

Poročilo o vaji

# **Delovanje enostavnih katalizatorjev – encimov**

## 1. Uvod

Vodikov peroksid je kemična snov, ki nastaja kot stranski proizvod pri kemičnih reakcijah v živih celicah. Ker je strupen, ga mora celica takoj razgraditi. Pri razkroju sodeluje snov, ki pospešuje kemične reakcije, tj. katalizator oz. v živih celicah encim. Ta je kemično beljakovina. Encimi se pri reakciji ne porabijo, na hitrost encimske reakcije pa vplivajo različni dejavniki.

Cilji: Pri tej vaji smo opazovali delovanje encima **katalaze**, ki pospešuje razgradnjo vodikovega peroksida. Katalazo najdemo v tkivih. Primerjali smo njeno delovanje z delovanjem nebeljakovinskih katalizatorjev in ugotavljali, v kakšnih razmerah deluje.

Hipoteza: Encim katalaza bo razgradil vodikov peroksid, ker je ta jetrom škodljiv.

Enačba:



vodikov peroksid    voda    kisik

## 2. Metode in delo, material in pripomočki

### Material in pripomočki:

- manganov dioksid v prahu
- sveža 3 % raztopina vodikovega peroksida
- destilirana voda
- koščki svežih jeter in krompirja
- standardne epruvete
- menzura
- pinceta
- termometer
- držalo za epruveto
- kopel z vrelo vodo
- ledena kopel
- kopel sobne temperature
- steklena paličica
- droben pesek
- univerzalni indikatorski papir
- skalpel
- raztopina natrijevega hidroksida (0,1 M)
- raztopina klorovodikove kisline (0,1 M)
- 250 ml erlenmajerica
- kristalizirka
- terilnica in pestilo
- lesene trske
- vžigalice
- 2 veliki epruveti
- gumijasta cev
- steklena cevka
- preluknjan zamašek

**Postopek dela:**

Glej prilogo.

**3. Rezultati**

Pri poskusih smo hitrost reakcije označili takole:

0 = ni reakcije

1 = počasna reakcija

2 = zmerna reakcija

3 = hitra reakcija

4 = zelo hitra reakcija

**Tabela 1:** Hitrost razgradnje  $H_2O_2$  z različnimi snovmi (vsebnost katalaze v različnih snoveh)

Snov + vodikov peroksid	Hitrost reakcije
Kremenčev pesek	0
Manganov dioksid	4
Jetra	3
Solata	0,5
Čebula	0,5
Paprika	0,5
Šunka	0
Piščančje meso	0,5
korenje	0

**Tabela 2:** Hitrost reakcije glede na velikost delcev

Snov + $H_2O_2$	Hitrost reakcije	
	Cel kos	Zdrobljen kos
Kremenčev pesek	0	0
jetra	2	3
krompir	1	2
paprika	1	2

**Tabela 3:** Vpliv temperature na hitrost reakcije

Snov + $H_2O_2$	Temperatura v $^{\circ}C$	Hitrost reakcije
Jetra	$0^{\circ}C$	1
jetra	$10^{\circ}C$	2
jetra	$20^{\circ}C$	2,5
jetra	$37^{\circ}C$	4
jetra	$80^{\circ}C$	1
jetra	$100^{\circ}C$	0

**Graf 1:** Vpliv temperature na hitrost reakcije**Tabela 4:** Vpliv pH na hitrost reakcije

Snov + jetra + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	pH vrednost	Hitrost reakcije
Kremenčev pesek	0	0
HCl	1	1
NaOH	10	4
H <sub>2</sub> O	7	3

**Ponovna uporaba encimov**

V tem poskusu smo ugotavljali, ali se pri reakciji porablja encim ali substrat. Produkt iz epruvete z jetri in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (ko se je reakcija ustavila) smo dali v dve epruveti in v eno dodali malo novih jeter, v drugo pa malo novega substrata.

**Tabela 5:** Ponovna uporaba encimov

snov	Hitrost reakcije
Jetra + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3
Ko se reakcija ustavi	
+ jetra	0
+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3

**Slika 1:** Ponovna uporaba encimov

## Proizvodi reakcije:

**Slika 2:** Priprava za zbiranje plina

**Slika 3:** Dokazovanje kisika in vodika

## 4. Komentar rezultatov

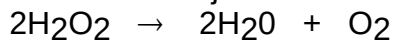
1. Ugotovili smo, da so nekatere anorganske snovi lahko tudi katalizatorji (manganov dioksid). Preverjali smo, katere snovi vsebujejo encim katalazo, ki razgrajuje  $\text{H}_2\text{O}_2$  (vodikov peroksid). Največja vsebnost katalaze je bila v jetrih (tabela1).
2. Ugotovili smo, da encimi snov lažje razgradijo, če je ta snov v manjših delčkih, ker se s tem poveča površina na kateri deluje encim (tabela2).
3. Ugotavljali smo, ali se pri reakciji porablja encim ali substrat. Porabil se je substrat, in s tem smo ugotovili, da se encimi pri reakciji ne porabijo (tabela5, slika1).
4. Pri ugotavljanju vpliva temperature smo ugotovili da encim pri temperaturi nad  $40^\circ\text{C}$  koagulira in postane neaktiven. Optimalno pa katalaza deluje pri temperaturi  $37^\circ\text{C}$ . Pri tem poskusu smo imeli težave s tem, da smo imeli prevelik košček jeter in pri kuhanju ( $100^\circ\text{C}$ ) encim ni koaguliral zato je reakcija potekla. Ko smo vzeli manjši košček se to ni zgodilo (tabela3).
5. Ko smo merili pH smo ugotovili, da encim katalaza najbolje deluje v bazičnem okolju (tabela4). Ugotovili smo, da pri razgradnji vodikovega peroksida nastaneta voda in kisik. (slika2, slika3) Reakcija poteka po enačbi:  $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

## 5. Sklep

Dejavniki, ki vplivajo na hitrost reakcije so:

- **katalizator:** dokazali smo, da lahko tudi anorganski katalizator ( $\text{MnO}_2$ ) razgradi vodikov peroksid.
- **temperatura:** encimi pri visokih temperaturah koagulirajo - spremenijo svojo obliko in niso več uporabni. Optimalno delujejo le v določenih pogojih.
- **pH:** katalaza deluje optimalno pri pH okoli 10.
- **vsebnost encimov:** več encimov - hitrejša reakcija
- **količina substrata:** več substrata – počasnejša reakcija
- **velikost delcev:** manjši delci – hitrejša reakcija
- **proizvodi reakcije:** Plin, ki se sprošča, je kisik. To smo dokazali s tlečo trsko, ki je zagorela. Če bi pri reakciji nastal vodik, bi verjetno prišlo do manjše eksplozije.

Enačba reakcije:



vodikov peroksid    voda        kisik

Ugotovili smo, da je v jetrnem tkivu prisoten encim, ki pri sobni temperaturi in pri nevtralnem pH katalizira reakcijo pretvorbe vodikovega peroksida do kisika. Hitrost reakcije je odvisna od temperature, kislosti, količine encima, velikosti delcev do katerega ima substrat dostop. Analiza reakcije pretvorbe vodikovega peroksida do kisika pokaže, da mora pri tem nastati še voda. Vodikov peroksid kot nestabilen oksidant razpada tudi v prisotnosti kovinskih ionov. Ugotovili smo, da manganov dioksid povzroča tako reakcijo, vendar je hitrost reakcije, katalizirane z encimom, veliko večja. Strupeni peroksid se pod vplivom katalaze spremeni v neškodljive snovi (voda in kisik). S to ugotovitvijo smo dokazali našo hipotezo.

## 6. Literatura

P. Stušek, A. Podobnik, N. Gogala: Biologija 1 – celica, DZS 1997

## 7. Priloge

- Navodila za delo
- Delovni list