полисахаридов не происходит. Здесь же (табл. 4) показано влияние других ингибиторов на процесс гидролиза. Отмечу, что спирт, кислоты и антибиотики также угнетают процесс разложения полисахаридов, то есть угнетает активность фермента.

Мне интересно было проверить, влияет ли действительно стресс на активность альфа-амилазы. Для этого собрал слюну (метод ополаскивания) у человека спокойного и у человека, которому предстоит собеседование, провела йодную реакцию (табл. 5). Время замеряла с секундомером. Полученные результаты свидетельствуют о более высокой скорости гидролиза полисахаридов, в случае стресса.

Таблица 5. Влияние стресса на активность фермента альфа-амилаза

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Содержимое пробирки | Йодная реакция | Скорость гидролиза, сек |
| 1 | Крахмал, слюна спокойного человека | Синее окрашивание исчезает со временем | 30 сек |
| 2 | Крахмал, слюна человека в стрессе | Синее окрашивание исчезает со временем | 25 сек. |

Существуют исследования говорящие о том, что рассматриваемый фермент активен днем, ночью его количество снижается. Именно по этой причине ночные походы к холодильнику не приносят человеку пользы, так как амилаза выключена из процесса пищеварения. И согласно результатам, представленным в таблице 6, это действительно так.

Таблица 6. Влияние времени суток на активность фермента альфа-амилаза

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Содержимое пробирки | Йодная реакция | Скорость гидролиза, сек |
| 1 | Крахмал, слюна собранная в 12:00 | Синее окрашивание исчезает со временем | 30 сек |
| 2 | Крахмал, слюна собранная в 00:00 | Синее окрашивание исчезает со временем, до фиолетового цвета | 60 сек. |

Вместе с ночным бутербродом, ваш организм получит неразложенный крахмал, который в последствии может привести к вздутию живота, так теперь его переваривание будет идти только в двенадцатиперстной кишке [7].

На активность фермента влияет также прием гормональных контрацептивов [7], йодная проба подтвердила данный факт (табл. 7). У женщин, принимающих противозачаточные средства активность амилазы выше, примерно на 20%.

Таблица 5. Влияние стресса на активность фермента альфа-амилаза

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Содержимое пробирки | Йодная реакция | Скорость гидролиза, сек |
| 1 | Крахмал, слюна женщины, не принимающей контрацептивы | Синее окрашивание исчезает со временем | 30 сек |
| 2 | Крахмал, слюна женщины, принимающей контрацептивы | Синее окрашивание исчезает со временем | 24 сек. |

Таким образом, серией испытаний мною показано, что фермент амилаза, имеет специфичность, может испытывать угнетающее действие различных веществ, и в значительной мере зависит от состояния человека.

# Заключение

Данная работа посвящена исследованию фермента амилазы, содержащейся в слюне, и изучению ее активности в разных условиях и при разных физиологических состояниях организма.

На основании проведенного исследования я могу сделать ряд выводов:

- температура, потребляемой пищи должна быть в пределах 37–40ºС, что обеспечивает оптимальный уровень температуры для работы альфа-амилазы;

- антибиотики предпочтительно применять в виде инъекций, в противном случае, необходимо принимать антибиотики после приема пищи;

- употребление алкоголя, курение снижают активность фермента;

- необходимо разумно сочетать потребляемые продукты, не злоупотреблять кислыми продуктами;

- не рекомендуется в процессе употребления пищи запивать ее водой, это разбавляет слюну, а значит снижает концентрацию амилазы;

- тщательно пережёвывать пищу, что способствует наиболее полному разложению крахмала;

- совершать «ночные набеги» на холодильник чревато серьезными проблемами со стороны желудочно-кишечного тракта. Важно помнить, что пищеварение человека максимально активно и готово к приему пищи в светлое время суток.

Таким образом, можем сделать вывод, что активность альфа-амилазы в слюне зависит от времени суток, условий среды, температуры. В значительной степени активность амилазы зависит от физиологических данных человека.

# Список использованной литературы

1. Биохимический практикум: пособие для самостоятельной аудиторной работы студентов, обучающихся по специальности 020400.62 – Биология, профиль Микробиология. Ч. 1. / Ф.Х. Камилов, Ш.Н. Галимов, Э.Ф. Аглетдинов, О.А. Князева, Г.М. Абдуллина, Н.Т. Карягина, А.А. Байгильдина, А.Г. Валиев, Ф.А. Сагидуллин, И.Г. Кулагина, Р.С. Кидрасова, И.А. Меньшикова, Э.Р. Бикметова. – Уфа: Изд-во ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, 2014 – 110 с.
2. Биохимия. Практикум : Учебное пособие по курсу «Медицинская биохимия» /Л. А. Ганеева, Л. И. Зайнуллин, З.И. Абрамова, Н. Х. Тенишева. — Казань : ИСБ, 2015. — 176 с.
3. Биохимия ротовой жидкости в норме и при патологии. Учебно-методическое пособие для самостоятельной работы студентов по специальности «Стоматология» //ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России. – М.: Издательство ИКАР. – 2017. – 64 с.: илл.
4. Биохимия полости рта, ротовой и десневой жидкостей: учебнометодическое пособие / Е.Е. Брещенко, И.М. Быков. – Краснодар, 2018. – 63 с.
5. Глухарева, Т. В. Биохимия : [учеб. пособие]. В 2 ч. Ч. 2. Основные регуляторы и биологические жидкости человеческого организма / Т. В. Глухарева, И. С. Селезнева ; [науч. ред. Ю.Ю. Моржерин] ; М-во образования и науки Рос. Федерации, Урал. федер. ун‑т. – Екатеринбург : Изд‑во Урал. ун-та, 2016. – 115 с.
6. Дилекова Д.Р. Активность амилазы слюны и заболевания органов пищеварения / Д.Р. Дилекова. 2022. URL: <https://school-science.ru/4/13/312>
7. Если альфа амилаза повышена в крови, причины и рекомендации. URL: https://yandex.ru/health/turbo/articles?id=5839
8. Киричук В.Ф. Лекция 3. Ротовое пищеварение, состав слюны и механизмы регуляции слюноотделения / В.Ф, Киричук, Е.В.Понукалина, Н.П. Чеснокова, Н.В.Полутова // Научное обозрение. Реферативный журнал. – 2018. – № 1. – С. 63-67. URL: https://abstract.science-review.ru/ru/article/view?id=1861 (дата обращения: 14.02.2023).
9. Кочурова Е.В. Диагностические возможности слюны / Е.В. Кочурова, С.В. Козлов // Клиническая лабораторная диагностика. 2014. №1. С. 13-15.
10. Регуляция слюноотделения. Молекулярные особенности симпатической и парасимпатической регуляции слюнообразования и слюноотделения. Факторы, влияющие на скорость секреции слюны. URL: <https://studfile.net/preview/11636752/page:8/>
11. Тарасенко Л.М. Биохимия органов полости рта / Л.М. Тарасенко, К.С. Непорада (Учебное пособие для студентов факультета подготовки иностранных студентов) – Полтава: видавництво «Полтава»,2008. – 70с.
12. Турлак И.В. Основные направления исследования ее свойств / И.В. Турлак // Современные проблемы науки и образования. 2020. № 4. URL: <https://science>-education.ru/ru/article/view?id=29934
13. Valentin, B., Grottke, O., Skorning, M. *et al.* Cortisol and alpha-amylase as stress response indicators during pre-hospital emergency medicine training with repetitive high-fidelity simulation and scenarios with standardized patients. *Scand J Trauma ResuscEmerg Med* **23**, 31 (2015). URL: https://translated.turbopages.org/proxy\_u/en-ru.ru.d51a4231-63eb2bb2-9b76e074-74722d776562/https/sjtrem.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13049-015-0110-6#citeas

# Приложение А

Специфичность фермента

**Оборудование**: штатив с пробирками, пипетки глазные, термостат на 38оС, спиртовки, держатели для пробирок.

**Реактивы**: крахмал, 0,1 % раствор; сахароза, 1 % раствор; 10% раствор едкого натра; 5 капель 1% раствора сернокислой меди; Люголя реактив.

**Исследуемый материал**: Раствор слюны

**Ход эксперимента**:

1. Слюну разводят в 10 раз в мерном цилиндре;
2. В первую пробирку наливают 10 капель 0,1% раствора крахмала;
3. Во вторую добавляют 10 капель 10 капель 1% раствора сахарозы;
4. В третью – 10 капель воды (в качестве контроля)+крахмал;
5. По 10 капель разведенной слюны добавляют в каждую из пробирок;
6. Провести эксперимент: реакция слюны с йодом: к 10 каплям пробы добавить 1-2 капли раствора Люголя. В случае наличия крахмала наблюдается появление темно-синего окрашивания раствора;
7. Провести со второй частью растворов эксперимент реакция Тромера: в пробирку прилить 5 капель 10% раствора едкого натра и 5 капель 1% раствора сернокислой меди. Затем нагреть содержимое пробирки над пламенем спиртовки. Появление красного цвета (выпадение в осадок закиси меди Cu2О) указывает на присутствие в растворе мальтозы и глюкозы – положительная реакция.

# Приложение Б

Термолабильность фермента

**Оборудование**: штатив с пробирками, пипетки глазные, термостат на 38оС, лед; спиртовки, держатели для пробирок.

**Реактивы**: крахмал, 0,1 % раствор; сахароза, 1 % раствор; Люголя реактив.

**Исследуемый материал**: Раствор слюны

**Ход эксперимента**:

1. Слюну разводят в 10 раз в мерном цилиндре;
2. 5 мл разведенной слюны вносят в пробирку и кипятят;
3. В четыре пробирки наливают по 10 капель 0,1% раствора крахмала;
4. В первые две пробирки добавляют по 10 капель разведенной слюны;
5. В третью – 10 капель прокипяченной слюны;
6. В четвертую – 10 капель воды (в качестве контроля);
7. 2-4 пробы выдерживают в термостате 15 минут, 1 пробу помещают на лед;
8. Провести эксперимент: реакция слюны с йодом: к 10 каплям пробы добавить 1-2 капли раствора Люголя. В случае наличия крахмала наблюдается появление темно-синего окрашивания раствора;

# Приложение В

**Оборудование**: штатив с пробирками, пипетки глазные, термостат на 38оС, держатели для пробирок.

**Реактивы**: крахмал, 0,1 % раствор; Люголя реактив.

**Исследуемый материал**: Раствор слюны

**Ход эксперимента**:

1. В пробирки наливают 10 мл раствора слюны, полученного ополаскиванием;
2. В пробирки наливают по 10 капель 0,1% раствора крахмала;
3. Пробы выдерживают в термостате 15 минут;
4. Проводят йодную пробу. к 10 каплям пробы добавить 1-2 капли раствора Люголя