BIOLOGIJA – LABORATORIJSKO DELO

DELOVANJE ENOSTAVNIH KATALIZATORJEV

# UVOD

Aktivacijska energija je potrebna za začetek vsake metabolne reakcije. Katalizatorji imajo sposobnost zniževanja aktivacijske energije substratnih molekul in omogočajo, da med seboj hitreje reagirajo. V reakcijah se ne spreminjajo ali porabljajo. Encimi so biokatalizatorji, torej se nahajajo v živih bitjih. Zgrajeni so iz beljkovinskega in nebeljakovinskega dela, ki ga med drugim lahko sestavljajo tudi vitamini ali minerali. Z aktivnim mestom encim prepozna podlago (substrat), s katero se poveže v kompleks encim-substrat. Reakcija poteče, encim se odcepi in stopi v novo reakcijo. Če mora encim prepoznati podlago, to pomeni, da deluje specifično, nanj pa vpliva tudi temperatura, pH in koncentracija substrata.

Anorganske katalizatorje pa najdemo v naravi. Spoznali smo encim katalazo in manganov dioksid, ki razgrajujeta vodikov peroksid (H2O2), ki nastaja pri kemičnih reakcijah v živih celicah kot stranski proizvod, ker pa je strupen, ga mora celica takoj razgraditi.

# NAMEN DELA

* spoznati razlike in podobnosti v delovanju anorganskega katalizatorja in organskega katalizatorja
* spoznati dejavnike, ki vplivajo na delovanje encimov (pH, temperatura, velikost delcev)
* razumeti pomen encimov v živih celicah
* spoznati encim katalazo in njeno vlogo v celicah
* spoznati katalizator manganov II oksid (MnO2)
* znati uporabiti nastale produkte pri reakcijah

# METODE DELA

Postopek dela je bil enak kot je opisan v Navodilih za laboratorijsko delo na straneh 20 do 22.

# REZULTATI

**1. Razkroj H2O2 s segrevanjem:**

 V epruveto uvajamo plin in s tlečo trsko dokažemo, da je to kisik.

**2.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Epruveta | Dodane snovi | Hitrost reakcije\* |
| 1 | 5ml vodikovega peroksida + droben pesek | 0 |
| 2 | 5ml vodikovega peroksida + manganov dioksid | 3 |

Preglednica 1: učinek katalizatorja

**3.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Epruveta | Dodane snovi | Hitrost reakcije\* |
| 3 | 2ml vodikovega peroksida + košček krompirja | 2 |
| 4 | 2ml vodikovega peroksida + košček jeter | 3 |

Preglednica 2: učinek encima

**4.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Epruveta | Dodane snovi | Hitrost reakcije\* |
| 5 | vodikov peroksid + polovica jeter iz 4. epruvete + košček svežih jeter | 0 |
| 6 | vodikov peroksid + polovica jeter iz 4. epruvete + 1ml svežega vodikovega peroksida | 3 |

Preglednica 3: ponovna uporaba encima

**5.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Epruveta | Dodane snovi | Hitrost reakcije\* |
| 7 | 2ml vodikovega peroksida + pesek + zdrobljena jetra | 4 |
| 8 | 2ml vodikovega peroksida + pesek + zmečkan krompir | 3 |

Preglednica 4: vpliv velikosti delcev na delovanje encima

\*LEGENDA za Hitrost reakcije:

0= ni reakcije

1= počasna reakcija

2= zmerna reakcija

3= hitra reakcija

4= zelo hitra reakcija

**6.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Epruveta | Dodane snovi | Hitrost reakcije |
| 9 | 1ml vodikovega peroksida dodamo zmečkanim jetrom, ki smo jih v epruveti dali za 5min v vrelo vodo | 0 |
| 10 | 1ml vodikovega peroksida za 5min v toplo vodo (370) + košček jeter | 4 |
| 11 | 1ml vodikovega peroksida za 5min v ledeno vodo (okoli 00) + košček jeter | 2 |

Preglednica 5: vpliv temperature na delovanje encima

7. Vpliv pH na delovanje encima /preglednica 6/

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Epruveta | Dodane snovi | Hitrost reakcije |
| 12 | jetra zmečkana s peskom + 2ml destilirane vode + 2ml H2O2 | 3 |
| 13 | jetra zmečkana s peskom + 2ml NaOH + 2ml H2O2 | 1 |
| 14 | jetra zmečkana s peskom + 2ml klorovodikove kisline + 2ml H2O2 | 0-1 |

Preglednica 6: vpliv pH na delovanje encima

**8. Histogram hitrosti reakcij**

Histogram 1: hitrosti reakcij

# RAZPRAVA

Ugotavljali smo, kaj pospešuje razgradnjo strupenega vodikovega peroksida (H2O2), ki je stranski produkt živih celic in obenem strupen, tako da ga morajo celice dovolj hitro razgraditi. Taka reakcija je uspešna s katalizatorjem.

Ko segrevamo vodikov peroksid, razpade na kisik in vodo.



Plin, ki je nastajal ob segrevanju, smo zbirali v okrog obrnjeni epruveti z vodo, da nam ni uhajal. Dokazali smo ga tako, da smo dali v epruveto tlečo trsko, ki je zagorela, torej je bil nastali plin O2.

Razpad vodikovega peroksida torej povzroči visoka temperatura. V živih celicah pa to ni mogoče, saj pri taki temperaturi beljakovine spremenijo svojo obliko. Tako za razpad celice uporabijo encim katalazo.

Prvi poskus: reakcija ni potekla, torej pesek ni katalizator za razgradnjo H2O2.

Drugi poskus: reakcija je bila hitra, pod vplivom manganovega dioksida (MnO2), ki je anorganski katalizator ga najdemo v naravi.

Tretji in četrti poskus: ugotavljali smo delovanje biokatalizatorja, encima katalaze, ki je beljakovina in jo najdemo v tkivih. Reakcija je bila hitrejša ob prisotnosti jeter, kot pa pri prisotnosti krompirja, torej je encima več v jetrih. Encim katalaza pospeši razgradnjo H2O2, ko nastajata O2 in H2O. Kisik smo dokazali s tlečo trsko, ki je zagorela, ko smo jo podržali pod epruveto v kateri je bil zbran kisik.

Peti in šesti poskus: ugotavljali smo, če se encim uniči ali porabi pri reakcijah. V peto epruveto smo dali H2O2, jetra iz prejšnje epruvete in še sveža jetra. Do reakcije ni prišlo, ker ni bilo več substrata (H2O2). V šesto epruveto smo dali zreagiran H2O2 in jetra iz četrte epruvete in nekaj novega substrata. Reakcija je potekla, torej se v prejšnji reakciji encim ni porabil.

Encimi reakcije le pospešijo, ni jih v produktih, ne uničijo se in se ne porabijo.

Sedmi in osmi poskus: ugotavljali smo, če velikost delcev krompirja in jeter vpliva na hitrost reakcije. S peskom smo ju zdrobili na manjše koščke, tako se je iz tkiv sprostilo več katalaze in reakcija je potekla hitreje kot v tretjem in četrtem poskusu, kjer smo uporabili večje kose jeter in krompirja.

Deveti, deseti in enajsti poskus: ugotavljali smo vpliv temperature na delovanje katalaze. Najhitreje je reakcija potekla pri 37°C (optimalno območje). V epruveti, ki je bila v ledeni vodi, je reakcija potekla počasneje, v tisti, ki je bila v vreli vodi pa reakcija sploh ni potekla. Torej je bila temperatura previsoka in beljakovine so spremenile svojo obliko (so koagulirale).

Encimi imajo optimalno območje v kislem, nevtralnem ali bazičnem. Katalaza najbolje deluje v nevtralnem okolju (pesek), počasna reakcija pa je bila v kislem (dodana klorovodikova kislina) in bazičnem (dodan natrijev hidroksid).

# SKLEP

Razgradnjo strupenega vodikovega peroksida v neškodljivo vodo in kisik pospešuje anorganski katalizator manganov dioksid (najdemo ga v naravi) ali pa encim katalaza (v tkivih živih organizmov kot na primer tkivo jeter in krompirjevega gomolja). Slednji deluje hitreje, če tkivo, v katerem se nahaja, zmečkamo (poškodujemo celice v katerih se encim nahaja), ker se tako sprosti več encima. Njegovo optimalno temperaturno območje je okrog 37°C in optimalni pH (nevtralno okolje). Encim se pri reakciji ne spremeni, porabi ali uniči, reakcijo le pospeši. Pesek pomaga pri razdrobitvi tkiva, v katerem je katalizator, in ne sodeluje v reakciji.

# LITERATURA

* Smilja Pevec: BIOLOGIJA, Laboratorijsko delo, DZS, Ljubljana 1999, strani 25 do 29.
* Drašler, Gogala, Povž in ostali: BIOLOGIJA, Navodila za laboratorijsko delo, DZS, Ljubljana 1998, strani 20 do 22.
* Stušek, Podobnik, Gogala: Biologija 1 – Celica, DZS, Ljubljana 2001, strani 69 do 70.