

DELOVANJE ENOSTAVNIH KATALIZATORJEV

UVOD

Namen: Naš namen je bil dokazati, da je v jetrih encim katalaza. Ugotoviti smo hoteli tudi, kako na njegovo delovanje vpliva temperatura, velikost delcev, pH, kakšen je učinek encima iz raznih snovi, opazovati smo hoteli tudi ponovno uporabo encima in dokazati izhajanje kisika.

Cilj: Ugotavljanje lastnosti reakcije razgradnje z encimi in vplive na reakcijo.

Hipoteza: Encim bo najhitreje deloval pri optimalnih pogojih (pH, temperatura..) Optimalna temperatura je 37°C, saj jetra s katerimi delamo poskus, izvirajo iz živali, katere telesna temperatura je prav toliko. Delovanje encima se bo zavrlo in počasi ustavilo pri 60°C, ko bodo beljakovine spremenile strukturo. Tem večja bo površina delcev, tem hitreje bo potekala reakcija.

Teoretični uvod: Encimi so biokatalizatorji, ki pospešujejo biokemijsko reakcijo. Se ne porabljujejo in ne spreminjajo. Najhitreje delujejo pri optimalnih pogojih, ki so za vsak encim različni. Odmik od optimalnih pogojev reakcije ne zaustavi, temveč jo le zavre. Na hitrost reakcije vpliva tudi prisotnost aktivatorjev in inhibitorjev, česar v šoli nismo preizkušali. H₂O₂ je strupena snov, ki nastaja kot stranski produkt pri celičnih reakcijah. Ob prisotnosti jeter, ki vsebujejo encim katalazo, se bo strupena snov razgradila na naslednja dva produkta: H₂O in O₂. Izhajanje O₂ bomo zaznali kot mehurčke, ki se dvigajo iz dna epruvete. Nastajanja H₂O ne bomo videli z opazovanjem.

METODE IN DELO:

Metoda: Opazovanje

Material in pripomočki:

- Sveža 3% raztopina H₂O₂
- Destilirana voda
- Koščki svežih jeter
- Standardne epruvete
- Menzure

- Pinceta
- Termometer
- Kopel z vrelo vodo
- Ledena kopel
- Kopel z vodo sobnetemperature (namesto tega smo uporabili vodovodno vodo)
- Steklena paličica
- Skalpel
- Lonec

Postopek: V 5 epruvet smo nalili 1 ml H_2O_2 in jih segreli, ohladili na naslednje temperature: $0^\circ C$, $10^\circ C$, $20^\circ C$, $37^\circ C$, $80^\circ C$. Eno epruveto, v kateri je že bil košček jeter pa smo dali v vrelo vodo ($100^\circ C$) in po desetih minutah dolili 1ml H_2O_2 . V ostale epruvete smo po desetih minutah dodali koščke jeter in opazovali hitrost izhajanja mehurčkov, kar je pokazatelj hitrosti reakcije. (Postopek ostalih poizkusov opisan v prilogi).

REZULTATI:

1) Temperatura

Legenda

0 = ni reakcije
 1 = počasna
 2 = zmerna
 3 = hitra
 4 = zelo hitra

Temp. delovanja encima na substrat	Hitrost razgradnje
$0^\circ C$	1
$10^\circ C$	2
$20^\circ C$	2,5
$37^\circ C$	4
$80^\circ C$	1
$100^\circ C$	0

Graf:

Skice:

Legenda:

Poskus št.	temperatura
1	0°C
2	10°C
3	20°C
4	37°C
5	80°C
6	100°C

2)Učinek encima iz raznih snovi na H₂O₂

snov	Hitrost reakcije
Pesek	0
MNO ₂	4
<u>jetra</u>	<u>3</u>
<u>krompir</u>	<u>2</u>
<u>solata</u>	<u>0.5</u>
<u>čebula</u>	<u>0.5</u>
<u>Paprika</u>	<u>0.5</u>
<u>salama</u>	<u>0.5</u>
<u>Piščančje meso</u>	<u>0.5</u>
<u>korenček</u>	<u>0.5</u>

3)Velikost delcev

snov	Cel kos	Zdrobljen kos
pesek	0	0
jetra	2	3
krompir	1	2
paprika	1	2

4)Vpliv ph

H ₂ O ₂ +jetra+...	p h	Hitrost rkc.
HCl	1	1
NaOh	10	4
H ₂ O	7	3

5)Ponovna uporaba encima

Imamo H₂O₂, zraven dodamo košček jeter. Dobljena hitrost reakcije je enaka 3.počakamo da se reakcija popolnoma zaustavi..Sedaj prejšnji košček razrežemo na pol. Polovico vzamemo ven in ga damo v drugo epruveto v kateri je že polovica H₂O₂ iz prve epruvete. V prvo nato dodamo

še svež košček jeter. Ne zgodi se nič.
V drugo pa dolijemo H_2O_2 . Mehurčki
začnejo izhajati – reakcija poteče.

Skica

6)Dokaz za O_2

(skica in opis poskusa na prilogi)

Ko ujamemo plin, ki pri reakciji nastaja v epruveto, v njem tleča trska zagori

INTERPRETACIJA REZULTATOV:

Najpočasneje so potekale reakcije pri temperaturah: $0^\circ C$, $80^\circ C$ in $100^\circ C$, potem pri $10^\circ C$, nato pri $20^\circ C$ in najhitreje pri $37^\circ C$. Iz grafa je razvidno, da se z naraščanjem temperature hitrost reakcije veča do $37^\circ C$, nato se hitrost naglo zmanjša. Ugotovili smo torej, da je optimalna temperatura za delovanje encima katalaza okrog $37^\circ C$. Lahko bi bila tudi malo več ali malo manj, a teh meritev nismo opravili. Kar nas je pri poskusu zmotilo je bilo izhajanje mehurčkov iz jeter segrelih na $80^\circ C$. Pri $60^\circ C$ naj bi namreč beljakovine morale že koagulirati in s tem postati neaktivne. Po razmisleku smo ugotovili, da so bili vzroki naslednji: premalo smo segreli jetra, stene epruvete so bile verjetno umazane od jeter. Poskus bi torej izboljšali z daljšim segrevanjem in večjo higieno. Še bolj natančno bi lahko določili optimalno temperaturo delovanja encima katalaze z večimi poskusi pri katerih bi bila temperatura jeter okrog $37^\circ C$.

V drugem poskusu smo ugotovili, da je prisotnost encima katalaza največja pri MNO_2 in nato v jetrih. Nekaj ga je tudi v krompirju, zelo malo pa v ostalih snoveh. Popolnoma nič ga ni v pesku saj je anorganskega izvora in ne vsebuje beljakovin. Zmotila nas je majhna prisotnost encima v salami in piščančjem mesu. Odstopanje od pričakovanega rezultata smo razložili kot plod človeške napake. Ponovitev poskusa bi morda spremenila rezultate.

Reakcija je hitrejša, kjer imamo zdrobljene kose raznih snovi. To se zgodi zato, ker se z večjo površino snovi hkrati poveča tudi površina delovanja encima.

Delovanje encima katalaza je največje v bazičnem okolju.

Pri četrtem poskusu smo videli da se encimi ne porablja le temveč se porablja le substrat.

Pri zadnjem poskusu smo dokazali izhajanje kisika s tlečo trsko. Kisik je lažji od zraka, zato se dvigne po narobe obrnjeni epruveti navzgor. Ker trska zagori smo prepričani da je snov, ki je izhajala sigurno kisik.

SKLEP: Vaja je uspela, hipoteza je potrjena. Optimalna temperatura je okoli $37^\circ C$, optimalen ph je 10 (bazično okolje), največ encima katalaza (med opazovanimi snovmi) je v MNO_2 , encim se ne porablja, pri reakciji izhaja kisik.

LITERATURA:

- T. Golčar, F Sušnik, K. Tarman, B. Vesel: BIOLOGIJA 1, DZS 1991;
- Laboratorijsko delo (delovni zvezek), DZS 1991;

PRILOGA: Navodila za vajo